

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кундельчук О.П., Акімова М.О.

**ЗАГАЛЬНА ЕКОЛОГІЯ
(ТА НЕОЕКОЛОГІЯ)**

**Навчально-методичний посібник до практичних
та семінарських занять**



Херсон - 2019

УДК 65.07
К 91

К91 Загальна екологія (та неоекологія): Навчально-методичний посібник до практичних та семінарських занять для студентів галузі знань 10 Природничі науки, спеціальності 101 Екологія / О.П. Кундельчук, М.О. Акімова. – Херсон: ФОП Вишемирський В.С., 2019. – 396 с.

ISBN 978-617-7783-18-2

Рецензенти:

Морозов О.В., д.с.-г.н., професор, професор кафедри науки про Землю, факультету водного господарства, будівництва та землеустрою, Херсонського державного аграрного університету.

Бойко П.М., к.б.н., доцент, декан факультету рибного господарства та природокористування Херсонського державного аграрного університету.

Загороднюк Н.В., к.б.н., доцент кафедри ботаніки факультету біології, географії і екології Херсонського державного університету

Рекомендовано до друку в якості навчально-методичного посібника «Загальна екологія (та неоекологія): Навчально-методичний посібник до практичних та семінарських занять» для студентів I курсу галузі знань 10 Природничі науки, спеціальності 101 Екологія, денної та заочної форм навчання, на засіданні Вченої ради Херсонського державного університету (протокол № 9 від 17.04.2019 р.).

Навчально-методичний посібник містить матеріали для підготовки до семінарських занять та завдання до практичних робіт з курсу «Загальна екологія (та неоекологія)», розроблені з урахуванням результатів сучасних наукових досліджень. Навчально-методичний посібник проілюстрований рисунками, схемами, таблицями, містить питання контрольних робіт і перелік літературних джерел для поглибленого засвоєння відповідних розділів програми.

Навчальний посібник рекомендований студентам і викладачам екологічних та біологічних спеціальностей вищих навчальних закладів.

ISBN 978-617-7783-18-2

УДК 65.07
© О.П. Кундельчук, 2019
© М.О. Акімова, 2019.

ЗМІСТ

Програма дисципліни	4
1. Тема: Мінеральні поживні речовини. Природні і техногенні мікроелементози.....	8
1.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	8
1.2. Практична робота.....	15
2. Тема: Вода. Стрес нестачі води в навколишньому середовищі.....	35
2.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	35
2.2. Практична робота.....	41
3. Тема: Кисень. Стрес нестачі кисню в навколишньому середовищі.....	56
3.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	56
3.2. Практична робота.....	64
4. Тема: Тиск навколишнього середовища.....	76
4.1. Практична робота.....	76
5. Тема: Звуки, інфразвуки, ультразвуки і вібрації навколишнього середовища.	85
5.1. Практична робота.....	85
6. Тема: Гравітаційне поле Землі і живі організми.....	95
6.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	95
7. Тема: Вплив температури навколишнього середовища на живі організми.....	127
7.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	127
7.2. Практична робота.....	139
8. Тема: Іонізуюче випромінювання і живі організми	153
8.1. Практична робота.....	153
9. Тема: Ультрафіолетове випромінювання і живі організми.....	167
9.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	167
9.2. Практична робота.....	171
10. Тема: Вплив магнітного поля Землі і техногенних електромагнітних полів на живі організми.....	181
10.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	181
10.2. Практична робота.....	215
11. Тема: Роль видимого світла у житті організмів.....	234
11.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	234
11.2. Практична робота.....	267
12. Тема: Світло і біологічний годинник організмів.....	275
12.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	275
12.2. Практична робота.....	295
13. Тема: Типи взаємовідносин між організмами різних видів. Хижацтво. Паразитизм. Мутуалізм.....	302
13.1. Практична робота.....	302
14. Феромони. Кайромони.....	322
14.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	322
14.2. Практична робота.....	348
15. Екологічна роль природних токсинів.....	356
15.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття.....	356

ПРОГРАМА ДИСЦИПЛІНИ

РОЗДІЛ 1. АУТЕКОЛОГІЯ.

Мінеральні поживні речовини. Класифікація хімічних елементів за їх біологічним значенням. Основні шляхи надходження мінеральних речовин в клітини: а) білки-канали: вибірковість білків-каналів, помилки транспорту іонів через білки-канали; б) білки-транспортери: вибірковість білків-транспортерів, помилки транспорту речовин білками-транспортерами; в) фагоцитоз, піноцитоз; неспецифічність транспорту речовин в клітини за допомогою даних механізмів.

Небезпека і наслідки нестачі мінеральних поживних речовин в клітинах. Клітинні захисні механізми від нестачі мінеральних поживних речовин. Небезпека і наслідки надлишкової присутності вільних іонів в цитоплазмі клітин. Захисні механізми від надлишкового надходження мінеральних речовин в клітини. Закон толерантності Шелфорда.

Біогеохімічна спеціалізація екосистем. Фактори, які впливають на геохімічну спеціалізацію територій. Медико-екологічні наслідки геохімічної спеціалізації територій. Типи мікроелементозів. Поняття абсолютного і відносного надлишку або нестачі хімічного елемента. Біогеохімічні зони і провінції. Принципи розподілу територій на біогеохімічні зони і біогеохімічні провінції.

Вода. Типи води в клітинах. Необхідність води для клітин. Причини виникнення нестачі води в клітинах. Наслідки нестачі води в організмі. Розгортання апоптозної програми самознищення при нестачі води в клітинах. Осмосенсиори в клітинах: мембранні та цитоплазматичні. Самозахист організмів від катастрофічної нестачі води (несезонні посухи). Самозахист організмів від сезонних посух: а) толерантні до водного стресу організми; б) резистентні до водного стресу організми. Ангідробіоз як особлива форма спокою організмів в несприятливих умовах.

Кисень. Організми аероби і анаероби. Робота мітохондрій при нестачі кисню. Причини смерті клітин при аноксії і гострій гіпоксії. Механізми смерті клітин при аноксії і гострій гіпоксії. Включення програми самозахисту клітин від гіпоксії за допомогою білків анаеробного шоку. Механізми адаптації різних тканин організмів до нестачі кисню. Адаптація організмів до сезонної нестачі кисню. Умови включення сезонної програми анаеробіозу.

Органічні поживні речовини. Організми автотрофи і гетеротрофи. Шляхи надходження органічних речовин у клітини. Механізм роботи АТФ-синтетази. Запасання енергії в мітохондріях у вигляді молекул АТФ. Запасання енергії в хлоропластах у вигляді молекул АТФ і високоенергетичних електронів. Загальне рівняння фотосинтезу.

Причини небезпеки нестачі органічних поживних речовин для організмів. Наслідки тривалого голодування організмів. Біологічний сенс самознищення пошкоджених клітин. Механізми самозахисту організмів від катастрофічного (не сезонного голодування); а) зміна поведінки організмів при катастрофічній нестачі органічних поживних речовин; б) зміна роботи клітини при голодуванні: аутофагія (конститутивна і стресова). Механізми самозахисту організмів від сезонного голодування. Принцип роботи сезонного біологічного годинника. Гібернація, aestивація.

Органічні токсичні речовини. Біологічна роль синтезу токсичних речовин в клітинах живих організмів. Механізми дії природних токсинів. Механізми самозахисту клітин від токсинів. Механізм мінливості Р-глікопротеїну і роль модифікаційної мінливості в адаптації клітин до різних типів токсинів. Типи програмованої смерті еукаріотичних клітин при їх отруєнні: механізм розвитку апоптозу; механізм розвитку некрозу. Програмована загибель клітин у прокаріотів: система токсин/антитоксин; система порин/антипорин/аутолізин.

Тиск навколишнього середовища. Зміна тиску навколишнього середовища з глибиною і висотою. Механізми адаптації клітин організмів до несподіваного і до тривалого зниження тиску в навколишньому середовищі (наприклад, при спливанні організму до поверхні водойми). Механізми адаптації клітин організмів до несподіваного і до тривалого підвищення тиску навколишнього середовища (наприклад, при зануренні організму на дно

водойми). Баротолерантні організми. Облігатні барофіли. Причини стійкості барофілів до високого тиску навколишнього середовища.

Захисні механізми від пошкодження організмів чинниками довкілля. Типи больових рецепторів. Захисні функції болю. Передача больового сигналу про пошкодження у організмів, що мають нервову систему. Клітинні механізми знеболення. Механізм дії алкоголю і наркотичних препаратів. Причини труднощів при подоланні алкогольної та наркотичної залежності. Екологічне значення природних знеболювальних речовин. Самозахист рослин від механічного пошкодження тканин трав'янистими тваринами, патогенними грибами і бактеріями.

Звуки. Вібрації. Поняття «звук» і «вібрація». Типи взаємодії пружних механічних хвиль (резонанс, гасіння хвиль). Небезпека впливу зовнішніх джерел звуків і вібрацій на живі організми. Використання звуків, інфразвуків, ультразвуків і вібрацій живими організмами.

Вплив на живі організми гравітаційних і електромагнітних полів.

Гравітація. Закон Всесвітнього тяжіння. Механізм дії невагомості (мікрогравітації) на живі організми. Механізми адаптації організмів до умов невагомості. Гравірецептори у тварин і рослин. Гравітаксис.

Типи електромагнітних полів. Радіохвилі. Поняття «постійне електромагнітне поле» і «змінне електромагнітне поле». Типи змінних електромагнітних полів в залежності від довжини хвилі. Природні та штучні джерела змінного електромагнітного поля. Проникаюча здатність змінного електромагнітного поля. Біологічна дія радіовипромінювання великої потужності. Біологічна дія радіовипромінювання малої потужності. Використання радіохвиль для спілкування між організмами.

Температура навколишнього середовища. Небезпека для живих організмів високих температур навколишнього середовища. Небезпека для живих організмів низьких позитивних температур навколишнього середовища. Самозахист організмів від високих температур і від низьких позитивних температур навколишнього середовища. Небезпека для живих організмів негативних температур і механізми самозахисту організмів від негативних температур навколишнього середовища. Причини неадаптації організмів до зміни температури навколишнього середовища. Самообігрів організмів. Самоохолодження організмів.

Біологічний годинник. Типи біологічних ритмів. Значення біологічного годинника для організмів. Молекулярні механізми роботи добового біологічного годинника в еукариот. Молекулярні механізми роботи добового біологічного годинника у бактерій. Механізми формування добових і сезонних ритмів у багатоклітинних організмів. Підстроювання добових і сезонних ритмів до змін умов навколишнього середовища. Десинхронізація клітинних ритмів. Причини і наслідки. Вплив роботи біологічного годинника на поведінку людини і тварин.

Біолюмінесценція. Поняття «хеомлюмінесценція» та «біолюмінесценція». Механізм самосвітіння організмів. Люциферини. Люциферази. Значення самосвітіння для різних організмів. Регулювання самосвітіння клітин на прикладі роботи генів самосвітіння морської бактерії *Vibrio fischeri*. Походження біолюмінесценції. Використання біолюмінесценції в екологічних дослідженнях.

Біоелектрика. Джерела біоелектрики усередині живих клітин. Механізм створення біоелектричних струмів за межами організму на прикладі африканських геобактерій *Geobacter*. Використання організмами біоелектрики для самозахисту і нападу на прикладі електричних риб. Принцип роботи електроцитів. Причини смерті організмів від удару електричним струмом. Електролокація. Електрокомунікація на прикладі риб і бактеріальних біоплівок.

Ультрафіолетове випромінювання (УФ). Джерела і типи УФ випромінювання. Рецептори і біологічна дія малих доз УФ-A1 випромінювання. Використання відбитих УФ променів в процесі спілкування між організмами. Рецептори і біологічна дія УФ-A2, УФ-B, УФ-C випромінювання. Механізми самозахисту організмів від жорсткого УФ випромінювання. Причини і наслідки неадаптації організмів до УФ випромінювання.

Географічні закономірності в зміні рівня впливу УФ випромінювання на живі організми Еволюція адаптацій до підвищеного рівня ультрафіолетового випромінювання.

Іонізуюче випромінювання. Поняття «іонізуюче випромінювання». Типи іонізуючого випромінювання. Природні та техногенні джерела іонізуючого випромінювання. Біологічна дія малих природних доз іонізуючого випромінювання. Біологічна дія доз іонізуючого випромінювання, які декілька перевищують природний фон. Радіаційний гормезис. Потенційна небезпека радіаційного гормезису. Біологічна дія середніх і високих доз іонізуючого випромінювання. Самозахист організмів від високих доз іонізуючого випромінювання. Причини неадаптації організмів до іонізуючого випромінювання. Наслідки неадаптації організмів до іонізуючого випромінювання. Зміни рівня іонізуючого випромінювання в історії Землі.

Магнітне поле Землі. Будова магнітного поля Землі. Магнітні полюси. Магнітосфера. Сонячний вітер. Радіаційні пояси. Джерело постійного магнітного поля Землі. Інверсії магнітних полюсів Землі. Причини і можливі наслідки інверсій магнітних полюсів. Джерела і типи збурень магнітного поля Землі (магнітні бурі). Вплив магнітного поля Землі на роботу клітин. Вплив магнітного поля Землі на роботу біологічного годинника. Використання магнітного поля Землі живими організмами для орієнтації в просторі під час міграцій.

РОЗДІЛ 2. ДЕМЕКОЛОГІЯ. СИНЕКОЛОГІЯ.

Встановлення видової приналежності організмів. Поняття «вид». Визначення видової приналежності організму методами класичної систематики. Визначення видової приналежності організмів методами аналізу ДНК. Методика проведення PCR-RFLP аналізу. Механізм дії рестриктаз. Приклади використання PCR-RFLP аналізу для встановлення видової приналежності організмів.

Територіальна структура популяцій. Біоцентри, біокоридори. Едафічні умови в біокоридорах. Оцінка інтенсивності міграцій організмів між біоцентрами. Умови збереження біоцентрів. Оцінка екологічного благополуччя біоцентрів на підставі значень індексів α -, β та γ -зв'язності їх графу.

Міграції організмів. Використання методу фракціонування ізотопів в екологічних дослідженнях. Ізотопи. Виявлення ізотопів хімічних елементів. Поняття «фракціонування ізотопів хімічних елементів». Типи фракціонування ізотопів хімічних елементів. Використання методу ізотопного фракціонування в екологічних дослідженнях. Виявлення шляхів міграції організмів з використанням методу ізотопного фракціонування.

Розселення популяцій на нові території. Біоінвазії. Активне і пасивне розселення організмів на нові території (акваторії). Поняття «біоінвазії». Інтродукція нових видів людиною та проблема інвазійних видів. Заходи боротьби з біоінвазіями.

Філогеографія. Методи філогеографії і їх обмеження. Метод аналізу фосилій. Метод молекулярного годинника. Використання методу молекулярного годинника: а) для встановлення спорідненості між великими таксонами; б) для встановлення спорідненості між особинами одного виду. Аналіз шляхів розселення організмів в геологічному минулому Землі.

Взаємовідносини між особинами в популяціях.

Хімічна мова спілкування між особинами в популяціях. Феромони. Кайромони. Феромони. Типи феромонів. Кайромони. Вплив забруднення навколишнього середовища на ефективність спілкування особин за допомогою феромонів. Використання знань про феромони на практиці. Методи вивчення феромонів і кайромонів.

Хижацтво. Хижі бактерії. Хижі найпростіші. Хижі гриби. Хижі рослини. Саморегуляція системи хижак – жертва. Канібалізм як внутрішньовидове хижацтво.

Симбіоз. Ектосимбіоз. Ендосимбіоз. Факультативний і облігатний симбіоз. Експериментальні методи дослідження симбіозу. Функціональна роль організмів в симбіотичній системі. Механізм формування симбіозу між організмами.

Паразитизм. Паразитизм як один з типів симбіозу. Відмінності між паразитами і паразитоїдами. Типи паразитизму. Соціальний паразитизм. Біотрофний паразитизм. Негативний вплив паразита на господаря при біотрофному паразитизмі.

РОЗДІЛ 3. СТІЙКІСТЬ ТА МІНЛИВІСТЬ ВИДІВ. СТАРІННЯ ТА ВИМИРАННЯ ВИДІВ.

Генетичні бар'єри, які запобігають схрещуванню особин різних видів між собою. Зняття генетичних бар'єрів. Типи генетичних бар'єрів. Зняття генетичних бар'єрів і поява міжвидових гібридів в природних умовах. Штучне зняття генетичних бар'єрів. Методи класичної селекції. Методи клітинної інженерії. Отримання міжвидових гібридів методами клітинної інженерії. Застосування методів клітинної інженерії на практиці.

Стійкість видів: лагодження та маскування поломок в молекулах ДНК різних організмів. Причини виникнення пошкоджень в молекулах ДНК організмів. Наслідки появи пошкоджень в ДНК для існування видів. Репарація пошкоджень в ДНК. Механізми маскування пошкоджень в ДНК.

Мінливість видів, пов'язана зі змінами у власній ДНК організмів: спрямованість природного мутагенезу і успадкування набутих ознак. Спрямованість (адаптивність) природного мутагенезу. Механізми, які забезпечують спрямованість (адаптивність) природного мутагенезу. Механізми успадкування придбаних ознак. Типи змін у власній ДНК організму. Поява копій генів і цілих геномів з подальшою зміною в копіях генів (геномів). Приклади мутацій, що призвели до появи нових ознак у організмів.

Стійкість виду: захист від чужорідної ДНК (імунітет). Причини небезпеки присутності в клітинах паразитичної ДНК. Мобільні генетичні елементи. Механізми самозахисту бактерій і архей від чужорідної ДНК (т.т., від патогенів). Механізм самозахисту еукаріот від чужорідної ДНК.

Мінливість видів: нові ознаки, які отримують організми внаслідок одомашнення вірусів і феномену природної генної інженерії. Горизонтальне перенесення генів вірусами. Механізми одомашнення вірусів прокаріотами і еукаріотами. Придбання організмами нових генів в результаті одомашнення вірусів.

Мінливість видів: одомашнення одноклітинних організмів (бактерій, водоростей). Механізм потрапляння бактерій і водоростей в клітини господаря. Механізм одомашнення організмів, що потрапили всередину клітини господаря. Наслідки одомашнення організмів, що потрапили всередину клітини господаря (наслідки підселення ендосимбіонтів).

Старіння організмів. Старіння і вимирання видів.

Старіння організмів. Тривалість життя різних організмів. Причини старіння і смерті організмів. Поняття «старіння». Типи потенційно безсмертних клітин в живих організмах. Механізми забезпечення потенційного безсмертя клітин організмів. Клонування тварин і проблема старіння. Причини різної тривалості життя у близькоспоріднених організмів. Програма старіння і програма смерті організмів - це дві автономні програми. Відсутність програми старіння у певних груп організмів (т.з. «negligible senescence» - старіння, яким можливо знехтувати) Програма старіння у організмів, які живуть в умовах жорстких взаємовідносин у системі «хижак-жертва». Програма прискороного старіння у організмів, які старіють і вмирають після залишення потомства. Теорія феноптозу В.П. Скулачова. Приклади відключення або уповільнення розгортання програми старіння. Теломеразна програма старіння у теплокровних організмів як механізм захисту від раку.

Старіння і вимирання видів. Типи вимирання видів живих організмів. Причини старіння потенційно безсмертних статевих і меристематичних стовбурових клітин. Наслідки старіння статевих і меристематичних стовбурових клітин для видів живих організмів. Додатковий теломеразний механізм старіння видів, які розмножуються статевим шляхом. Причини різної тривалості існування видів живих організмів.

Тема 1. Мінеральні поживні речовини. Природні і техногенні мікроелементози.

1.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Ендемічні мікроелементози.

Надлишок, нестача або дисбаланс хімічних елементів у навколишньому середовищі спроможні призвести до розвитку захворювань у живих організмів: у бактерій, найпростіших, рослин, грибів, тварин і людей. Причиною появи природних мікроелементозів у живих організмів є геохімічна спеціалізація територій, яка пов'язана зі складом підстелюючих гірських порід і з характером їх вивітрювання на даних територіях.



Рис. 1. Міксоедематичний ендемічний кретинізм. Африка. Причина порушення розвитку мозку дітей - нестача йоду і селену у воді і продуктах харчування (за <https://www.researchgate.net/figure/Myxedematous-endemic-cretinism>).



Рис. 2. Розвиток ендемічного зобу у жителів Шрі-Ланки через нестачу йоду у воді і продуктах харчування (за Dissanayake & Chandrajith, 2007).



Рис. 3. 125 млн. жителів Бангладеш щодня п'ють воду, заражену миш'яком. Шкірні симптоми хронічного отруєння миш'яком (за https://www.bbc.com/turkce/haberler/2013/08/130823_arsenik_cin).



Рис. 4. Шкірні прояви хронічного отруєння миш'яком: кератоз, пігментні аномалії, хвороба Боуена, рак (Yerebakan et al., 2003).



Рис. 5. Випадання волосся при надмірному надходженні селену в організм (селеноз) (за <http://www.ijtrichology.com/viewimage.asp?img>).



Рис. 6. Флюороз зубів в регіонах з надлишком фтору у воді (за <https://ohi-s.com/uchebnik-stomatologa/flyuoroz-zubov/>). У важких випадках надмірний вміст фтору у воді призводить не тільки до пошкодження зубів, але також і до пошкодження внутрішнього скелета людини.



Рис. 7. Через накопичення в клітинах алюмосилікатів $Al_2Si_2O_5(OH)_4$, розвивається подоконіоз (не інфекційна слоняча хвороба) (Davey et al., 2007).



Рис. 8. «Суха» форма подоконіоза. Подоконіози розвиваються у населення Африки, Центральної Америки, Індії (Davey et al., 2007).



Рис. 9. Надлишок молібдену і нестача міді в воді і ґрунтах призводить до розвитку у населення ендемічної молібденової подагри. Алтай, північний захід Сибірської платформи, Таймир і ін. регіони (за <http://nrk.kipk.ru/body/pie/body/8/endem/>).

ЖЕЛЕЗО



Дефіцит

Избыток

ЦИНК



Дефіцит

Избыток

Рис. 10-11. Симптоми нестачі і надлишку заліза і цинку в рослинах (https://leto.ua/blog/hloroz_rasteniy_prichinyi_lechenie_sledstviya).



Рис. 12. Нікелева екзема і нікелева сліпота розвиваються у корів в регіонах з надлишком нікелю в навколишньому середовищі (<http://diseasecattle.ru/narusheniya-obmenaveshhestv/izbytok-nikelya.html>).



Рис. 13. Через нестачу марганцю у курей формується ковзаючий суглоб і вони не спроможні ходити (перозис) (<https://domaferma.com/kury/bolezni-kur/u-kuricy-opuhla-lapa-cto-delat.html>).



Рис. 14. Нестача магнію призводить до появи білих плям на листі рослин (за https://leto.ua/blog/hloroz_rasteniy_prichinyi_lechenie_sledstviya).



Рис. 15. Симптоми дефіциту міді у рослин (за http://agrostory.com/agronomists/mikroelementy-med/?sphrase_id=1024289).



Рис. 16. Пошкодження листя цукрових буряків, викликані недостатньою кількістю марганцю в навколишньому середовищі (за <https://yandex.fr/images/search?text>).

Ендемічне захворювання шведських лосів. Інформація про загадкову смерть лосів (*Alces alces* L.) на території Швеції почала надходити з 1985 р. Щорічно від цього загадкового захворювання гине 150-180 тварин (тобто 4-5% популяції). Основним симптомом є крайнє виснаження і потім - загибель тварин. Дослідження, проведені вченими, показали, що це захворювання пов'язане з надмірним накопиченням молібдену в організмі тварин. При цьому надлишок молібдену порушує обмін міді в клітинах, що призводить до численних порушень клітинних процесів, пов'язаних з роботою ферментів, які містять мідь, таких як церулоплазмін, супероксиддисмутаза, цитохром-с оксидаза і т.н. (за Frank, 2004).



Рис. 17. Шведський лось (*Alces alces* L) ([https://www.google.com.ua/search?q=Swedish+ moose](https://www.google.com.ua/search?q=Swedish+moose)).

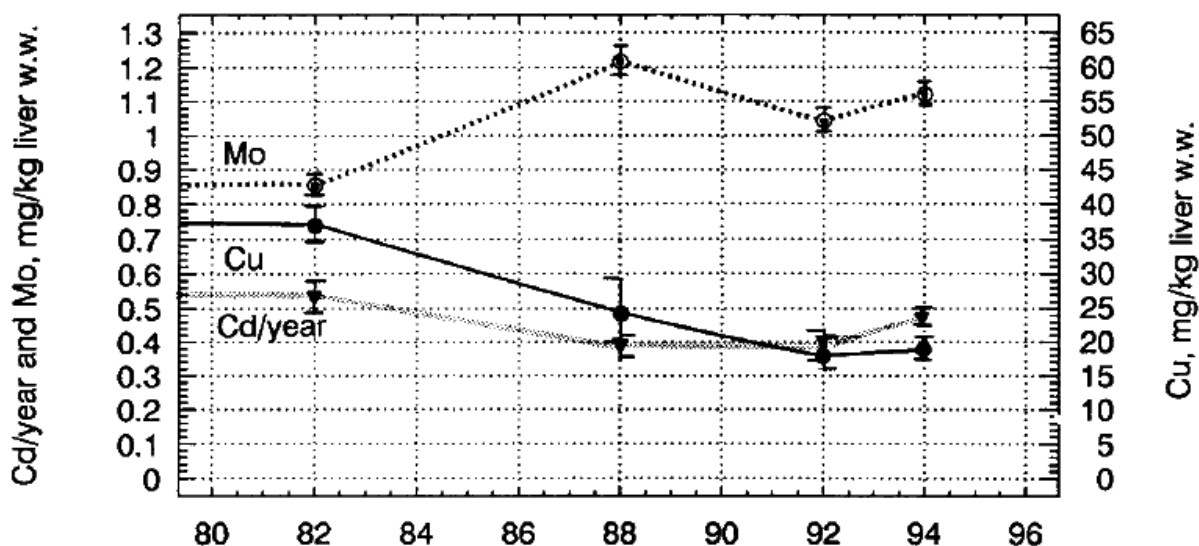


Рис. 18. Рівні надходження молібдену, міді і кадмію до клітин печінки шведських лосів в інтервалі 1982 - 1994 рр. Де: по осі ОУ - концентрація міді (молібдену, кадмію) в клітинах печінки лосів, мг/кг сирої маси (Cd/year and Mo, Cu mg/kg liver w.w.); по осі ОХ - роки дослідження (цитовано за Frank, 2004).

Території з високим співвідношенням заліза до марганцю є ендемічними по виникненню скрейпі (почесухи) у овець. Скрейпі овець або почесуха - це пріонна інфекція овець, при якій відзначені підвищена збудливість, сильний хронічний свербіж шкіри, тремтіння, паралічі, виснаження і загибель тварин. Аналог коров'ячого сказу. Викликається дегенеративними змінами в центральній нервовій системі. Захворювання поширене в Європі, Південній Африці, Індії, Канаді, США.

Хвороба є заразною. Пріонні патогенні білки потрапляють в навколишнє середовище з сечею тварини і можуть там зберігатися десятки років. При попаданні патогенного пріонного білка в організм здорової вівці з травою - вона починає хворіти, інкубаційний період становить від 1 до 4 років. Від прояву перших симптомів до загибелі тварин проходить кілька тижнів (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

*NB! Потрапивши в клітини здорової вівці - патогенний пріонний білок (неправильно упакований білок) - сприяє тому, що власні здорові пріонні білки вівці починають неправильно упаковуватися. А оскільки пріони - це білки, які обслуговують роботу нервової системи, то захворювання вражає центральну нервову систему тварини.

Скрейпі у овець розвивається в наслідок формування в їх клітинах аномальних пріонних білків. Дослідження, проведені Eiriksson T. з колегами (2010) в Ісландії, показали, що території, на яких в клітинах рослин відзначена висока концентрація марганцю і низька концентрація заліза - не є ендемічними по розвитку скрейпі у овець. Відомо, що: а) пріонні білки зв'язуються з іонами заліза; б) для правильного, а не патологічного формування пріонних білків, необхідна робота марганцевих ферментів; в) залізо і марганець є антагоністами, що конкурують за клітинні процеси і мішені.



Рис. 19. У вівці, хворої на скрейпі, на початку захворювання порушується постава і хода, з'являється свербіж шкіри. Захворювання завершується паралічем і загибеллю тварини (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Є ряд гіпотез, що пояснюють можливий вплив балансу мікроелементів на ендемічність спалахів скрейпі у овець: а) при певному балансі заліза і марганцю - браковані пріонні білки в клітинах не утворюються; б) дане співвідношення заліза і марганцю в клітинах знижує проникність епітелію травного тракту овець для патогенних пріонних білків (Eiriksson et al., 2010).

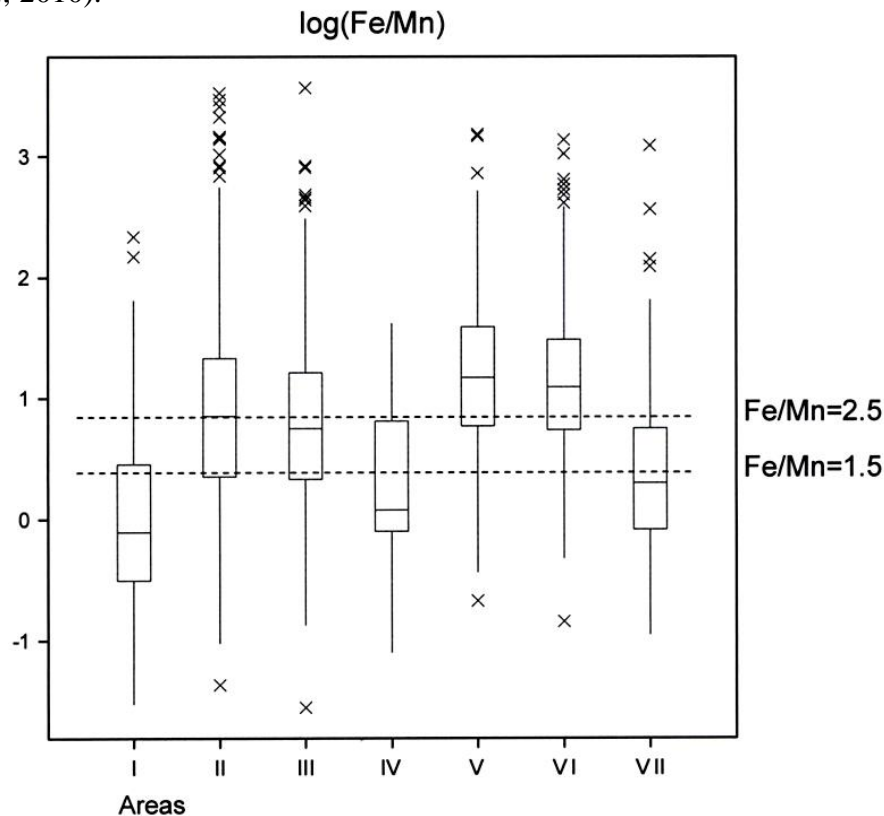


Рис. 20. Території Ісландії, позначені на графіку як I, IV, VII, - вільні від захворювання овець на скрейпі. На цих територія співвідношення концентрації заліза до концентрації марганцю в траві не перевищує 2,5. Території II, III, VI є ендемічними по захворюванню овець на скрейпі. Статус території V невстановлений. На графіку: по осі ОУ вказано логарифм відношення концентрації заліза до концентрації марганцю в траві на відповідних територіях, $\log(\text{Fe}/\text{Mn})$; по осі ОХ - вказані території Ісландії, що відрізняються за статусом захворюваності на скрейпі овець (Eiriksson et al., 2010).

Гіпернакопичення важких металів і металоїдів в тканинах тварин захищає їх від хижаків. Важкі метали і металоїди при їх надходженні в організм в значних кількостях – є токсичними. Деякі тварини накопичують в своєму організмі надлишок металів або металоїдів для самозахисту від нападу хижаків.

Наприклад, антарктичні поліхетні хробаки *Perkinsiana littoralis* використовують гіпернакопичення ванадію для самозахисту від хижаків; *Sabella spallanzanii* і *Branchiomma bairdi* накопичують миш'як також для самозахисту від поїдання хижакими (Fattorini et al., 2010; Giangrande et al., 2017).



Рис. 21. *Perkinsiana littoralis* (за <http://www.lucioesce.net/zoologia/anellidi/seden.htm>).



Рис. 22. *Sabella spallanzanii* (за <https://www.google.com.ua/search?q=Sabella+spallanzanii>).



Рис. 23. Надмірне накопичення миш'яку захищає *Branchioma bairdi* від нападу хижаків (за http://v3.boldsystems.org/index.php/Taxbrowser_Taxonpage?taxid=589056).

Роль металотіонеїнів в стійкості організмів до важких металів і металоїдів.

Металотіонеїни - це низькомолекулярні білки, до складу яких входить багато амінокислотних залишків цистеїну і які здатні зв'язуватися з важкими металами, що захищає клітини від пошкодження.

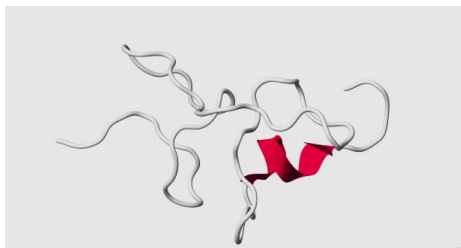


Рис. 24. Металотіонеїн з клітин пшениці (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

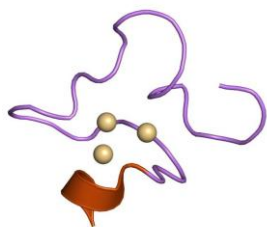


Рис. 25. Стрічкова структура пептиду - металотіонеїну людини. Цей пептид зв'язує важкі метали і тим самим захищає клітинні молекули від пошкодження вільними металами.

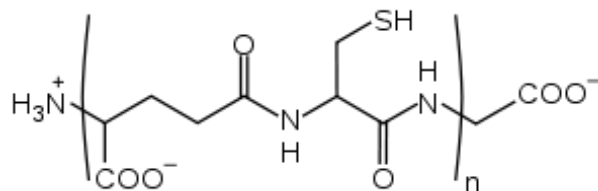


Рис. 26. Рослинний пептид з групи фітохелатинів. Фітохелатини - це один з класів металотіонеїнів. Фітохелатини зв'язуються з іонами металів і тим самим захищають клітини рослин від пошкодження (<https://en.wikipedia.org/wiki/Phytochelatin>).

Гени, які кодують металотіонеїни, були виявлені у тварин, грибів, вищих рослин, найпростіших і у деяких прокариотів. Існують різні родини металотіонеїнів і різні ізоформи.

Наприклад, серед рослин смілки звичайної (*Silene vulgaris*) була виявлена популяція, яка здатна жити на ґрунтах з дуже високою концентрацією міді. Van Hoof N.A. з колегами (2001) показали, що стійкість цих рослин до міді пов'язана з посиленням синтезом металотіонеїну, який закодований в гені SvMT2b. Причиною посиленого синтезу цього металотіонеїну - є збільшення кількості копій гена, в якому він закодований. Причому копіюванню (ампліфікації) був підданий не аллель чутливої лінії, а аллель, характерний для більш стійких рослин.

Посилена експресія гена металотіонеїну SvMT2b була виявлена авторами роботи як в коренях, так і в пагонах смілки звичайної, причому - і в умовах присутності міді, і без неї. Таким чином, постійна робота гена металотіонеїну SvMT2b у всіх органах рослин смілки звичайної (*Silene vulgaris*) забезпечила їх стійкість до міді. В цілому, проведені Van Hoof N.A. з колегами (2001) дослідження показали, що відмінності між чутливими і стійкими рослинами смілки звичайної полягають як в типі алелю (варіанта гена), який працює в клітинах, так і в інтенсивності його зчитування (Van Hoof et al., 2001).



Рис. 27. Смілка звичайна (*Silene vulgaris*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 28. Ґрунтовий черв'як *Dendrobaena octaedra* (<https://www.google.com.ua/search?q=Dendrobaena+octaedra>).



Рис. 29. Ногохвостка (*Orchesella cincta*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Orchesella+cincta>).

Наприклад, стійкість ґрунтових черв'яків *Dendrobaena octaedra*, що мешкають в забруднених міддю екосистемах Швеції, пов'язана з посиленою роботою генів металотіонеїнів (Fisker et al., 2013). Популяція ногохвосток *Orchesella cincta*, яка мешкає в ґрунтах Бельгії, забруднених металами, також придбала стійкість до кадмію завдяки посиленій роботі генів металотіонеїнів (Sterenborg & Roelofs, 2003).

Надлишок іонів металів у навколишньому середовищі призводить до загибелі клітин через накопичення в клітинах пошкоджених молекул.

Проведені дослідження свідчать про те, що в присутності важких металів і металоїдів відбувається загибель окремих клітин і цілих організмів. Причиною запуску програми на самознищення є накопичення в клітинах пошкоджених молекул. Важкі метали можуть безпосередньо вбудовуватися в білки, ліпіди, РНК, ДНК, порушуючи їх структуру. А можуть - призводити до порушення протікання внутрішньоклітинних процесів, в результаті чого в клітинах також накопичуються пошкоджені молекули.

Після експозиції організмів з різними металами - лабораторні методи дослідження дозволяють виявити появу розривів в молекулах ДНК (за допомогою т.з. кометного тесту). В ході експерименту, організми піддають дії важкими металами, потім клітини переносять на предметне скло, покрите спеціальним складом. За допомогою детергентів у клітин видаляють клітинні і ядерні мембрани і підключають до предметного скла електроди. При

наявності розривів у ДНК - негативно заряджені фрагменти ДНК починають рухатися до «+» електроду, що можна зафіксувати, використовуючи спеціальні барвники. Чим сильніше пошкоджена ДНК в клітинах - тим більш товстими і довгими є «хвости», які формуються з фрагментів ДНК.

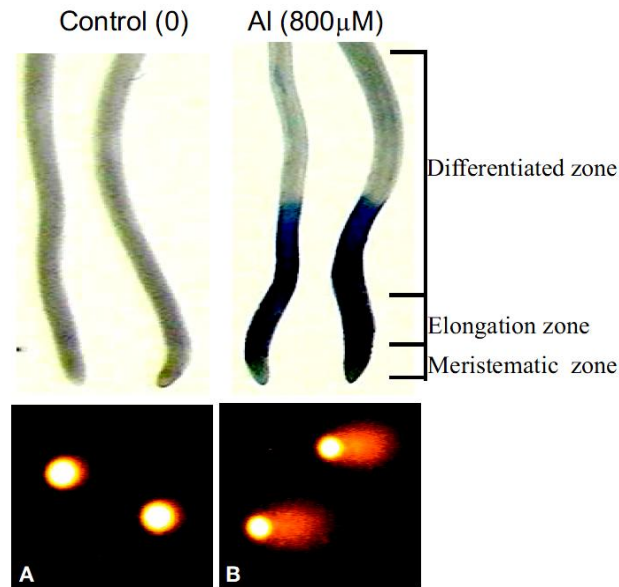


Рис. 30. Забарвлення евансом блакитним (Evans Blue) виявило мертві клітини, а кометний тест показав фрагментованість ДНК в клітинах проростків цибулі після 3 год експозиції з іонами алюмінію в концентрації 800 мкМ (<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2014.00256/full>).

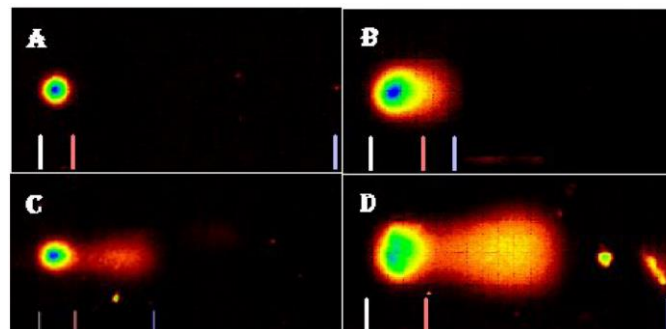


Рис. 31. Поява т.зв. «кометного хвоста» у клітин нирок золотих рибок *Carassius auratus*, експонованих з іонами хрому Cr^{6+} , свідчить про пошкодження молекул ДНК. Де: А - контроль; В – концентрація іонів хрому LC12,5, за якої виживає 12,5% популяції клітин; С – концентрація іонів хрому LC25, за якої виживає 25% клітин; D – концентрація іонів хрому LC50, концентрація, за якої виживає 50% клітин) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2864153/pdf/nihms196523.pdf>).

1.2. Практична робота

Завдання 1. Ендемічне захворювання Північно-Американських лосів *Alces alces americana* на території Нової Шотлії. На території Нової Шотлії (Північна Америка) випадки загибелі місцевих лосів *Alces alces americana* від незрозумілого ендемічного захворювання реєструють, починаючи з 1910 р. Серед симптомів, виявлених у хворих тварин: порушення поведінки (втрата страху перед людиною), слабкість, порушення ходи, втрата зору і слуху, виснаження, смерть. На гістопрепаратах тканин загиблих тварин були виявлені пошкодження мозку і анемія (Frank et al., 2004).

Аналогічне ендемічне захворювання було зареєстровано у лосів, що мешкають на території Швеції. При цьому проведені дослідження показали, що причиною хвороби

шведських лосів став молібденоз (надлишок молібдену і нестача міді в організмі тварин) (Frank, 2004).



Рис. 1. Лось американський (*Alces americanus*) (за <https://idfg.idaho.gov/species/taxa/77108>).

Результати досліджень, проведених Frank A. з колегами (2004) на американських лосях, наведені на рисунках 2-4 і свідчать про те, що причиною загибелі тварин на території Північної Америки є нестача кобальту в організмі цих тварин.

Використовуючи дані, наведені на рисунках 2-4, дайте відповіді на наступні питання:

- 1) Вкажіть середню концентрацію молібдену в клітинах печінки лосів, що мешкають на території Аляски _____, Нової Шотландії _____ і Швеції _____.
- 2) Вкажіть середню концентрацію міді в клітинах печінки лосів, що мешкають на території Аляски _____, Нової Шотландії _____ і Швеції _____.

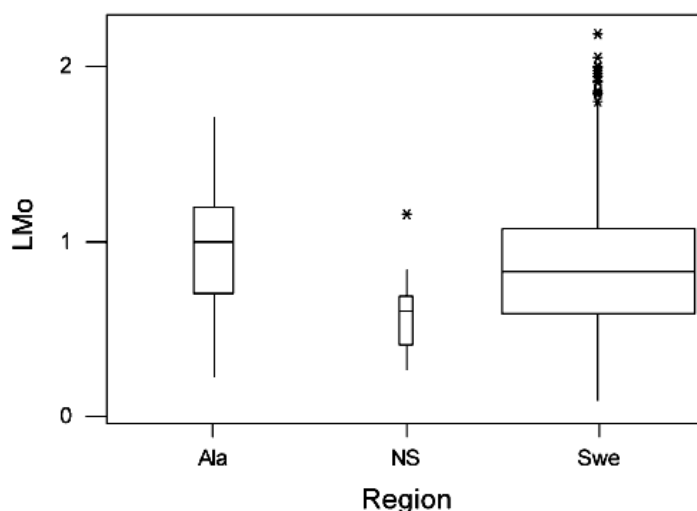


Рис. 2. Концентрація молібдену в клітинах печінки лосів, що мешкають на територіях Аляски, Нової Шотландії і Швеції. Де: по осі ОУ - концентрація молібдену в клітинах печінки, (мг Мо/рік на кг сирової маси печінки) (LMO); по осі ОХ - території проживання лосів, (Region): Ala - Аляска, NS - Нова Шотландія (Північна Америка), Swe - Швеція (Frank et al., 2004).

- 3) Чому висока концентрація молібдену в клітинах печінки лосів, що мешкають на територіях Аляски і Швеції - корелює з низькою концентрацією міді в їх клітинах? _____
- 4) Якою є причина розвитку ендемічного мікроелементозу у лосів на територіях Аляски і Швеції? _____
- 5) Чи може надлишок молібдену і нестача міді бути причиною розвитку мікроелементозів у лосів, що мешкають на території Нової Шотландії? _____
- 6) Вкажіть середню концентрацію кобальту в клітинах печінки лосів, що мешкають на території Аляски _____, Нової Шотландії _____ і Швеції _____.
- 7) Якою є причина розвитку мікроелементозів у лосів, що мешкають на території Нової Шотландії, Північна Америка? _____

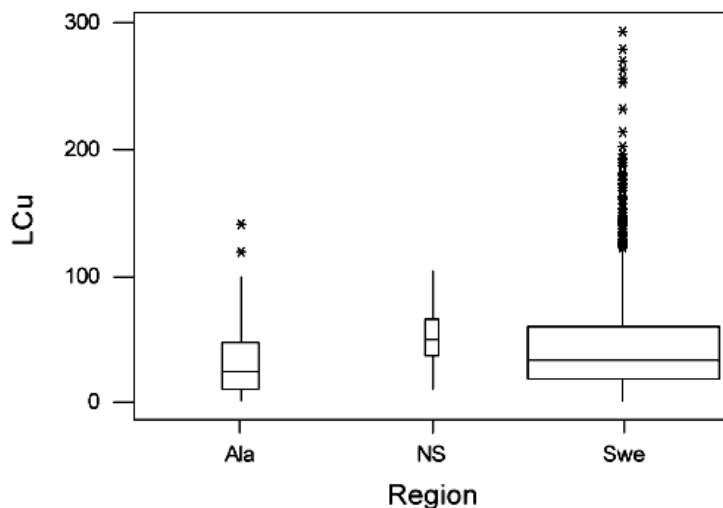


Рис. 3. Концентрація міді в клітинах печінки лосів, які мешкають на територіях Аляски, Нової Шкотії і Швеції. Де: по осі ОУ - концентрація міді в клітинах печінки, (мг Cu/рік на кг сирої маси печінки) (LCu); по осі ОХ - території проживання лосів, (Region): Ala - Аляска, NS - Нова Скотія (Північна Америка), Swe - Швеція (Frank et al., 2004).

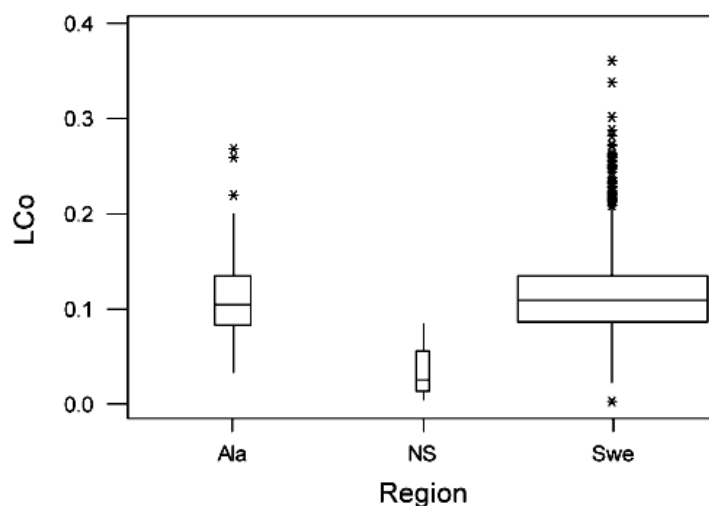


Рис. 4. Концентрація кобальту в клітинах печінки лосів, що мешкають на територіях Аляски, Нової Шкотії і Швеції. Де: по осі ОУ - концентрація кобальту в клітинах печінки, (мг Co/рік на кг сирої маси печінки) (LCo); по осі ОХ - території проживання лосів, (Region): Ala - Аляска, NS - Нова Скотія (Північна Америка), Swe - Швеція (Frank et al., 2004).

Завдання 2. Ендемічні хронічні захворювання нирок у населення, що проживає в сухій тропічній зоні. За останні 20 років у населення Шрі-Ланки, що проживає в сухій зоні острова, кількість випадків ендемічного хронічного захворювання нирок нез'ясованої етіології різко зросла. Щорічно ця хвороба вбиває більше 5000 жителів Шрі-Ланки. Аналогічні хронічні захворювання нирок нез'ясованої етіології були також зареєстровані в посушливих зонах інших тропічних країн.

Причинами можуть бути посилене використання агрохімікатів, забруднення навколишнього середовища важкими металами, присутність природних нефротоксинів і т.н. Основним джерелом розвитку захворювання є питна вода. Однак, який саме фактор є провідним у розвитку хронічного захворювання нирок у місцевого населення - до сих пір точно не встановлено. Зокрема, не було виявлено кореляції між рівнем захворюваності і забрудненням питної води агрохімікатами, важкими металами і т.н.

Хворіють в основному люди мало забезпечених верств населення, які в якості джерела питної води використовують підземні води острова. Chandrajith R. з колегами (2011) були проведені гідрогеологічні дослідження в різних частинах острова - ендемічних і не ендемічних по захворюванню населення на хронічну ниркову недостатність. В обох частинах

острова було виявлено високий вміст фтору в питній воді. Однак, для регіонів, зі значним рівнем захворюваності населення ендемічною нирковою недостатністю, був більш характерним кальцій-двокарбонатний тип питної води. В ендемічних регіонах співвідношення натрію до кальцію в питній воді (Na/Ca) було іншим, ніж в не ендемічних за захворюванням регіонах.

Chandrajith R. з колегами (2011) було встановлено, що фтор в одних випадках - здатний викликати пошкодження ниркових каналців; проте в інших випадках - він здатний захищати нирки. Захисна або токсична роль фтору визначається концентрацією іонів натрію і кальцію в питній воді. Таким чином, найважливішою причиною розвитку ендемічного захворювання нирок у населення Шрі-Ланки є висока концентрація фтору і дисбаланс натрію і кальцію в питній воді (Chandrajith et al., 2011). Результати досліджень, проведених Chandrajith R. з колегами (2011), наведені на рисунку 5.

1) Використовуючи дані рисунка 5, вкажіть діапазон концентрацій фтору в питній підземній воді для регіонів ендемічних _____ і не ендемічних _____ за захворюванням нирок у місцевого населення острова Шрі-Ланка.

2) Чи є висока концентрація фтору в питній воді - причиною розвитку ендемічного захворювання нирок у місцевого населення? _____.

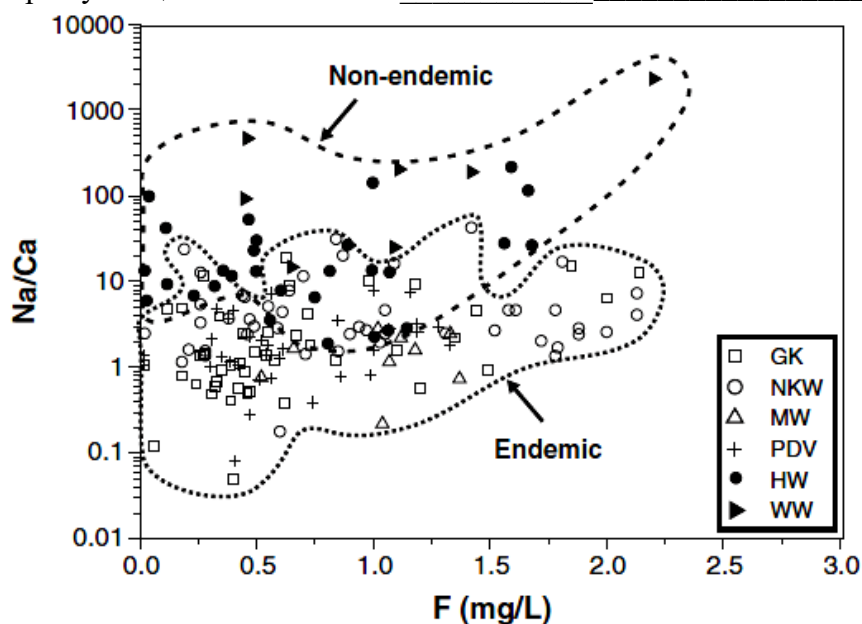


Рис. 5. Вміст фтору і співвідношення натрію і кальцію в підземних питних водах Шрі-Ланки в ендемічних і не ендемічних по захворюванню нирок регіонах острова. Де: по осі ОУ - співвідношення іонів натрію і кальцію в підземних водах, Na/Ca; по осі ОХ - концентрація фтору в підземних водах, мг/л, (F, mg/L); регіони острова: GK - Giradurukotte; NKW - Nikawewa; MW - Medawachchiya; PDV - Padaviya; HW - Huruluwewa; WW - Wellawaya; Endemic - регіони острова, ендемічні за захворюванням нирок у населення; Non-endemic - регіони острова не ендемічні за захворюванням нирок у населення (Chandrajith et al., 2011).

3) Вкажіть співвідношення іонів натрію і кальцію (Na/Ca) в питній підземній воді для ендемічних _____ і не ендемічних _____ за захворюванням нирок регіонах острова.

4) Яке співвідношення іонів натрію і кальцію (Na/Ca) в питній воді є причиною розвитку ендемічного захворювання нирок у місцевого населення острова Шрі-Ланка? _____.

*NB! У ряді робіт було показано, що в розчині з високим співвідношенням Na/Ca - іони фтору формують переважно комплекси з іонами натрію і перестають становити небезпеку для організму. Надлишок іонів кальцію в питній воді в регіонах, ендемічних щодо захворювання нирок, призводить до того, що фтор формує комплекси з кальцієм і вони пошкоджують нирки. Тобто, високі концентрації фтору небезпечні для нирок у разі високих концентрацій кальцію в питній воді.

Завдання 3. Присутність іонів важких металів у воді впливає на поведінку риб і порушує хімічне спілкування між ними. Речовини небезпеки - це хімічні речовини, які виділяють епітеліальні клітини риб після пошкодження шкіри хижаком. Коли інші риби сприймають сигнал небезпеки клітинами нюхового епітелію - вони змінюють свою поведінку, намагаючись уникнути нападу хижака. Реакції риб на речовину небезпеки можуть включати завмирання, використання укриття і т.н., характер яких залежить від виду риб і умов їх проживання.

Сьогодні багато природних акваторій забруднені техногенними речовинами, серед яких значне місце займають іони важких металів. Scott G.R. з колегами (2003) вивчали вплив іонів кадмію на поведінкові реакції риб у відповідь на появу у воді речовин небезпеки. Проведені дослідження показали, що експонування риб райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss*) протягом 7 днів у воді, що містить кадмій 2 мкг Cd/л (концентрація, яка часто зустрічається в сьогоdnішніх водоймах), порушило нормальну захисну поведінкову реакцію у відповідь на появу у воді речовини небезпеки зі шкіри риб. Тоді як дія більш низькими концентраціями кадмію або менш тривала експозиція - не впливали на поведінкові реакції риб.

Цікаво відзначити, що годування риб з додаванням іонів кадмію - не вплинуло на їх поведінкові реакції. Таким чином, іони кадмію впливають на поведінку риб через безпосередню дію кадмію на клітини нюхового епітелію. Дослідження, проведені з використанням радіоактивного кадмію Cd-109, показали, що при додаванні кадмію в воду - найбільше іонів кадмію накопичується в нюховій системі риб і в їх зябрах.



Рис. 6. Райдужна форель (*Oncorhynchus mykiss*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Таким чином, проведені дослідження показали, що присутність в природних водоймах іонів кадмію здатна порушити поведінкові реакції риб і вплинути на взаємини в системі хижак-жертва. Схема експерименту і результати проведених досліджень наведені на рисунках 7-8 (Scott et al., 2003).

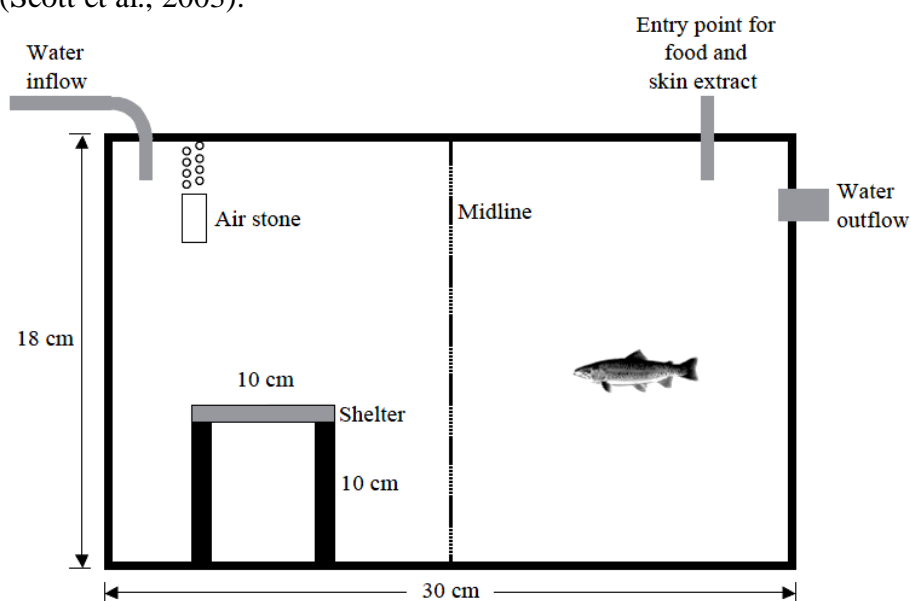


Рис. 7. Схема проведення експерименту в акваріумі. Де: Shelter - укриття; Midline - серединна лінія акваріума; Entry point for food and skin extract - місце додавання в воду акваріума корму і екстракту шкіри риб (Scott et al., 2003).

1) Використовуючи дані рисунка 8А, вкажіть кількість перетинів середньої лінії акваріума рибами: в контрольних умовах (дистильована вода, білий стовпчик гістограми) _____ і після додавання в воду акваріума екстракту шкіри риб (світло сірий стовпчик гістограми) _____.

2) Як вплинуло введення в акваріум екстракту шкіри риб на рухову активність риб? _____.

3) Вкажіть кількість перетинів середньої лінії акваріума рибами, яких протягом 7 днів експонували в умовах впливу 2 мкг Cd/л води і у воду до яких потім додали екстракт шкіри риб _____.

4) Як вплинула передекспозиція на кадмії на зміну рухової активності риб після введення в воду акваріума екстракту шкіри риб? _____.

5) Використовуючи дані рисунка 8В, вкажіть кількість укусів корму рибами: в контрольних умовах (дистильована вода, білий стовпчик гістограми) _____ і після додавання в воду акваріума екстракту шкіри риб (світло сірий стовпчик гістограми) _____.

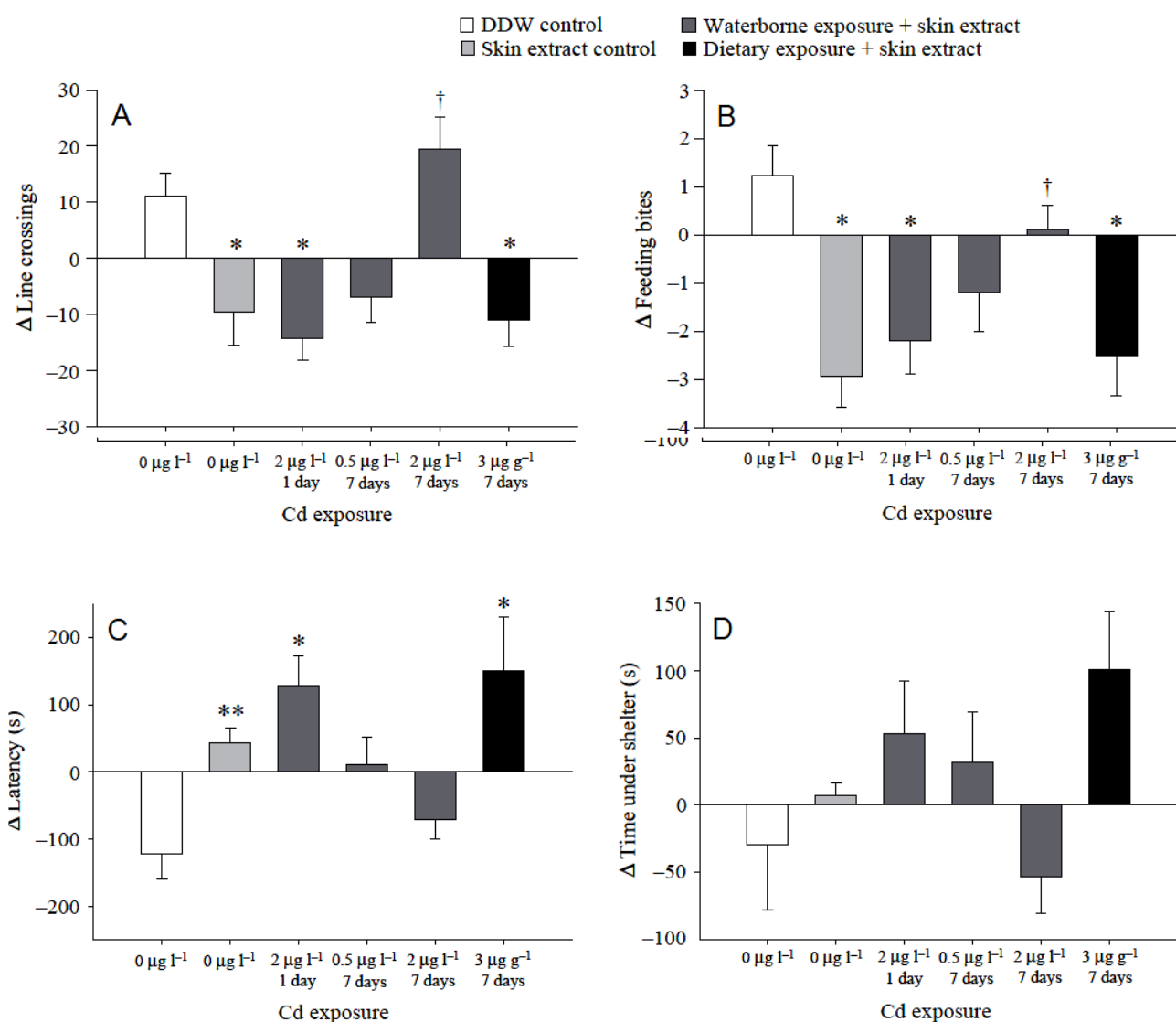


Рис. 8. А - кількість перетинів рибами середньої лінії акваріума (рівень рухової активності риб); В - кількість укусів корму (рівень харчової активності); С - затримка харчування; D - час, проведений рибами в укритті. де: □ - DDW control – контроль, дистильована вода; □ - Skin extract control – додавання до води акваріума екстракту зі шкіри риб; ■ - Waterborne exposure + skin extract – експонування риб на іонах кадмію, розчинених у воді, і додавання до

води акваріума екстракту зі шкіри риб; ■ - Dietary exposure + skin extract – годування риб їжею, що містить іони кадмію, і додавання до води акваріума екстракту зі шкіри риб; по осі ОХ - концентрація іонів кадмію у воді акваріума і тривалість експозиції риб на іонах кадмію: 0 mg/l – 0 мг/л (вода); 0 mg/l – 0 мг/л (вода + екстракт шкіри риб); 2 mg/l, 1 day – 2 мг/л, 1 день; 0,5 mg/l, 7 days – 0,5 мг/л, 7 днів; 2 mg/l, 7 days – 2 мг/л, 7 днів; 3 mg/l, 7 days – 3 мг/л, 7 днів (для годування риб з іонами кадмію); по осі ОУ для графіка А - кількість перетинів рибами середньої лінії акваріума (рівень рухової активності риб), (Δ Line crossings); для графіка В - кількість укусів корму (рівень харчової активності), (Δ Feeding bites); для графіка С - затримка початку харчування рибами, після додавання корму в акваріум, сек (Δ Latency, s); для графіка D - час, проведений рибами в укритті, сек (Δ Time under shelter, s); † - дані достовірно відрізняються від другого контролю (варіант з введенням до води акваріума екстракту шкіри риб); ** - дані достовірно відрізняються від першого контролю (дистильована вода) (Scott et al., 2003).

6) Як вплинуло додавання екстракту шкіри риб в воду акваріума на активність харчування риб? _____.

7) Вкажіть кількість укусів корму рибами, яких протягом 7 днів експонували в умовах впливу 2 мг Cd/л води і у воду до яких потім додали екстракт шкіри риб _____.

8) Як вплинула передекспозиція на кадмії на зміну активності харчування риб після введення в акваріум екстракту шкіри риб? _____.

9) Використовуючи дані рисунка 8D, вкажіть час, проведений рибами в укритті: в контрольних умовах (дистильована вода, білий стовпчик гістограми) _____ і після додавання до води акваріума екстракту шкіри риб (світло сірий стовпчик гістограми) _____.

10) Як вплинуло введення до води акваріума екстракту шкіри риб на час, проведений рибами в укритті? _____.

11) Вкажіть час, проведений рибами в укритті, для риб, яких протягом 7 днів експонували в умовах впливу 2 мг Cd/л води і в воду до яких потім додали екстракт шкіри риб _____.

12) Як вплинула передекспозиція на кадмії на зміну часу, проведеного рибами в укритті, після введення до акваріума екстракту шкіри риб? _____.

13) Зробіть підсумковий висновок про те, як змінюється поведінка риб після появи в воді екстракту шкіри риб-родичів: _____.

14) Зробіть загальний висновок про те, як вплинула передекспозиція риб протягом 7 днів в присутності 2 мг Cd/л на їх здатність змінювати свою поведінку у відповідь на появу у воді хімічного сигналу небезпеки (екстракту шкіри риб-родичів): _____.

15) До яких наслідків для водних екосистем може привести забруднення води важкими металами (кадмієм та іншими) (з точки зору взаємин в системі хижак-жертва)? _____.

Завдання 4. Адаптація черв'яків до ґрунтів, забруднених миш'яком з шахтних відвалів. У Великій Британії показана адаптація черв'яків *Lumbricus rubellus*, *Dendrodrilus rubidus* і *Lumbricus terrestris* до миш'яку на територіях, забруднених шахтними відвалами. Порівняння з черв'яками, що мешкають на не забруднених ґрунтах, дозволило виявити селекцію в певних генах. Зокрема, Anderson С. з колегами (2017) для черв'яків *Lumbricus rubellus* були показані відмінності в генах, що відповідають за детоксикацію миш'яку і

свинцю (фосфат-зв'язуючий і кальцієвий механізми, відповідно), в генах, пов'язаних зі зменшенням оксидативного стресу (глутатіоновий механізм) і з синтезом металотіонеїнів, які здатні зв'язувати миш'як і нейтралізувати його токсичну дію.



Рис. 9. Черв'як червоний дощовик (*Lumbricus rubellus*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>)



Рис. 10. Черв'як *Dendrodrilus rubidus* ([https://www.fugleognatur.dk/gallery.asp? mode](https://www.fugleognatur.dk/gallery.asp?mode)).



Рис. 11. Черв'як *Lumbricus terrestris* (https://ru.wikipedia.org/wiki/Lumbricus_terrestris).

Крім того, між двома лініями черв'яків в генах були виявлені відмінності, пов'язані з епігенетичною регуляцією генома, з морфологічними змінами, з синтезом феромонів і т.н. (Anderson et al. 2017).

Механізми стійкості британських черв'яків до високих концентрацій миш'яку в ґрунтах - поки точно не встановлені. Button M. з колегами (2010) в лабораторних умовах експонували куплених комерційним шляхом чутливих до миш'яку черв'яків *Lumbricus terrestris* на ґрунтах, рівень забруднення яких відповідав вмісту миш'яку в шахтних відвалах.

Проведені дослідження показали накопичення миш'яку в клітинах черв'яків і пошкодження їх ДНК (встановлене за допомогою кометного тесту). Чим більше була концентрація миш'яку в ґрунті - тим вище був рівень пошкоджень ДНК в клітинах чутливих черв'яків (% ДНК в «хвості»).

*NB! В ході кометного тесту клітини організму переносять на предметне скло, за допомогою спеціальних речовин (детергентів) розчиняють клітинну і ядерну мембрани. При цьому на склі залишається тільки ДНК організму. До скла під'єднують електроди. Якщо ДНК пошкоджена - то в електричному полі фрагменти ДНК (а вони заряджені негативно) - починають рухатися до «+» електроду. Чим сильніше пошкоджена ДНК - тим більш довгими і товстими є «хвости» з фрагментів ДНК, які формуються на склі.

Черв'яки, стійкі до миш'яку (*Lumbricus rubellus*, *Dendrodrilus rubidus* і *Lumbricus terrestris*) були зібрані в чистих зонах і на територіях, забруднених шахтними відвалами. У цих ґрунтах рівень миш'яку становив від 203 мкг/кг до 9025 мкг/кг ґрунту. Черв'яки, що мешкають в умовах забруднення ґрунтів миш'яком - також накопичували миш'як в своєму організмі, однак - мали достовірно менший рівень пошкоджень ДНК, в порівнянні з чутливими черв'яками (Button et al., 2010). Результати досліджень Button M. з колегами (2010) наведені на рисунках 12-13.

1) Використовуючи дані рисунка 12, вкажіть рівень пошкоджень в ДНК клітин (% ДНК в «хвості») у чутливих до миш'яку черв'яків *Lumbricus terrestris* в контрольних умовах (без миш'яку) _____, в присутності миш'яку, в концентрації 236 мкг/кг _____ і в концентрації 436 мкг/кг _____.

2) Яка існує залежність між рівнем пошкодження ДНК і концентрацією миш'яку в ґрунтах для чутливих черв'яків *Lumbricus terrestris*? _____

3) Якими є можливі механізми пошкодження ДНК при попаданні миш'яку в клітини? _____

4) Було встановлено, що в клітинах стійких до миш'яку черв'яків, також як і в клітинах чутливих черв'яків, - відбувається накопичення миш'яку при проживанні черв'яків в

забруднених ґрунтах. Однак, цей миш'як не шкодить стійким черв'якам. Які механізми детоксикації важких металів і миш'яку в клітинах Вам відомі? _____

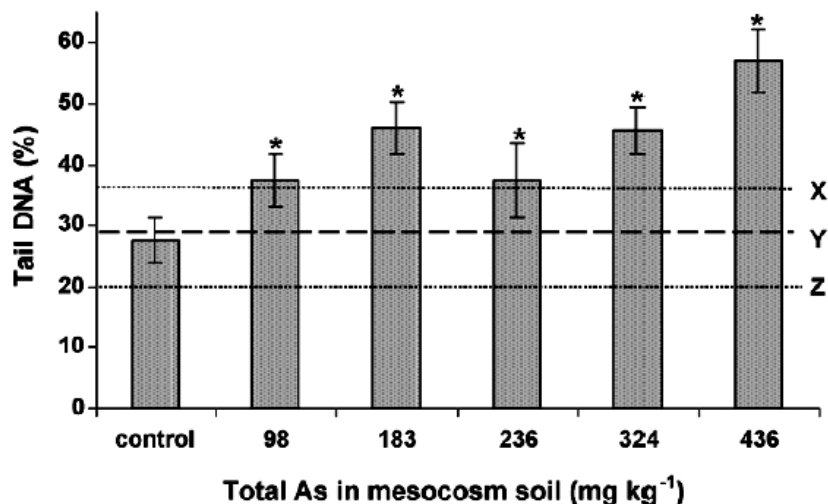


Рис. 12. Рівень пошкоджень в ДНК чутливих черв'яків *Lumbricus terrestris* в присутності різних концентрацій миш'яку в ґрунтах, встановлений за допомогою кометного тесту. Де: по осі ОУ - рівень пошкоджень в ДНК черв'яків, % ДНК в «хвості», (Tail DNA,%); по осі ОХ - концентрація миш'яку в ґрунті, мг/кг (Total As in mesocosm soil, mg/kg). Горизонтальні лінії Y, X і Z - позначають середній рівень пошкоджень ДНК і розкид даних для черв'яків, зібраних в чистій від забруднення зоні (контроль) (Button et al., 2010).

5) Використовуючи дані рисунка 13, вкажіть рівень пошкоджень в ДНК клітин (% ДНК в «хвості») у стійких до миш'яку черв'яків *Lumbricus terrestris*, зібраних у чистій зоні _____ і в зоні шахтних відвалів з концентрацією миш'яку в ґрунті 236 мг/кг _____.

6) Використовуючи дані рисунка 13, вкажіть рівень пошкоджень в ДНК клітин (% ДНК в «хвості») у стійких до миш'яку черв'яків *Dendrodrilus rubidus*, зібраних у чистій зоні _____ і в зоні шахтних відвалів з концентрацією миш'яку в ґрунті 6308 мг/кг _____.

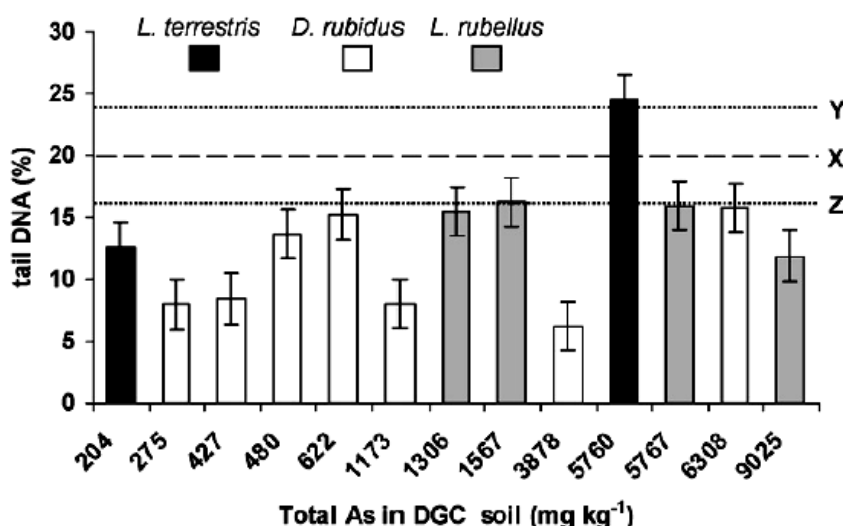


Рис. 13. Рівень пошкоджень в ДНК у черв'яків *Lumbricus terrestris*, *Dendrodrilus rubidus* і *Lumbricus rubellus*, зібраних на ґрунтах, забруднених миш'яком в зоні шахтних відвалів, встановлений за допомогою кометного тесту. Де: по осі ОУ - рівень пошкоджень в ДНК черв'яків, % ДНК в «хвості», (Tail DNA, %); по осі ОХ - концентрація миш'яку в ґрунті шахтних відвалів, мг/кг (Total As in DGC soil, mg/kg). Горизонтальні лінії X, Y і Z - позначають середній рівень пошкоджень ДНК і розкид даних для черв'яків, зібраних в чистій від забруднення зоні (Button et al., 2010).

7) Використовуючи дані рисунка 13, вкажіть рівень пошкоджень в ДНК клітин (% ДНК в «хвості») у стійких до миш'яку черв'яків *Lumbricus rubellus*, зібраних у чистій зоні _____ і в зоні шахтних відвалів з концентрацією миш'яку в ґрунті 9025 мг/кг _____.

8) Отримані дані свідчать про те, що у стійких до миш'яку черв'яків - при їх проживанні в чистій зоні - рівень пошкоджень в ДНК є вищим, ніж у цих же видів черв'яків, але які мешкають в дуже забруднених ґрунтах на шахтних відвалах. Спробуйте пояснити виявлений феномен _____

*NB! Відсутність полумок в ДНК може бути пов'язана з потужною системою лагодження ДНК, яка активується в стресових умовах у організмів.

Завдання 5. Успадкування стійкості до важких металів і металоїдів у ґрунтових черв'яків. Langdon C.J. з колегами (2003) досліджували потомство черв'яків *Lumbricus rubellus*, зібраних в чистих ґрунтах і в ґрунтах покинутого рудника Devon Great Consols (Великобританія), забруднених миш'яком і міддю. *NB! Вміст миш'яку в ґрунтах рудника Devon Great Consols становив 7998 ± 23 мг/кг ґрунту; а вміст міді - $1\ 634 \pm 250$ мг/кг ґрунту.

Зібраних черв'яків вирощували в чистих ґрунтах протягом дев'яти тижнів і відбирали молодих черв'яків, які з'явилися на світ в лабораторії. Молодих черв'яків (т.т., перше покоління, F1) вирощували на чистих ґрунтах протягом 20 тижнів. Потім, для перевірки стійкості молодих черв'яків *Lumbricus rubellus* до важких металів і металоїдів - їх на 28 днів переносили до ґрунту з вмістом миш'яку 2000 мг/кг ґрунту (у вигляді арсенату натрію) або міді 300 мг/кг ґрунту (у вигляді хлориду міді).

Проведені Langdon C.J. з колегами (2003) дослідження показали, що нащадки черв'яків, зібраних на забруднених ґрунтах рудника Devon Great Consols, показали стійкість до миш'яку, але не до міді. При цьому контрольна популяція хробаків (нащадки черв'яків, зібраних в чистих регіонах) продемонструвала високу смертність і на ґрунтах, забруднених миш'яком, і на ґрунтах, забруднених міддю.

Цікаво відзначити, що дорослі черв'яки, зібрані в районі рудника (тобто, батьківські особини) - демонстрували стійкість і до миш'яку, і до міді. Нашадки другого покоління черв'яків - також демонстрували стійкість до миш'яку. Результати досліджень Langdon C.J. з колегами (2003) наведені на рисунках 14-15 (Langdon et al., 2003).

1) Використовуючи дані, наведені на рисунку 14, вкажіть рівень життєздатності черв'яків, які є нащадками черв'яків, відібраних в забруднених Devon Great Consols зонах, в контролі _____ і в умовах впливу миш'яку в концентрації 2000 мг/кг ґрунту _____.

2) Вкажіть рівень життєздатності черв'яків, які є нащадками черв'яків, відібраних в чистих зонах, в контролі _____ і в умовах впливу миш'яку в концентрації 2000 мг/кг ґрунту _____.

3) Чи мають нащадки черв'яків, відібраних в забруднених миш'яком зонах, вроджену стійкість до миш'яку? _____.

4) Використовуючи дані, наведені на рисунку 15, вкажіть рівень життєздатності черв'яків, які є нащадками черв'яків, відібраних в забруднених Devon Great Consols зонах, в контролі _____ і в умовах впливу міді в концентрації 300 мг/кг ґрунту _____.

5) Вкажіть рівень життєздатності черв'яків, які є нащадками черв'яків, відібраних в чистих зонах, в контролі _____ і в умовах впливу міді в концентрації 300 мг/кг ґрунту _____.

6) Чи мають нащадки черв'яків, відібраних в забруднених миш'яком зонах, вроджену стійкість до міді? _____.

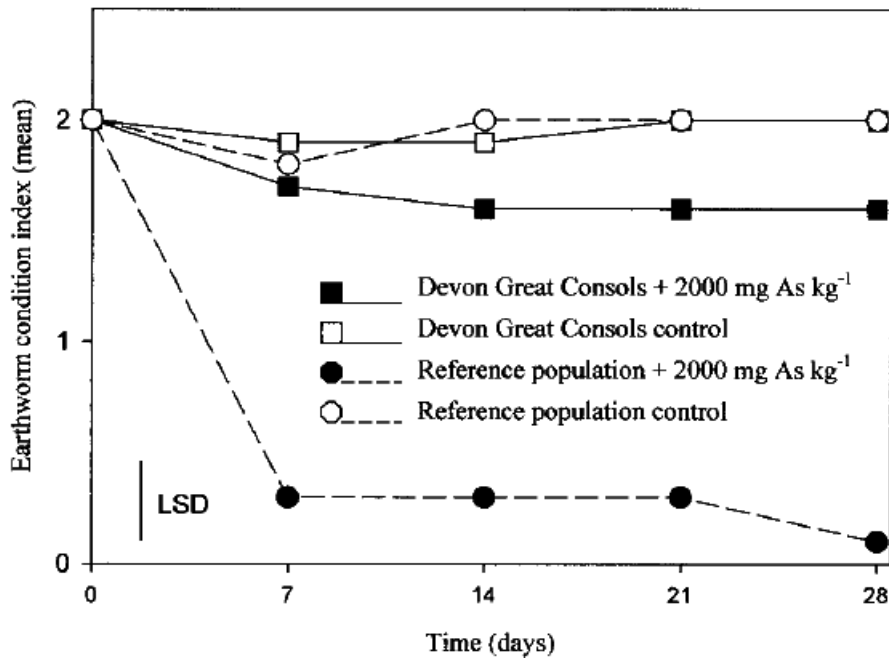


Рис. 14. Результати тесту на життєздатність хробаків *Lumbricus rubellu*, нащадків F1 дорослих черв'яків, відібраних в забруднених Devon Great Consols і чистих зонах, в контролі і в умовах впливу миш'яку в концентрації 2000 мг/кг ґрунту. Де: по осі ОУ - величина індексу стану черв'яків, (Earthworm condition index, mean); оцінки індексу стану черв'яків: 0 - мертвий, 1 - вмираючий (млявий, такий, що не реагує на тактильну стимуляцію) і 2 - активний, реагує на тактильну стимуляцію; Devon Great Consols +2000 мгAs/кг - нащадки черв'яків із забруднених ґрунтів Devon Great Consols в присутності миш'яку 2000 мг/кг; Devon Great Consols control - нащадки черв'яків із забруднених ґрунтів Devon Great Consols в чистих ґрунтах; Reference population +2000 мгAs/kg - нащадки черв'яків з чистих зон в присутності миш'яку 2000 мг/кг; Reference population control - нащадки черв'яків з чистих зон в чистих ґрунтах (Langdon et al., 2003).

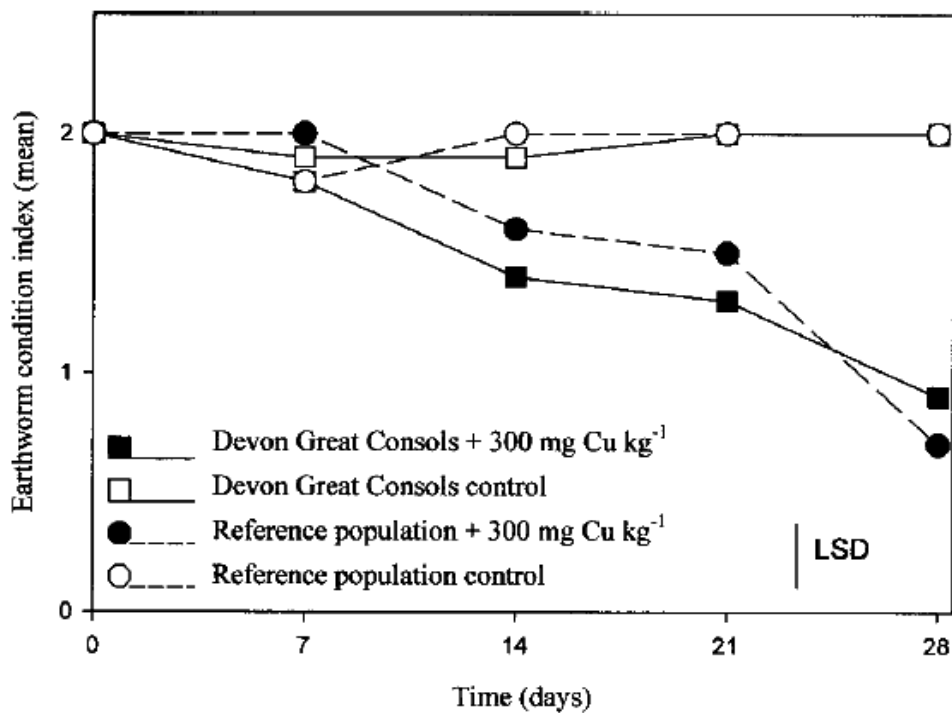


Рис. 15. Результати тесту на життєздатність хробаків *Lumbricus rubellu*, нащадків F1 дорослих черв'яків, відібраних в забруднених Devon Great Consols і чистих зонах, в контролі і в умовах впливу міді в концентрації 300 мг/кг ґрунту. Де: по осі ОУ - величина індексу стану черв'яків, (Earthworm condition index, mean); оцінки індексу стану черв'яків: 0 -

мертвий, 1 - вмираючий (млявий, такий, що не реагує на тактильну стимуляцію) і 2 - активний, реагує на тактильну стимуляцію; Devon Great Consols +300 мгCu/кг - нащадки черв'яків із забруднених ґрунтів Devon Great Consols в присутності міді 300 мг/кг; Devon Great Consols control - нащадки черв'яків із забруднених ґрунтів Devon Great Consols в чистих ґрунтах; Reference population +300 mgCu/kg - нащадки черв'яків з чистих зон в присутності міді 300 мг/кг; Reference population control - нащадки черв'яків з чистих зон в чистих ґрунтах (Langdon et al., 2003).

*NB! Успадкування у тварин стійкості до важких металів і металоїдів (з огляду в статті Langdon С.Ј. з колегами, 2003). Стійкість тварин до металів і металоїдів може бути фізіологічною аклімацією або генетично успадкованою стійкістю. Було встановлено, що черв'яки олігохети і поліхети здатні набувати успадковану стійкість до металів. Наприклад, таку стійкість до кадмію і нікелю мають прісноводні олігохети *Limnodrilus hoffmeisteri* при забрудненні довкілля і ця стійкість зберігається не менше ніж в двох поколіннях. Показано також успадкування стійкості до міді і цинку у поліхети *Nereis diversicolor*.



Рис. 16. Черв'як *Limnodrilus hoffmeisteri* (за https://en.wikipedia.org/wiki/Limnodrilus_hoffmeisteri).



Рис. 17. Черв'як *Nereis diversicolor* (за <https://www.google.com.ua/search?q=Nereis+diversicolor>).

У ногохвосток *Orchesella cincta*, що мешкають в забруднених екосистемах, була виявлена спадкова стійкість до кадмію. У мокриць *Porcello scaber* Latreille - також була виявлена спадкова стійкість до кадмію, при цьому механізми самозахисту у стійких і чутливих тварин були різними.



Рис. 18. Ногохвостка *Orchesella cincta* (<https://uk.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 19. Мокриця *Porcello scaber* (за https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Porcellio_scaber).

В роботі Langdon С.Ј. з колегами (2003), авторам вдалося показати успадкування стійкості до миш'яку, але - не до міді, у наземних олігохетних черв'яків *Lumbricus rubellus*, які мешкали в умовах забруднення середовища цими речовинами. Таким чином, у черв'яків *Lumbricus rubellus* стійкість до міді сформувалася аклімаційна фізіологічна, а до миш'яку - така, що успадковується генетично.

Механізми адаптації до міді і миш'яку - різні. Мідь належить до істотних елементів і черв'яки ефективно регулюють її вміст. Тоді як миш'як - не є суттєвим елементом і у черв'яків можуть бути відсутні метаболічні шляхи для регулювання його вмісту в клітинах. Це, в свою чергу, в умовах надмірного вмісту миш'яку потенційно може привести у черв'яків до генетичних змін, які дозволять їм регулювати вміст миш'яку в тканинах (за Langdon et al., 2003).

Завдання 6. Пом'якшення токсичної дії миш'яку на проростки рису в присутності селену. Миш'як (AsIII) є токсичним хімічним елементом, який становить небезпеку для здоров'я людини. У деяких геохімічних умовах миш'як стає водорозчинним і потрапляє з мінералів подстелюючих гірських порід в воду і в сільськогосподарську продукцію. Зокрема, миш'як може накопичуватися в рисі, який є одним з основних щоденних продуктів харчування для мільйонів людей на Землі. Селен (SeVI) може регулювати рівень токсичності миш'яку. Одним з механізмів його регулюючої дії є вплив на антиоксидантну систему клітин.

Kumar A. з колегами (2016) вивчали вплив селену на пом'якшення рівня токсичності миш'яку, який потрапляє в рослини рису. Проростки рису експонували в присутності миш'яку (AsIII), селену (SeVI) і одночасно миш'яку + селену (AsIII + SeVI). В умовах одночасної присутності в середовищі миш'яку і селену - накопичення миш'яку в коренях і пагонах проростків рису знизилося, в порівнянні з присутністю в середовищі тільки миш'яку. Крім того, одночасна присутність селену і миш'яку сприяла накопиченню в клітинах глутатіону і фітохелатинів в порівнянні з присутністю тільки миш'яку.



Рис. 20. В ході експерименту проростки рису протягом 7 днів вирощували в середовищі, яке містило миш'як (у вигляді арсеніта натрію, NaAsO_2 , в концентрації 25 мМ), селен (у вигляді селената натрію, Na_2SeO_4 , 25 мМ) або обидві речовини одночасно (Kumar et al., 2016).

В цілому, отримані Kumar A. з колегами (2016) дані свідчать про те, що в присутності селену SeVI рівень токсичності миш'яку - знижується. В першу чергу це пов'язано зі зниженням рівня накопичення миш'яку в клітинах. Результати проведених досліджень наведені на рисунку 20 і в таблиці 1 (Kumar et al., 2016).

1) Використовуючи дані таблиці 1, вкажіть рівень накопичення миш'яку в пагонах проростків рису за відсутності селену: _____ і в присутності 25 мкМ селену: _____. Як вплинула присутність селену на рівень накопичення миш'яку в пагонах рису? _____

2) Вкажіть рівень накопичення селену (для варіанту експозиції з 25 мкМ селену) в пагонах рису в умовах відсутності миш'яку _____ і в умовах присутності миш'яку _____. Як вплинула присутність миш'яку на рівень накопичення селену в пагонах рису? _____

3) Відомо, що селенати і арсеніти транспортуються в клітини за допомогою різних білків-транспортерів. Крім того, результати дослідження показали, що в присутності селенатів в клітинах проростків рису посилюється синтез фітохелатинів - молекул, які зв'язуються з металами і металоїдами і сприяють їх транспортуванню і накопиченню в вакуолях клітин, що захищає цитоплазму клітин від пошкодження цими речовинами. Виходячи з наведеної вище інформації, як Ви думаете, який можливий механізм гальмування накопичення миш'яку в проростках рису в присутності селену? _____

*NB! Мінеральні речовини надходять в клітини через білки-канали, за допомогою білків-транспортерів, а також - в транспортних везикулах в процесах фагоцитозу, ендоцитозу і піноцитозу. Білки-канали і білки-транспортери можуть бути як специфічними для конкретних іонів, так і транспортувати в клітини близькі за зарядом і радіусом іони. Наприклад, білки-транспортери сульфат-аніонів (SO_4^{2-}) – забезпечують вхід в клітини також і селенат-аніонів (SeO_4^{2-}); білки-транспортери фосфат-аніонів (PO_4^{3-}) – забезпечують вхід в клітини також і арсенат-аніонів (AsO_4^{3-}) і т.н. При надходженні до клітини надлишкових кількостей іонів - ці іони або ізолюються в вакуолях, або - виводяться з клітин організму.

*NB! Ще однією захисною стратегією рослин від надлишкового надходження в клітини металів і металоїдів є виділення коренями речовин (непротейінових тіолів, цитратів і т.н.), які зв'язуються з металами і металоїдами і не впускають їх у клітини.

Таблиця 1. Вплив присутності селену на проникнення миш'яку в коріння і пагони проростків рису (Kumar et al., 2016).

Обробка:	Миш'як (As,III; мг/кг сухої ваги)		Селен (Se,IV; мг/кг сухої ваги)	
	корені	пагони	корені	пагони
Контроль (без As і Se)	-	-	-	-
As, 25 мкМ	579 ± 43,1	237 ± 17,6	-	-
Se 10 мкМ	-	-	28,6 ± 2,13	11,5 ± 0,85
Se, 25 мкМ	-	-	79,5 ± 5,91	31,9 ± 2,38
As, 25 мкМ + Se 10 мкМ	338 ± 28,5	176 ± 13,1	29,7 ± 2,21	13,4 ± 1,01
As, 25 мкМ + Se, 25 мкМ	207 ± 17,4	97 ± 7,86	67,23 ± 5,0	38,1 ± 2,38

Завдання 7. Один з механізмів виживання рослин на ґрунтах, забруднених нікелем в районі нікелевих шахт, є формування симбіозу з ґрунтовими грибами, толерантними до нікелю. Відомо, що ґрунтові гриби формують симбіоз з коренями рослин в формі ендомікоризи (при якій гіфи гриба проникають всередину клітин кореня) і ектомікоризи (при якій гіфи гриба залишаються на поверхні клітин кореня). У процесі спільного проживання (симбіозу) гриб отримує від рослини цукри і одночасно забезпечує рослину водою і мінеральними речовинами. Крім того, симбіотичні гриби синтезують регуляторні речовини, які надходять в рослини і покращують їх життєздатність.

Jourand P. з колегами (2010) в районі нікелевих шахт Нової Каледонії з ґрунтів, забруднених нікелем, були виділені ектомікоризні гриби *Pisolithus albus*. Потім, в лабораторних умовах, до проростків евкаліпту (*Eucalyptus globulus*) були щеплені гриби *Pisolithus albus*, і рослини вирощувалися в ґрунтах, з надмірним вмістом нікелю. Проведені дослідження показали, що проростки евкаліпта, інокульовані грибами *Pisolithus albus*, виявилися здатними переносити високі токсичні концентрації нікелю (до 60 мг/кг ґрунту), на відміну від рослин, що не були інокульовані цими грибами. Довжина коренів і пагонів у рослин, які мали мікоризні гриби, була більшою порівняно з рослинами без мікоризних грибів - як на чистих ґрунтах, так і на ґрунтах, забруднених нікелем.

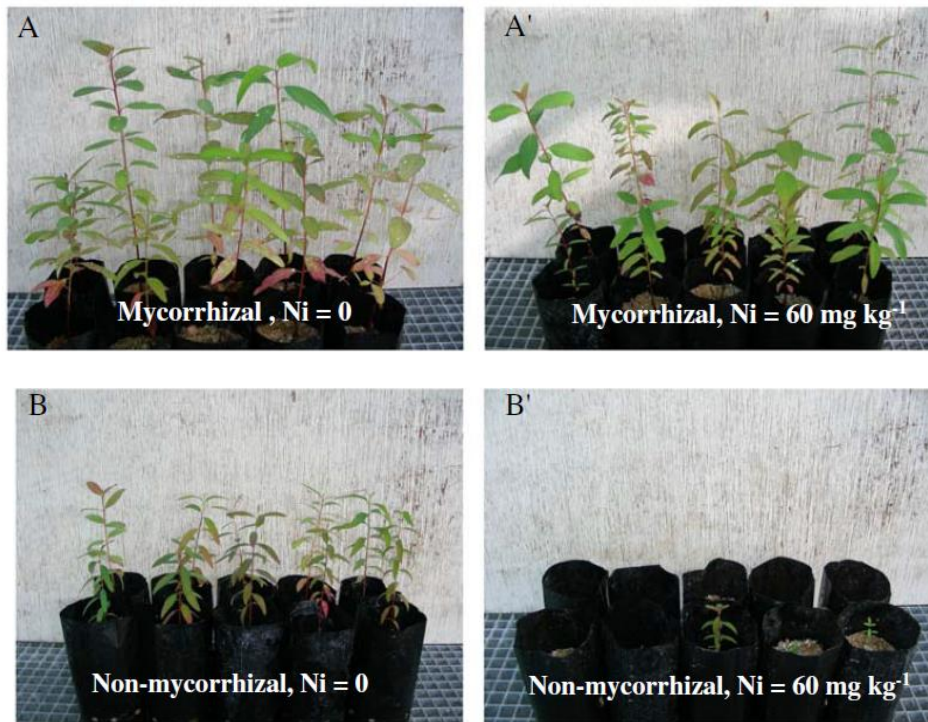
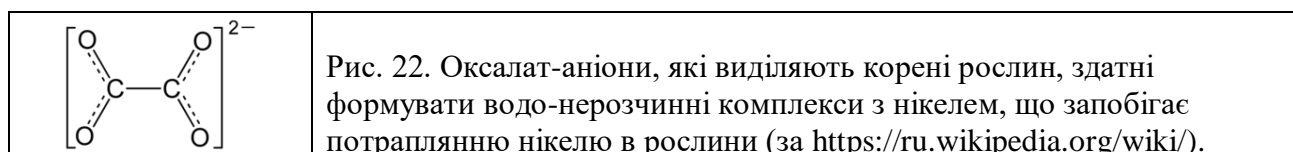


Рис. 21. Проростки евкаліпта *Eucalyptus globulus* через 12 тижнів вирощування на ґрунтах, які містять і не містять нікель. Де: А - проростки евкаліпта, інокульовані мікоризними грибами *Pisolithus albus*; В - проростки евкаліпта, які не були інокульовані мікоризними грибами *Pisolithus albus*; Mycorrhizal, Ni = 0 - проростки з мікоризними грибами на ґрунтах без нікелю; Mycorrhizal, Ni = 60 mg/kg - проростки з мікоризними грибами на ґрунтах з нікелем в концентрації 60 мг/кг; Non-mycorrhizal, Ni = 0 - проростки без мікоризних грибів на ґрунтах без нікелю; Non-mycorrhizal, Ni = 60 mg/kg - проростки без мікоризних грибів на ґрунтах з нікелем в концентрації 60 мг/кг (Jourand et al., 2010).

Лабораторні дослідження показали, що в присутності мікоризних грибів *Pisolithus albus* проростки евкаліпта значно менше накопичували нікель, в порівнянні з не інокульованими рослинами. При цьому, слабе проникнення нікелю в рослини, інокульовані мікоризними грибами *Pisolithus albus*, не може бути пояснено посиленням синтезом речовин, які формують метал-хелатні комплекси, оскільки при високих концентраціях нікелю в ґрунті - концентрація метал-хелатних комплексів у мікоризних рослин була в 5-12 раз нижче, ніж у рослин без мікоризних грибів.

*NB! Відомо, що хелатуючі речовини, які виділяють корені рослин (непротеїнові тіюли, оксалати і ін.), здатні зв'язувати іони металів у вигляді водонерозчинних сполук. Це перешкоджає попаданню металів з ґрунту в клітини рослин. Автори роботи досліджували рівень непротеїнових тіюлів і оксалатів в кореневих виділеннях у проростків евкаліпта інокульованих і не інокульованих мікоризними грибами. В результаті було встановлено, що немікоризні рослини виділяли більше хелатуючих речовин в порівнянні з мікоризними рослинами. Таким чином, зв'язування нікелю в метал-хелатні комплекси не є основним механізмом, який захищає корені евкаліпта від проникнення нікелю.

У лабораторних умовах гриби *Pisolithus albus* практично не накопичували нікель. Автори роботи припустили, що шар ектомікоризних грибів, який покриває корені рослин, діє як ефективний бар'єр для обмеження перенесення Ni з ґрунту в клітини коренів.



Результати досліджень, проведених Jourand P. з колегами (2010), наведені на рисунках 23-24 і в таблиці 2.

1) Використовуючи дані рисунка 23А, вкажіть біомасу пагонів проростків евкаліпта в контрольних умовах чистих ґрунтів для інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus* рослин евкаліпта.

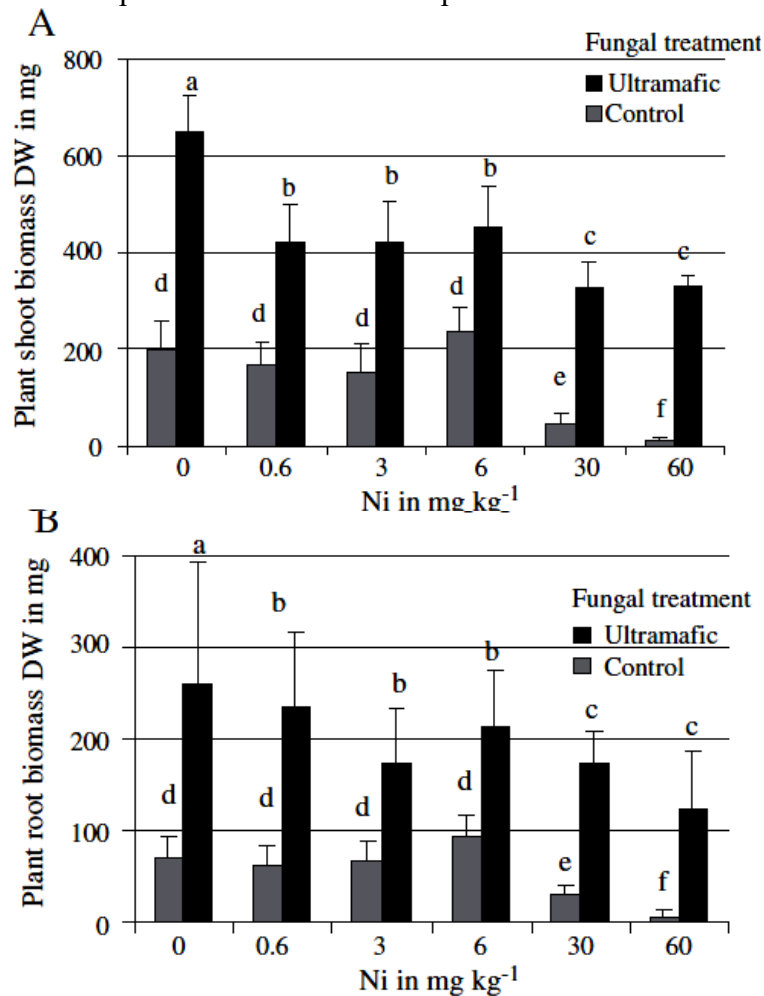


Рис. 23. Біомаса пагонів (А) і коренів (В) рослин евкаліпта, інкульованих і не інокульованих мікоризними грибами *Pisolithus albus* в умовах присутності в ґрунті різних концентрацій нікелю. Де: А - біомаса пагонів, (Plant Shoot Biomass, DW in mg); В - біомаса коренів, (Olant root biomass DW in mg); по осі ОХ - концентрація нікелю в ґрунті, мг/кг, (Ni in mg/kg); Fungal treatment: ■ Ultramafic - проростки евкаліпта, інокульовані мікоризними грибами *Pisolithus albus*, що були знайдені в ґрунтах Нової Каледонії, забруднених нікелем; ■ Control - проростки евкаліпта, не інокульовані мікоризними грибами (Jourand et al., 2010).

2) Використовуючи дані рисунка 23В, вкажіть біомасу коренів проростків евкаліпта в контрольних умовах чистих ґрунтів для інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus* рослин евкаліпта.

3) Чому рослини з мікоризними грибами краще ростуть в порівнянні з рослинами без мікоризних грибів? _____

4) Використовуючи дані рисунка 23А, вкажіть біомасу пагонів проростків евкаліпта в умовах присутності в ґрунті нікелю в концентрації 60 мг/кг для інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus* рослин евкаліпта.

5) Використовуючи дані рисунка 23В, вкажіть біомасу коренів проростків евкаліпта в умовах присутності в ґрунті нікелю в концентрації 60 мг/кг для інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus* рослин евкаліпта.

6) Як вплинула присутність мікоризних грибів на ріст рослин в умовах забруднення ґрунтів нікелем? _____

- 7) Використовуючи дані таблиці 2, вкажіть концентрацію нікелю в коренях проростків евкаліпта в контрольних умовах чистих ґрунтів для інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus* рослин евкаліпта.
- 8) Вкажіть концентрацію нікелю в коренях проростків евкаліпта в умовах присутності в ґрунті нікелю в концентрації 60 мг/кг для інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus* рослин евкаліпта.
- 9) Як вплинула присутність мікоризних грибів на накопичення нікелю в коренях проростків евкаліпта в умовах забруднення ґрунтів нікелем? _____.
- 10) Які механізми, що обмежують вхід іонів металів в клітини коренів рослин, Вам відомі? _____.

Таблиця 2. Вміст нікелю в тканинах рослин евкаліпта (мкМоль Ni/г сухої маси тканин рослини), для рослин, інокульованих мікоризними грибами *Pisolithus albus* з ґрунтів нікелевих шахтних відвалів, і не інокульованих грибами (контроль) (зі скороченнями) (Jourand et al., 2010).

Тканини рослини:	Присутність мікоризного гриба:	Концентрація нікелю в ґрунті, Ni мг/кг:		
		Ni = 0 mg/kg	Ni = 6 mg/kg	Ni = 60 mg/kg
Пагони	Контроль, без гриба	0,20 ± 0,03	0,54 ± 0,03	105,3 ± 9,5
	З мікоризним грибом	0,41 ± 0,03	0,41 ± 0,02	1,77 ± 0,2
Корені	Контроль, без гриба	0,61 ± 0,12	14,70 ± 2,10	144,8 ± 13,2
	З мікоризним грибом	0,37 ± 0,08	6,06 ± 0,75	61,0 ± 8,4

- 11) Використовуючи дані рисунка 24А, вкажіть вміст непротеїнових тіолів в умовах чистих ґрунтів в кореневих виділеннях проростків евкаліпта інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus*.
- 12) Використовуючи дані рисунка 24А, вкажіть вміст непротеїнових тіолів в умовах присутності нікелю в ґрунтах в концентрації 60 мг/кг в кореневих виділеннях проростків евкаліпта інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus*.
- 13) Використовуючи дані рисунка 24В, вкажіть вміст оксалатів в умовах чистих ґрунтів в кореневих виділеннях проростків евкаліпта інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus*.
- 14) Використовуючи дані рисунка 24В, вкажіть вміст оксалатів в умовах присутності нікелю в ґрунтах в концентрації 60 мг/кг в кореневих виділеннях проростків евкаліпта інокульованих _____ і не інокульованих _____ мікоризними грибами *Pisolithus albus*.
- 15) Як вплинуло забруднення ґрунтів нікелем на концентрацію тіолів і оксалатів в кореневих виділеннях немікоризних рослин евкаліпта? _____.
- 16) У чому полягає біологічний сенс посилення синтезу тіолів і оксалатів коренями рослин в присутності важких металів? _____.
- 17) Як вплинуло забруднення ґрунтів нікелем на концентрацію тіолів і оксалатів в кореневих виділеннях рослин евкаліпта, інокульованих мікоризними грибами? _____.
- 18) Чи здатний даний рівень виділення тіолів і оксалатів коренями мікоризних рослин захистити рослини евкаліпта від проникнення іонів нікелю? _____.
- 19) Як Ви думаєте, чому мікоризні рослини евкаліпта менше накопичують нікель, ніж немікоризні рослини, якщо відомо, що самі мікоризні гриби *Pisolithus albus* нікель не накопичують? _____.

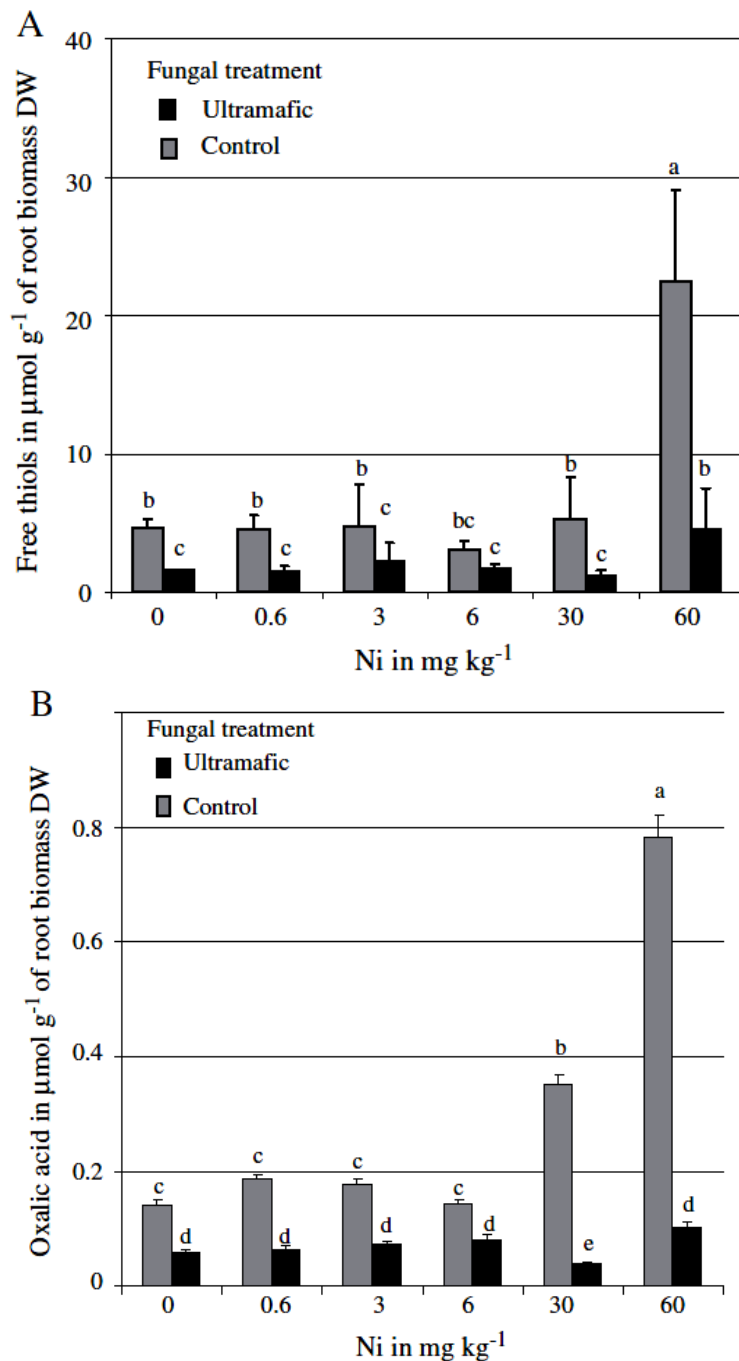


Рис. 24. Вміст непротеїнових тиолів (А) і оксалатів (В) в корневих виділеннях проростків евкаліпта інокульованих і не інокульованих мікоризними грибами *Pisolithus albus*. Де: по осі ОУ для графіка А - концентрація вільних тиолів, синтезованих коренями проростків, мкмоль/г сухої біомаси коренів, (Free thiols in $\mu\text{mol/g}$ of root biomass DW); для графіка В - концентрація оксалатів, синтезованих коренями проростків, мкмоль/г сухої біомаси коренів, (Oxalic acid in $\mu\text{mol/g}$ of root biomass DW); по осі ОХ - концентрація нікелю в ґрунті, мг/кг, (Ni in mg/kg); Fungal treatment: ■ Ultramafic - проростки евкаліпта, інокульовані мікоризними грибами *Pisolithus albus*, які були знайдені в ґрунтах Нової Каледонії, забруднених нікелем; ▒ Control - проростки евкаліпта, що не були інокульовані мікоризними грибами (за Jourand et al., 2010).

*NB! *Pisolithus albus* – наземний гриб-гастероміцет роду Пізолітусів. Характерний для флори Австралії; разом з ендемічними для Австралії видами дерев був занесений в інші частини світу. Плодові тіла грибів роду *Pisolithus* мають псевдоніжку, рідше - сидячі, кулястої або грушоподібної форми. Всі представники цього роду - не їстівні. Спочатку ендемічний для Австралії мікоризний гриб, що росте на ґрунті в симбіозі з деревами родів евкаліпт (*Eucalyptus*) і акація (*Acacia*), разом з деревами-господарями поширився по інших континентах (за https://ru.wikipedia.org/wiki/Pisolithus_albus).



Рис. 25. Плодове тіло гриба *Pisolithus albus* (за http://www.elfram.com/fungi/fungi_p/pisalb_c.html). Цей гриб надає перевагу сухим умовам, росте вздовж гравійних доріг.

Контрольні питання:

1. Механізми надходження мінеральних речовин в клітини: особливості функціонування білків-каналів, білків-транспортерів і везикулярного транспорту.
2. Селективність білків-каналів і білків-транспортерів для іонів.
3. Небезпека нестачі мінеральних речовин в клітинах і механізми самозахисту клітин від голодування по мінеральним речовинам.
4. Небезпека надлишкового надходження мінеральних речовин в клітини і механізми самозахисту клітин від надлишкової кількості іонів в клітинах.
5. Поняття про геохімічну спеціалізацію геосистем.
6. Медико-екологічні наслідки геохімічної спеціалізації геосистем.
7. Природні і техногенні мікроелементози.

Література:

- Anderson C., Cunha L., Sechi P., Kille P., Spurgeon D. Genetic variation in populations of the earthworm, *Lumbricus rubellus*, across contaminated mine sites // BMC Genet. – 2017. – Vol. 18(1):97. doi: 10.1186/s12863-017-0557-8.
- Button M., Jenkin G.R., Bowman K.J., Harrington C.F., Brewer T.S., Jones G.D., Watts M.J. DNA damage in earthworms from highly contaminated soils: assessing resistance to arsenic toxicity by use of the Comet assay // Mutat. Res. – 2010. – Vol. 696(2). – P. 95 - 100. doi: 10.1016/j.mrgentox.2009.12.009.
- Chandrajith R., Dissanayake C.B., Ariyaratna T., Herath H.M., Padmasiri J.P. Dose-dependent Na and Ca in fluoride-rich drinking water--another major cause of chronic renal failure in tropical arid regions // Sci. Total Environ. – 2011. – Vol. 409(4). – P. 671 - 675. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.10.046.
- Davey G., Tekola F., Newport M.J. Podoconiosis: non-infectious geochemical elephantiasis // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. – 2007. – Vol. 101(12). – P. 1175 - 1180.
- Dissanayake C.B., Chandrajith R. Medical geology in tropical countries with special reference to Sri Lanka // Environ. Geochem. Health. – 2007. – Vol. 29(2). – P. 155 - 162.
- Eiriksson T., Bjornsson H., Gudmundsdottir K.B., Kristinsson J., Johannesson T. The distribution of four trace elements (Fe, Mn, Cu, Zn) in forage and the relation to scrapie in Iceland // Acta. Vet. Scand. – 2010. – Vol. 52:34. doi: 10.1186/1751-0147-52-34.
- Fattorini D., Notti A., Nigro M., Regoli F. Hyperaccumulation of vanadium in the Antarctic polychaete *Perkinsiana littoralis* as a natural chemical defense against predation // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. – 2010. – Vol. 17(1). – p. 220 - 228. doi: 10.1007/s11356-009-0243-0.
- Fisker K.V., Holmstrup M., Sorensen J.G. Variation in metallothionein gene expression is associated with adaptation to copper in the earthworm *Dendrobaena octaedra* // Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. – 2013. – Vol. 157(2). – P. 220 - 226. doi: 10.1016/j.cbpc.2012.11.007.
- Frank A. A review of the "mysterious" wasting disease in Swedish moose (*Alces alces* L.) related to molybdenosis and disturbances in copper metabolism // Biol. Trace Elem. Res. – 2004. – Vol. 102(1-3). – P. 143 - 159.
- Frank A., McPartlin J., Danielsson R. Nova Scotia moose mystery - a moose sickness related to cobalt- and vitamin B12 deficiency // Sci. Total Environ. – 2004. – Vol. 318(1-3). – P. 89 - 100.
- Giangrande A., Licciano M., Del Pasqua M., Fanizzi F.P., Migoni D., Stabili L. Heavy metals in five Sabellidae species (Annelida, Polychaeta): ecological implications // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. – 2017. – Vol. 24(4). – P. 3759 - 3768. doi: 10.1007/s11356-016-8089-8.
- Jourand P., Ducouso M., Reid R., Majorel C., Richert C., Riss J., Lebrun M. Nickel-tolerant ectomycorrhizal *Pisolithus albus* ultramafic ecotype isolated from nickel mines in New Caledonia strongly

enhance growth of the host plant *Eucalyptus globulus* at toxic nickel concentrations // *Tree Physiol.* – 2010. – Vol. 30(10). – P. 1311 - 1319. doi: 10.1093/treephys/tpq070.

Kumar A., Dixit G., Singh A.P., Dwivedi S., Srivastava S., Mishra K., Tripathi R.D. Selenate mitigates arsenite toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) by reducing arsenic uptake and ameliorates amino acid content and thiol metabolism // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2016. – Vol. 133. – P. 350 - 359. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.06.037.

Langdon C.J., Pearce T.G., Meharg A.A., Semple K.T. Inherited resistance to arsenate toxicity in two populations of *Lumbricus rubellus* // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2003. – Vol. 22(10). – P. 2344 - 2348.

Scott G.R., Sloman K.A., Rouleau C., Wood C.M. Cadmium disrupts behavioural and physiological responses to alarm substance in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.* – 2003. – Vol. 206. – P. 1779 – 1790.

Sterenborg I., Roelofs D. Field-selected cadmium tolerance in the springtail *Orchesella cincta* is correlated with increased metallothionein mRNA expression // *Insect. Biochem. Mol. Biol.* – 2003. – Vol. 33(7). – P. 741 - 747.

Van Hoof N.A., Hassinen V.H., Hakvoort H.W., Ballintijn K.F., Schat H., Verkleij J.A., Ernst W.H., Karenlampi S.O., Tervahauta A.I. Enhanced copper tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke populations from copper mines is associated with increased transcript levels of a 2b-type metallothionein gene // *Plant Physiol.* – 2001. – Vol. 126(4). – P. 1519 - 1526.

Yerebakan O., Ermifl O., Ciftcioglu M.A., Yilmaz E., Basaran E. Chronic arsenicism: two cases report // *Turk. Derm.* – 2003. – Vol. 37. – P. 43 – 47.

Тема 2. Вода. Стрес нестачі води в навколишньому середовищі.

2.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Онтогенетична і трансгенеративна пластичність фенотипу організмів. Фенотип організмів є досить пластичним – зміна умов навколишнього середовища призводить до зміни фенотипічних ознак організмів в межах генотипу. Пластичність прояву ознак може бути онтогенетичною – т.т. розвиватися протягом онтогенезу організма, а може бути трансгенеративною – т.т., проявлятися у нащадків організмів, які мешкали в змінених умовах середовища.

Механізми пластичності фенотипу організмів до кінця не зрозумілі. Одним з можливих шляхів формування трансгенеративної пластичності організмів - може бути зміна характеру метилування ДНК (т.т., епігенетичні зміни в ДНК).

Стрес нестачі вологи у батьківських рослин - впливає на фенотип нащадків через епігенетичні зміни в ДНК організмів. Стресові умови, в яких експонуються батьківські особини, впливають на фенотип нащадків - у них підвищується стійкість до відповідного типу стресу. Така адаптивна трансгенеративна пластичність організмів добре задокументована. Однак, її механізми поки до кінця не зрозумілі. Одним з можливих шляхів формування подібних адаптацій у нащадків є індукована умовами середовища зміна характеру метилування ДНК.

Herman J.J. і Sultan S.E. (2016) протестували цю гіпотезу на однорічних рослинах гірчаку почечуйного (*Polygonum persicaria*), для яких відома адаптивна трансгенеративна пластичність у відповідь на стрес посухи у батьківських рослин. Рослини, відібрані в природних популяціях, Herman J.J. і Sultan S.E. (2016) вирощували або у вологих, або в посушливих умовах. Потім їх нащадків під час проростання експонували або на препараті, який призводить до деметилування, або в контрольних умовах. І надалі вирощували в посушливих ґрунтових умовах.



Рис. 1. Гірчак почечуйний (*Polygonum persicaria*) (<https://uk.wikipedia.org/wiki/>).

В контрольних умовах проростання нащадки посухо-стресованих батьків мали довшу кореневу систему і набували більш значну біомасу в порівнянні з нащадками батьків, вирощуваних в умовах достатнього зволоження. Деметилування усувало ці адаптивні відмінності, що з'явилися у нащадків внаслідок експонування їх батьків в умовах посухи. Слід відзначити, що деметилування не мало ефекту на фенотип нащадків батьків, вирощуваних в умовах достатнього зволоження.

У роботі досліджувалися 12 генетичних ліній. Результат впливу деметилування на прояв батьківського ефекту адаптації до посухи відрізнявся між генетичними лініями. Отримані дані свідчать про те, що метилування ДНК опосередковує адаптивну фенотипічну відповідь нащадків на стрес посухи у батьків (Herman & Sultan, 2016).

Біологічна ціна пластичності онтогенезу. Онтогенетична пластичність дозволяє організмам адаптуватися до мінливих умов навколишнього середовища. Burraco P. з колегами (2017) досліджували фізіологічні механізми, які лежать в основі онтогенетичної пластичності у популяції острівних трав'яних жаб *Rana temporaria*, що мешкають на півночі Швеції. В ході лабораторного експерименту вчені вивчали онтогенетичну пластичність

личинок жаб з шести популяцій, що мешкають в трьох різних умовах острова: з постійними басейнами, з тимчасовими басейнами і з басейнами обох типів.

Burgaco P. з колегами (2017) експонували личинок жаб кожної популяції або в умовах постійного рівня зволоження, або симулювали пересихання басейну і оцінювали фізіологічну відповідь личинок жаб на рівні синтезу кортикостерону, оксидативного стресу та довжини теломерних ділянок хромосом.

Проведені Burgaco P. з колегами (2017) дослідження показали, що у відповідь на пересихання водойм - найвищий рівень онтогенетичної пластичності показали популяції, які живуть на ділянках з тимчасовими водоймами в порівнянні з двома іншими типами середовищ існування.

При цьому жаби з місць проживання з тимчасовими водоймами показали найнижчий рівень конститутивної активності каталази і глутатіонредуктази (ферментів, які захищають клітини від оксидативного стресу) і більш короткі теломерні ділянки хромосом, в порівнянні з іншими типами середовищ існування. *NB! Довжина теломерних ділянок хромосом корелює з тривалістю життя індивідуального організму і з тривалістю існування виду в цілому.



Рис. 2. Трав'яна жаба (*Rana temporaria*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Отримані дані свідчать про те, що підвищення рівня онтогенетичної пластичності супроводжується фізіологічними витратами організму. Це дозволяє припустити, що потенціал пластичності обмежений його вартістю (зокрема, його впливом на тривалість життя індивідуального організму і тривалістю репродуктивного успіху популяції в цілому) (Burgaco et al., 2017).

Gomez-Mestre I. з колегами (2013) показали, що жаби *Pelobates cultripes* завдяки онтогенетичній пластичності спроможні скорочувати період розвитку своїх личинок на 30% у відповідь на зниження рівня зволоженості середовища, яке пов'язане з пересиханням тимчасових водойм.

Було встановлено, що прискорення онтогенетичного розвитку відбувається через зростання ендogenous рівня кортикостерону і тиреоїдного гормону, які діють синергетично в процесі метаморфоза, і через посилення експресії рецептора тиреоїдного гормону, який підвищує чутливість тканин і їх відповідь на дію тиреоїдного гормону.

Однак, прискорення онтогенетичного розвитку має і свої морфологічні та фізіологічні наслідки. Зокрема, у пуголовків були виявлені більш короткі кінцівки, знижений рівень води в організмі, що викликає оксидативний стрес - на це вказує підвищена активність антиоксидантних ферментів каталази, супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази. Це збільшення активності антиоксидантних ензимів забезпечує нейтралізацію окисного пошкодження, викликаного підвищеною метаболічною активністю.

Таким чином, прискорення розвитку дозволяє пуголовкам жаб уникнути стресу висихання водойми, але це відбувається за рахунок зменшення розмірів організму при метаморфозі і посиленням оксидативного стресу (Gomez-Mestre et al., 2013).

Стійкість організмів до зневоднення забезпечується своєчасним включенням захисних програм. Fierro C. з колегами (2017) показали, що в зоні припливів водорості *Pyropia orbicularis*, які колонізують верхні літоральні зони вздовж чилійського узбережжя, здатні витримувати 96% зневоднення за рахунок включення захисної програми: синтезу трегалози, синтезу антиоксидантних ензимів і т.н. При цьому автори роботи відзначають, що водорості, які є чутливими до зневоднення, - не показали активації відповідних генів (Fierro et al. 2017).



Рис. 3. Червона водорість *Pyropia orbicularis* (за <http://v3.boldsystems.org/index.php>).

*NB! Встановлено, що тварини, які мешкають в зоні припливів, мають припливний біологічний годинник, який дозволяє їм своєчасно включати захисну програму від зневоднення. Цілком можливо, що аналогічний припливний годинник є і у морських водоростей.

Адаптації організмів до сезонних посух. У мешканців пустелі сформувався цілий комплекс адаптацій до життя в умовах нестачі води. До групи поведінкових адаптацій відносяться нічний спосіб життя, заривання в нори, входження в сезонний торпор (сплячку). До морфологічних, фізіологічних і біохімічних адаптацій відносяться: великі вуха для розсіювання теплової енергії, отримання метаболічної води, економне витрачання води нирками і т.н.

Gallardo P.A. з колегами (2005) показали, що фенотипічна пластичність роботи ниркової системи пустельних гризунів дозволяє їм пристосуватися до сезонної і багаторічної (Ель-Нін'ю) нестачі води. Зокрема, отримані дані свідчать про те, що у листовухих мишей *Phyllotis darwini*, що мешкають в Південно-Американській пустелі, осмомолярність сечі (концентрація речовин в сечі) вище влітку, ніж взимку. Тобто ниркова система цих тварин в умовах сезонної посухи здатна економно витратити воду, виводячи з організму більш концентровану сечу.

Проведені дослідження показали, що ці відмінності в роботі ниркової системи пов'язані зі змінами в експресії різних ізоформ аквапоринів - білків, які формують канали для води в мембранах клітин. При нестачі води в організмі листовухих мишей - в клітинах нирок посилюється синтез аквапоринів AQP-2, які забезпечують зворотню реабсорбцію води (Gallardo et al., 2005).



Рис. 4. *Phyllotis darwini* (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

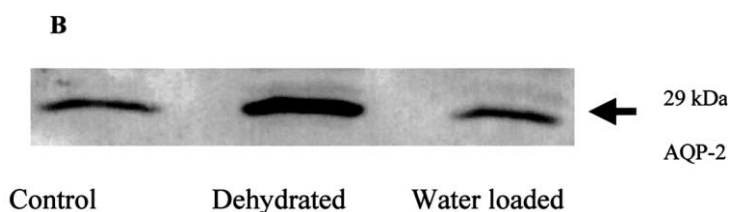


Рис. 5. Аналіз накопичення білків аквапоринів AQP-2 в клітинах нирок листовухих мишей при різному рівні гідратації організму. Де: Control - контрольні умови звичайної вологозабезпеченості тварин; Dehydrated - умови зневоднення організму; Water loaded - умови повернення організму в режим звичайної вологозабезпеченості; 29 kDa - молекулярна маса білків аквапоринів-2; AQP-2 - білок аквапорин-2 (Gallardo et al., 2005).

Наприклад, гризуни кактусові миші (*Peromyscus eremicus*), що мешкають в сухих пустелях південного заходу США і Мексики, максимально адаптовані до нестачі вологи - вони спроможні дуже довго виживати без зовнішніх джерел води. Kordonowy L. і MacManes M. (2017) виявили у кактусових мишей 9 генів, які по-різному експресуються у тварин, які отримують воду, і тварин - які не отримують воду.



Рис. 6. Кактусова миша (*Peromyscus eremicus*) (за <https://uk.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 7. Лісова деревна жаба (*Rana sylvatica*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Серед цих генів були гени інсуліну, гени регулятори фертильності самців і сім'яників, транспортери, задіяні в мембранному транспорті, і які, можливо, беруть участь в осморегуляції (Kordonow & MacManes, 2017).

Зі стресом зневоднення живі організми стикаються не тільки в умовах сезонних посух, пов'язаних з високою температурою навколишнього середовища. В холодний сезон організми також страждають від нестачі води. Наприклад, сезонне опадання листя є захистом від зневоднення організмів як в умовах жаркого, так і холодного клімату. Деякі тварини сезонні заморозки переживають в стані глибокої сплячки - т.зв. гібернації. При цьому організм тварини часто піддається заморожуванню і зневодненню. Для виживання в таких умовах - клітини організмів змінюють свою роботу.

Наприклад, деревні лісові жаби *Rana sylvatica* під час сезонної гібернації піддаються заморожуванню і зневодненню. При цьому Kiss A.J. з колегами (2011) встановили відмінності в сезонній роботі 33 білків в клітинах цих жаб. Зокрема, в клітинах печінки зимових жаб є багато білків теплового шоку, антиоксидантів і мало білків, задіяних в проліферації і т.п. (Kiss et al., 2011).

Поява партеногенезу як адаптація організмів до посух. Партеногенез - це один з типів розмноження організмів, при якому яйцеклітини розвиваються в дорослий організм без запліднення. Партеногенез зустрічається всього у близько 0,1% видів. Партеногенез найбільш поширений в певних екологічних нішах: високо в горах, у високих географічних широтах, в умовах посух, на островах. Досить часто партеногенез з'являється в Австралійській аридній зоні: ящірки, коники, палочники, багато рослин, що мешкають на цій території, перейшли до партеногенезу.

Дослідження, проведені Kearney M. з колегами (2006) показали, що партеногенез у австралійських коників *Warramaba virgo* і геконів *Heteronotia binoei* сформувався паралельно.

Цитологічний і алозимний аналізи дозволили встановити, що партеногенез з'явився в зв'язку з гібридизацією: *Warramaba virgo* є диплоїдним гібридом між двома видами, що розмножуються статевим шляхом, і живуть в посушливих регіонах Західної Австралії. А партеногенетична лінія *Heteronotia binoei* - є триплоїдним гібридом, який утворився в результаті схрещування між західними популяціями двох видів, що розмножуються статевим шляхом. Аналіз мітохондріальної ДНК показав, що серед партеногенетичних ліній і коників, і геконів - кожний раз з'являлося незалежно не менше двох партеногенетичних ліній в різних географічних регіонах посушливого поясу (Kearney et al., 2006).

Kearney M. і Blacket M.J. (2008) було встановлено, що поява партеногенезу у Австралійських коників відбулася в Пліо-Плейстоцені під час аридифікації біомів. Аналіз мітохондріальної ДНК показав, що приблизно 7 - 2 млн.р.т. з'явилися чотири основні сексуальні лінії коників. При цьому партеногенетичний вид *Warramaba virgo* - є гібридом (Kearney & Blacket, 2008).

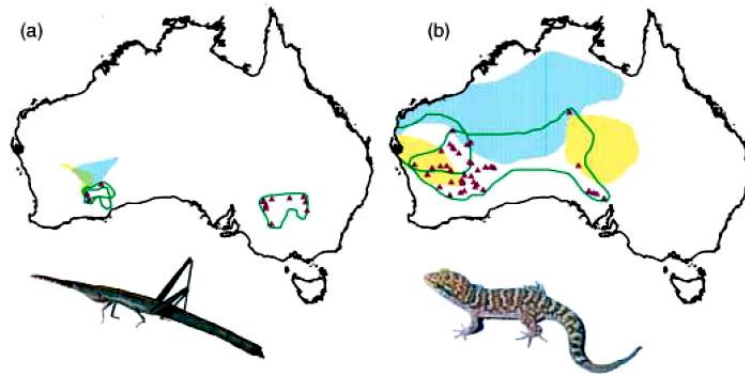


Рис. 8. Географічний розподіл партеногенетичних ліній і ліній, що розмножуються статевим шляхом для (a) коників (*Warramaba*) і (b) геконів (*Heteronotia*) на території Австралії. На карті статеві раси коників і геконів позначені синім і жовтим кольорами, відповідно. Поширення партеногенетичних ліній для коників і геконів показано темним і світло-зеленим контуром, відповідно. Трикутники вказують розподіл найбільш поширеного партеногенетичного гаплотипу в кожному роді (Kearney et al., 2006).

Kearney M. і Shine R. (2004) було проведено порівняння пластичності партеногенетичних і сексуальних ліній геконів Австралії при різних температурах вирощування нащадків (+24°C, +27°C і +30°C). Було виявлено, що в партеногенетичних лініях з'являється більша кількість аномальних нащадків, порівняно з лініями, які розмножуються статевим шляхом. Температура інкубації впливала на тривалість інкубаційного періоду, довжину хвоста, масу тіла по відношенню до маси яйця, швидкість бігу, швидкість росту і виживання дитинчат. При цьому фенотипічні ознаки партеногенетичних ящірок були менш чутливими до температури інкубації, ніж у випадку їх статевих родичів.

Таким чином, еволюція безстатевого розмноження у геконів змінила як середню життєздатність дитинчат (у партеногенетичних геконів вище відсоток аномального потомства), так і норми реакції, що зв'язують фенотип дитинчат з температурою інкубації: геном партеногенетичних геконів виявився менш пластичним, ніж геном геконів, що розмножуються статевим шляхом, зокрема, з точки зору фенотипічної адаптації до різних температур навколишнього середовища (Kearney & Shine, 2004).

Механізми появи у організмів здатності входити в стан ангідробіозу. На сьогоднішній день відомо досить багато видів тварин і рослин, здатних в несприятливих умовах посушливості навколишнього середовища входити в стан ангідробіозу. Але, не кожен організм здатний так радикально змінити своє функціонування. Як різні організми придбали здатність входити в стан ангідробіозу?

Здатність переживати практично повне зневоднення може бути пов'язана з дуплікацією і модифікацією власних генів організму. Личинки комахи сплячої хірономіди (*Polypedilum vanderplanki*), яка мешкає в суб-Сахарній Африці, в умовах нестачі зволоження здатні входити в стан ангідробіозу. При цьому вони практично повністю висихають і максимально відключають обмін речовин. Однак, при потраплянні в водне середовище - вони оживають.

У стані ангідробіозу ці личинки здатні переносити не тільки стрес посухи, але також високі і низькі температури, відсутність кисню, дію іонізуючого випромінювання та хімічний стрес. Дослідження показали, що ARIDs ділянка генома, яка активно експресується у личинок сплячої хірономіди в процесі входження в стан ангідробіозу, з'явилася у даного виду комах в результаті дуплікації і перекомпонування власних генів, задіяних у формуванні стійкості до стресу нестачі вологи (Sogame & Kikawada, 2017).

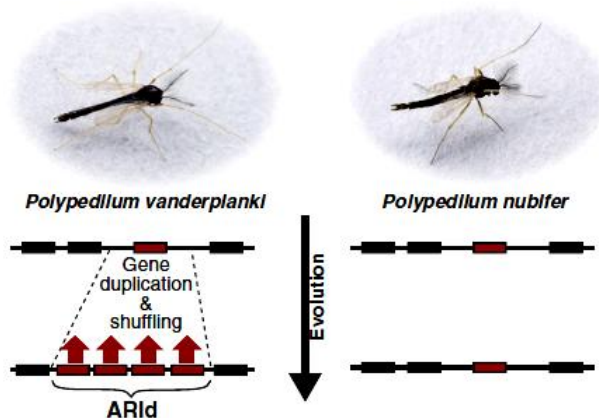


Рис. 9. На схемі представлений механізм еволюції ARIDs ділянки в геномі сплячої хірономіди (*Polypedilum vanderplanki*) в порівнянні з геномом комахи виду *Polypedilum nubifer*, чутливого до зневоднення організму. ARIDs - це ділянка генома, яка містить кластери дуплікованих генів, що є транскрипційно активними в процесі входу личинки комахи в стан ангідробіозу. Спочатку геном сплячої хірономіди не був здатним забезпечити входження личинок цієї комахи в стан ангідробіозу. Однак, в стресових умовах тривалих посух, геном піддався інтенсивним дуплікаціям і перестановкам структурних елементів, що дозволило різко підвищити стійкість організму до зневоднення (цитовано за Sogame & Kikawada, 2017).

Рослини *Boea hygrometrica*, які мешкають в гірських районах Китаю, також здатні «воскресати» після повного зневоднення організму. Хіао L. з колегами (2015) показали, що відмінності між рослинами, які здатні і нездатні «воскресати» полягають тільки в зміні регуляції роботи вже наявних генів (Хіао et al., 2015).

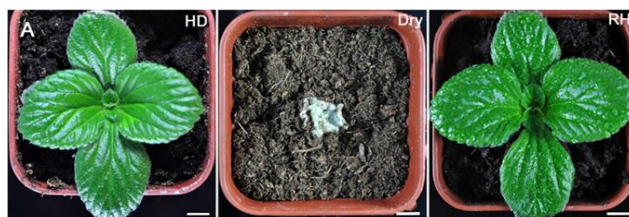


Рис. 10. Фенотип рослин *Boea hygrometrica*, що мешкають в гірських районах Китаю, в циклі зневоднення - регідратація. Де: HD - рослина до початку експерименту; Dry - рослина через два тижні повного зневоднення; RH - рослина через 48 годин після відновлення надходження води. NB! Аналіз активності генів показав відсутність особливих генів у рослин *Boea hygrometrica*, здатних «воскресати» після зневоднення. Автори роботи прийшли до висновку, що відмінності між рослинами, які здатні і нездатні «воскресати» полягають тільки в зміні регуляції роботи вже наявних генів (Хіао et al., 2015).

Здатність виживати після практично повного зневоднення організму може забезпечуватися частково або повністю за рахунок горизонтального перенесення генів стійкості від інших груп організмів. Наприклад, однією з відмінностей резистентного до зневоднення виду тихоходок *Ramazzottius varieornatus* від толерантного до зневоднення виду тихоходок *Hypsibius dujardini* - є горизонтальне перенесення гену біосинтезу трегалози. Дослідження, проведені Yoshida Y. з колегами (2017), показали, що загальний предок всіх тихоходок втратив ген, необхідний для біосинтезу трегалози. Однак, після відділення лінії *Ramazzottius varieornatus* - особини цього виду придбали заново ген біосинтезу трегалози за рахунок його горизонтального перенесення вірусами від інших організмів (Yoshida et al., 2017).

*NB! Молекули трегалози підтримують структуру макромолекул клітини (білків, РНК, ДНК і т.н.) в умовах зневоднення, що захищає макромолекули від пошкодження (від злипання їх структурних елементів).

Коловертки - це мікроскопічні водні безхребетні тварини, які здатні переносити практично повне зневоднення на будь-якій життєвій стадії. Boschetti С. з колегами (2011) досліджували, які гени активуються у коловерток *Adineta ricciae* через 24 години після зневоднення. Вченими була виявлена активація генів внутрішньо неупорядкованих білків, а також інших стресових генів і генів репарації ДНК. Крім того, були виявлені чотири послідовності, отримані коловертками шляхом горизонтального перенесення генів від грибів або бактерій. І ці послідовності коловертки активували в умовах стресу зневоднення (Boschetti et al., 2011).

*NB! Внутрішньо неупорядковані білки за умови нестачі води підтримують структуру макромолекул клітини, як і цукор трегалоза.



Рис. 11. Коловертка *Adineta ricciae* (за https://en.wikipedia.org/wiki/Adineta_ricciae).

Рослина *Craterostigma plantagineum* здатна оживати після втрати 96% води організму. Дослідження, проведені Furini А. (2008), показали, що гіперстійкість рослин даного виду до зневоднення пов'язана з підселенням і розмноженням одомашненого вірусу (ретротранспозону) CDT-1. Цей ретротранспозон в умовах нестачі вологи активує гени, що відповідають за стійкість організму до зневоднення (Furini, 2008).

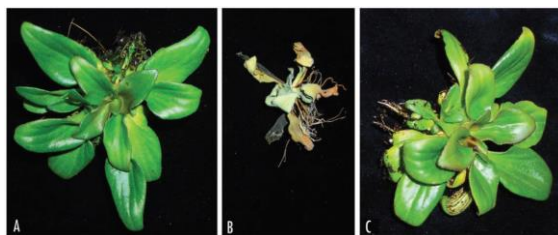


Рис. 12. Цикл зневоднення - регідратації у рослини *Craterostigma plantagineum*. Де: А - контрольне зволоження рослини; В - повне 96% зневоднення рослини; С – «воскресіння» рослини після відновлення надходження води вже через кілька годин. Можлива причина здатності рослин кратеростігми до «воскресіння» після повного зневоднення - активність ретротранспозону CDT-1. Автор дослідження припустив, що РНК-транскрипти цього ретротранспозону знімають репресори з генів, які забезпечують включення програми «воскресіння» рослини після повного зневоднення (Furini, 2008).

Однак, вбудовування одомашених вірусів в геном організму може супроводжуватися і зниженням рівня його стійкості до посухи. Так, після одомашнення кукурудзи - в її геном вбудувався вірус, який потім був одомашений (транспозон). При цьому вбудовування відбулося в ген, активність якого пов'язана з формуванням стійкості кукурудзи до стресових умов. В результаті, вбудовування цього одомашненого вірусу знизило природну стійкість рослин кукурудзи до посухи (Мао et al., 2015).

2.2. Практична робота

Завдання 1. Синтез органічних осмолітів і внутрішньо-неупорядкованих білків захищає клітини в умовах нестачі вологи в навколишньому середовищі. Відомо, що навколо кожної макромолекули в клітині формується кілька шарів молекул води, які захищають макромолекули від злипання їх внутрішніх частин і від злипання макромолекул

між собою. При нестачі води в навколишньому середовищі в клітинах починають накопичуватися браковані молекули, внаслідок порушення їх структури через злипання їх структурних елементів. А при певному рівні накопичення пошкоджених молекул – в клітинах включається програма на самознищення.

Організми значно відрізняються один від одного по стійкості до нестачі вологи в навколишньому середовищі. Проведені дослідження показали, що найважливішим механізмом самозахисту клітин від нестачі вологи - є синтез молекул органічних осмолітів (наприклад, цукру трегалози) і внутрішньо неупорядкованих білків (або т.зв. білків пізнього ембріогенезу). Ці молекули зв'язуються з макромолекулами клітини і в умовах нестачі води захищають їх від склеювання.

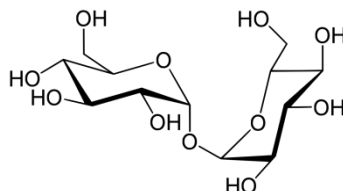


Рис. 1. Структурна формула молекули цукру трегалози (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Органічний осмоліт трегалоза захищає клітини круглих черв'яків при майже повному зневодненні організму. Erkut С. з колегами (2011) показали, що при нестачі води в навколишньому середовищі личинки круглого хробака *Caenorhabditis elegans* здатні входити в стан ангідробіозу: навіть при втраті 98% води - ці личинки здатні оживати в умовах нормального зволоження навколишнього середовища. Авторами роботи було встановлено, що виявлена здатність личинок черв'яків входити в стан ангідробіозу корелювала зі значним зростанням концентрації молекул осмоліта трегалози в клітинах личинок черв'яків. Мутантна лінія черв'яків, не здатна синтезувати цукор трегалозу (лінія $\Delta\Delta tps$), виявилася не здатною вижити навіть в умовах помірної нестачі води в організмі. Результати мікроскопічних досліджень показали, що основна функція трегалози - збереження структури клітинних мембран (Erkut et al., 2011).

*NB! У своєму життєвому циклі круглий хробак *C. elegans* перш ніж стати дорослим проходить чотири стадії личинки. При несприятливих умовах навколишнього середовища він входить в альтернативну личиночну стадію, відому як дауер. Личинка дауер не харчується, має змінений енергетичний обмін і підвищену стійкість до різноманітних стресів.

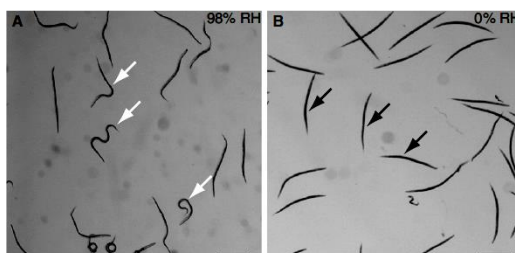


Рис. 2. Вживання личинок круглих черв'яків *C. elegans* після зневоднення. Де: А - личинки хробаків, що вижили (вказано білими стрілками) (в умовах нестачі вологи живі личинки згортаються); рівень відносної вологості середовища 98%; В - загіблі личинки хробаків (вказано чорними стрілками); рівень відносної вологості середовища 0% (Erkut et al., 2011).

Erkut С. з колегами (2011) в своєму дослідженні використовували мутантні лінії круглих черв'яків *daf-2* і *daf-7*, які при температурі +25°C формують 100% личинок дауер. Крім того, вченими була отримана двічі мутантна лінія, яка при +25°C дає личинок дауер і яка не здатна синтезувати цукор трегалозу (лінія *daf-2;ΔΔ tps*). Результати проведених досліджень представлені на рисунках 2-4 (Erkut et al., 2011).

1) Використовуючи дані рисунка 3, вкажіть: вихідний рівень синтезу цукру трегалози в клітинах личинок черв'яків лінії *daf-2* _____, рівень синтезу трегалози в клітинах личинок, які не пройшли переадаптації протягом 4 днів при відносній вологості середовища

98% _____ і в клітинах личинок, які таку переадаптацію пройшли _____.

2) Яку роль виконує цукор трегалоза в клітинах при нестачі вологи в навколишньому середовищі? _____

3) Поясніть, чому після переадаптації личинок черв'яків протягом 4 днів в умовах 98% відносної вологості середовища - в їх клітинах різко підвищився рівень синтезу трегалози? _____

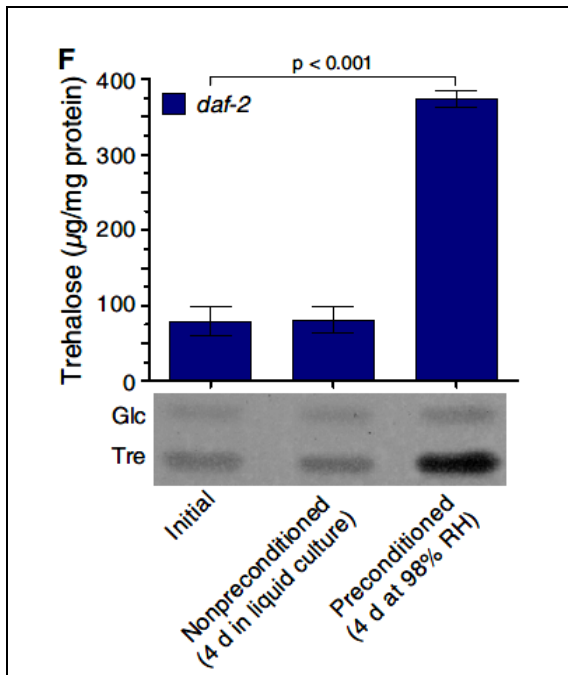


Рис. 3. Рівень синтезу трегалози мутантною лінією *daf-2* личинок черв'яків в умовах стресу зневоднення. Де: по осі ОУ - концентрація трегалози в клітинах, мкг/мг протеїну, (Trehalose, mkg/mg protein); Initial - вихідний рівень трегалози в клітинах; Nonpreconditioned (4 d in liquid culture) рівень трегалози в клітинах личинок черв'яків, які не пройшли переадаптації (4 дня в умовах водного середовища); Preconditioned (4 d at 98% RH) - рівень трегалози в клітинах личинок черв'яків, які пройшли переадаптацію (4 д в умовах 98% відносної вологості середовища); Tre - трегалоза; Glc - глюкоза (контроль) (Erkut et al., 2011).

4) Використовуючи дані рисунка 4, вкажіть, при яких значеннях відносної вологості середовища виживання личинок круглих черв'яків падає до нуля в варіантах без попередньої обробки (тобто без переадаптації личинок в умовах 98% відносної вологості середовища на протязі 4 днів; пунктирні лінії на графіку) _____ і в варіантах з переадаптацією: для лінії *daf-2* _____ і для лінії *daf-2;ΔΔtps* _____.

5) У лінії *daf-2* навіть при 0% відносної вологості середовища рівень життєздатності личинок після переадаптації - не падає до нуля. Про що це свідчить? _____

6) У лінії *daf-2* після 4 денної переадаптації навіть в умовах 21% відносної вологості середовища рівень виживання личинок становив близько 100%. Як переадаптація в середовищі з 98% вологістю могла підвищити стійкість личинок до 21% вологості середовища? _____

7) У чому полягають відмінності між личинками черв'яків ліній *daf-2* і *daf-2;ΔΔtps*? _____

8) Чому у личинок лінії *daf-2;ΔΔtps* після 4 денної переадаптації тільки 5% личинок виживало в середовищі з відносною вологістю 60%? _____

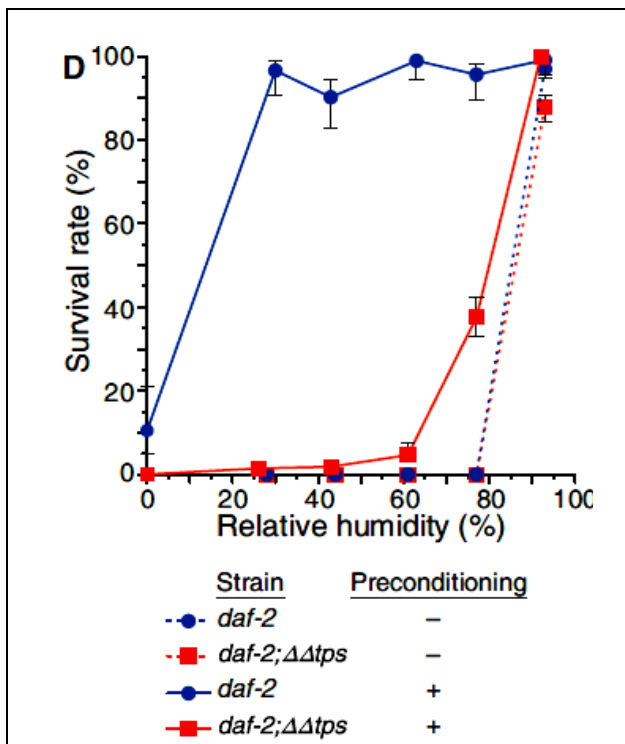


Рис. 4. Вплив попередньої адаптації і рівня трегалози в клітинах на виживання личинок круглих черв'яків після зневоднення. Де: блакитна лінія - мутантна лінія черв'яків *daf-2*; червона лінія - мутантна лінія черв'яків *daf-2;ΔΔtps*; пунктирні лінії - не передадаптовані личинки (nonpreconditioned); суцільні лінії - передадаптовані личинки (preconditioned) (Erkut et al., 2011).

9) Які ще механізми самозахисту клітин від нестачі вологи Вам відомі, крім синтезу осмолітів (зокрема, трегалози)? _____

10) Як Ви вважаєте, чому у мутантній лінії *daf-2;ΔΔtps*, нездатної синтезувати трегалозу, після 4 днів передадаптації в умовах 98% відносної вологості середовища, рівень стійкості до нестачі вологи усе-таки дещо підвищився? _____

Завдання 2. Стійкість організмів до зневоднення забезпечують внутрішньо неупорядковані білки (або білки пізнього ембріогенезу). Багато організмів в умовах нестачі вологи здатні входити в стан ангідробіозу - стан глибокої сплячки при практично повній втраті води клітинами. При цьому макромолекули клітин захищають від склеювання і пошкодження органічні осмоліти (наприклад, цукор трегалоза) і маленькі білки з внутрішньо неупорядкованою структурою або т.зв. білки, численні в пізньому ембріогенезі (Late Embryogenesis Abundant proteins, LEA proteins).

В умовах звичайного рівня зволоження - білки даної групи не мають впорядкованої структури (і, тому, одна з назв даної групи білків - білки з внутрішньо неупорядкованою структурою). Однак, при зниженні вмісту води в навколишньому середовищі - ці білки набувають впорядковану структуру і здатні захищати клітинні макромолекули від пошкоджень.

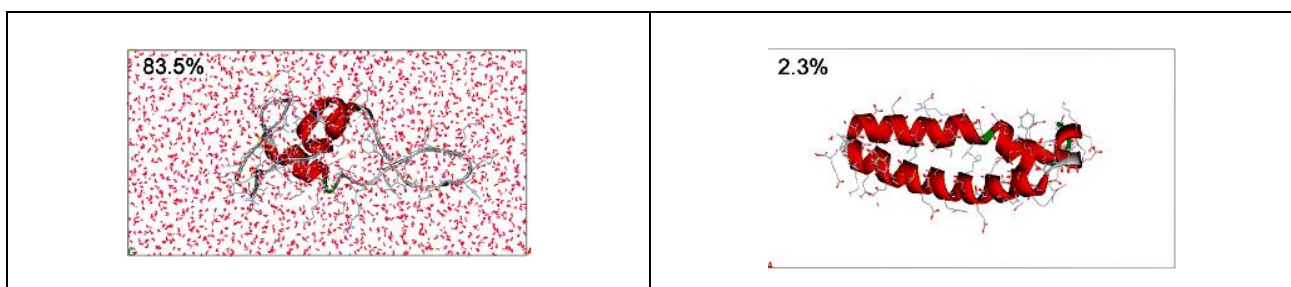


Рис. 5. Структура білка пізнього ембріогенезу (т.зв. LEA protein) в середовищах з різним вмістом води. У середовищі з рівнем води 83,5% більша частина поліпептидного ланцюга

даного білка не має впорядкованої структури, тоді як в середовищі з 2,3% води - даний білок набуває структуру і формує дві альфа-спіралі (вказано на схемі червоними стрічками) (Li & He, 2009).

Тихоходки (*Tardigrada*) - це мікроскопічні тварини, які спроможні виживати в умовах дії сильних стресів і, зокрема, в умовах сильного зневоднення організму. У несприятливих умовах вони впадають в стан ангідробіозу. При цьому обмін речовин у них знижується до 0,01%, а вміст води в організмі здатний доходити до 1% від нормального.

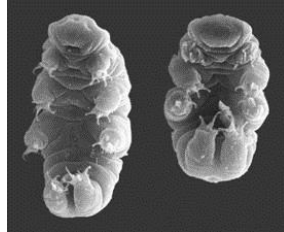


Рис. 6. Тихоходки. Довжина тіла 200 мкм (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Тривалий час залишалося незрозумілим, за рахунок якого механізму тихоходки спроможні виживати при майже повному зневодненні організму, оскільки багато хто з них взагалі не синтезують цукор трегалозу, який, як відомо, захищає клітинні макромолекули від склеювання при нестачі води.

Boothby T.C. з колегами (2017) було встановлено, що стійкість до зневоднення в клітинах тихоходок забезпечують внутрішньо неупорядковані білки, специфічні для тихоходок. Гени цих білків або конститутивно (тобто постійно) експресуються в клітинах тихоходок, або робота цих генів активується в умовах нестачі вологи. Внутрішньо неупорядковані білки формують склоподібний матрикс навколо клітинних структур, захищаючи їх від пошкоджень (Boothby et al., 2017).

Дослідження авторів роботи показали, що при різкому зневодненні організму - тихоходки гинуть. Їм потрібний час для поступового входу в стан ангідробіозу. При цьому, чим вище рівень конститутивної експресії внутрішньо неупорядкованих білків - тим вище рівень виживання особин при швидкому зневодненні організму.

Результати досліджень, проведених Boothby T.C. з колегами (2017) наведені на рисунку 7 (Boothby et al., 2017).

1) Використовуючи дані, наведені на рисунку 7, вкажіть, зневоднення при якій відносній вологості навколишнього середовища різко знижує життєздатність тихоходок видів: *Hypsibius dujardini* _____, *Paramacrobiotus richtersi* _____ і *Milnesium tardigradum* _____.

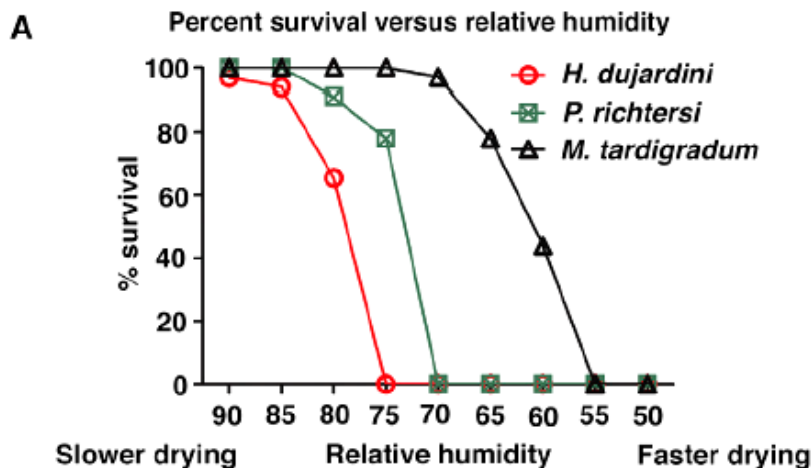


Рис. 7. Вплив швидкості зневоднення тихоходок трьох різних видів: *Hypsibius dujardini* (червона лінія), *Paramacrobiotus richtersi* (зелена лінія) і *Milnesium tardigradum* (чорна лінія)

на їх виживання після повернення в умови нормального зволоження. Де: по осі ОУ - відсоток особин, що вижили, (% survival); Percent survival versus relative humidity - відсоток особин, що вижили в залежності від відносного зволоження навколишнього середовища при вході організму в стан ангідробіозу; Slower drying - повільне висихання; Faster drying - швидке висихання; Relative humidity - відносна вологість (Boothby et al., 2017).

2) Якщо зневоднення тихоходок відбувається при високому рівні відносної вологості навколишнього середовища - то процес йде повільно, а якщо при низькому рівні відносної вологості повітря - то процес зневоднення відбувається швидко. Як Ви думаєте, чому тихоходки виду *Milnesium tardigradum* здатні витримувати швидке зневоднення організму, а тихоходки виду *Hypsibius dujardini* – ні? Для чого тихоходкам виду *Hypsibius dujardini* потрібний час? _____

*NB! Подальші дослідження показали, що у тихоходок виду *Milnesium tardigradum* найбільш високий рівень конститувної (постійної) експресії генів внутрішньо неупорядкованих білків у порівнянні з двома іншими видами тихоходок, які вивчалися в даній роботі. Це дозволяє тихоходкам *Milnesium tardigradum* швидше входити в стан ангідробіозу.

Завдання 3. Організму потрібний час для підготовки до входу в стан ангідробіозу.

На сьогоднішній день відомий величезний репертуар захисних молекул, які синтезують організми в стресових умовах середовища проживання. Однак, для ефективного захисту від несприятливих умов - стрес повинен наростати відносно повільно, для того, щоб організм встиг включити програму самозахисту.

При стресі зневоднення, крім синтезу органічних осмолітів і внутрішньо неупорядкованих білків, клітини включають програму синтезу інших захисних молекул: білків теплового шоку, антиоксидантних ензимів, білків, задіяних в репарації ДНК і т.н. Білки теплового шоку захищають клітинні макромолекули не тільки при тепловому стресі, але і при стресі будь-якої природи. Ці білки запобігають агрегації клітинних макромолекул і їх денатурації (втрати структури), а також сприяють правильній упаковці білків, у яких порушилася внутрішня структура.

Крім того, стрес будь-якої природи супроводжується синтезом в клітинах т.зв. реактивних форм кисню: в невеликих концентраціях - це сигнальні молекули, які активують в клітинах захисні механізми, проте, у великих концентраціях - ці вільно-радикальні структури пошкоджують в клітинах білки, ДНК, РНК ліпіди і т.н. Тому, в умовах стресу клітини всіх організмів починають посиленій синтез антиоксидантних ензимів - білків, здатних нейтралізувати шкідливу дію реактивних форм кисню.

Комахи сплячі хірономіди мешкають в суб-Сахарній Африці і піддаються дії тривалих сезонних посух. Личинки цієї комахи на початку несприятливого сезону здатні входити в стан ангідробіозу. Однак, для ефективного входу в ангідробіоз личинкам необхідно не менше 48 годин поступового зневоднення. Якщо це правило не дотримується, то після відновлення нормальних умов зволоження навколишнього середовища - личинки не оживають.

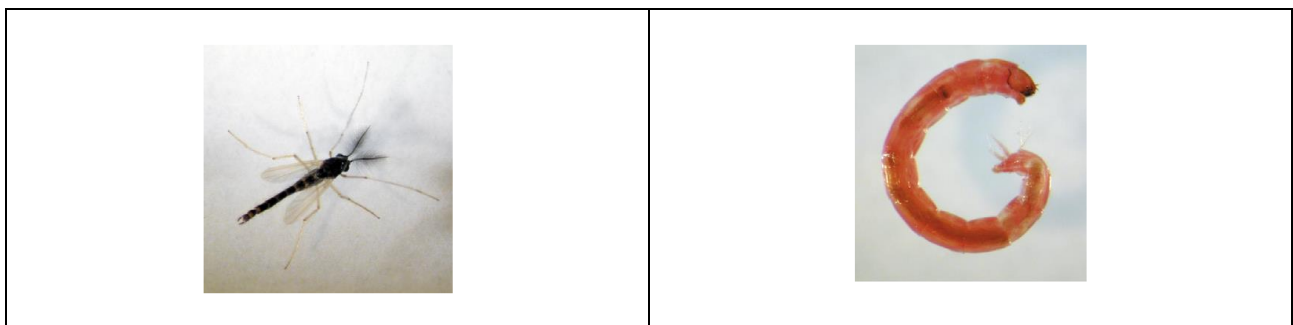


Рис. 8. Доросла комаха і личинка сплячої хірономіди (за Sogame & Kikawada, 2017).

Результати дослідження розгортання програми самозахисту під час входження личинок сплячої хірономіди в ангідробіоз наведені на рисунках 9-11 (цитовано за Cornette & Kikawada, 2011).

1) Використовуючи дані рисунка 9, вкажіть рівень вмісту трегалози в клітинах личинок сплячої хірономіди: на момент початку зневоднення організму _____ і через 48 годин після початку зневоднення організму _____.

2) Чому при зневодненні організму клітини починають синтезувати цукор трегалозу? _____

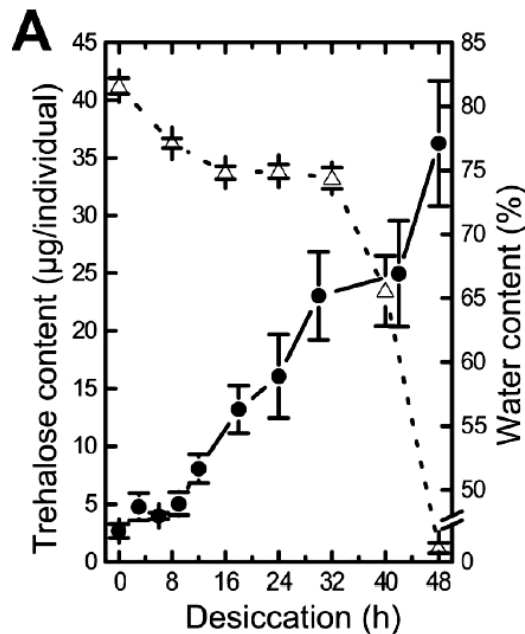


Рис. 9. Залежність вмісту цукру трегалози в клітинах личинки сплячої хірономіди від тривалості періоду поступового зневоднення організму. Де: по осі ОУ - ліва шкала: вміст трегалози в клітинах личинки, мкг на особину (Trehalose content, mkg/individual); по осі ОУ - права шкала: вміст води в клітинах, % (Water content,%); по осі ОХ - тривалість періоду зневоднення личинки, години (Desiccation, h) (цитовано за Cornette & Kikawada, 2011).

3) Використовуючи дані рисунка 10, вкажіть через який проміжок часу після початку зневоднення личинки сплячої хірономіди в її клітинах активується робота генів захисних білків теплового шоку Pv-hsc90 _____, Pv-hsc70 _____, Pv-hsp70 _____, Pv-hsp20 _____ Pv-p23 _____?

4) Через який проміжок часу після початку зневоднення личинки інтенсивність роботи генів захисних білків теплового шоку досягає свого максимуму: Pv-hsc90 _____, Pv-hsc70 _____, Pv-hsp70 _____, Pv-hsp20 _____ Pv-p23 _____?

5) Скільки часу необхідно клітинам личинки сплячої хірономіди для накопичення достатньої кількості захисних білків теплового шоку _____.

6) Чому в умовах стресу зневоднення в клітинах личинки сплячої хірономіди активується синтез білків теплового шоку? _____

7) Використовуючи дані рисунка 11, вкажіть рівень активності антиоксидантних ензимів: на момент початку зневоднення личинок сплячої хірономіди _____ і через 48 годин після початку зневоднення _____.

8) Чому в умовах стресу зневоднення в клітинах личинок сплячої хірономіди активується синтез антиоксидантних ензимів? _____

9) Чому личинкам необхідно 48 годин для входу в ангідробіоз? _____

10) Чому, якщо зневоднення личинки відбувається швидше, ніж за 48 годин, то личинки не виживають після відновлення нормальних умов зволоження навколишнього середовища?

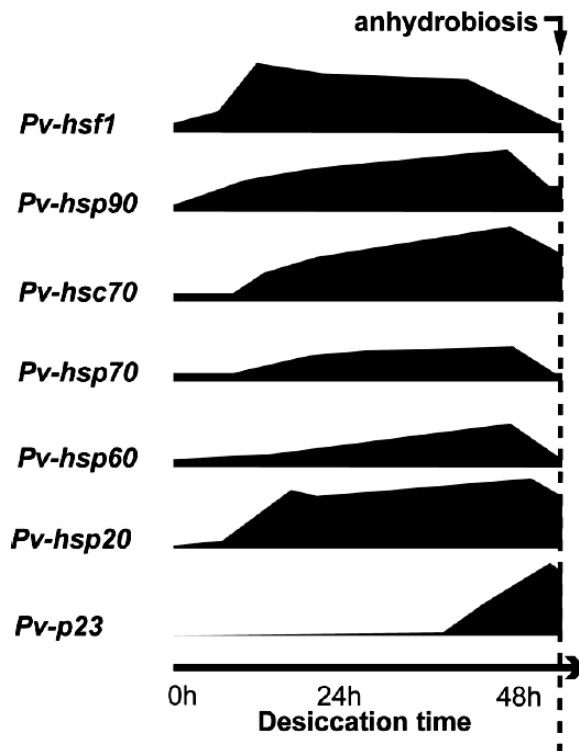


Рис. 10. Зміни експресії генів захисних білків теплового шоку під час підготовки личинки сплячої хірономіди до ангідробіозу. Де: по осі ОУ - гени захисних білків, експресія яких активується в клітинах личинок сплячої хірономіди в перші 48 годин від початку зневоднення: Pv-hsf1, Pv-hsp90, Pv-hsc70, Pv-hsp70, Pv-hsp60, Pv-hsp20, Pv-p23; по осі ОХ - тривалість процесу зневоднення личинок сплячої хірономіди перед вступом в ангідробіоз, години (Desiccation time, h); anhydrobiosis - вхід личинки в стан ангідробіозу (цитовано за Cornette & Kikawada, 2011).

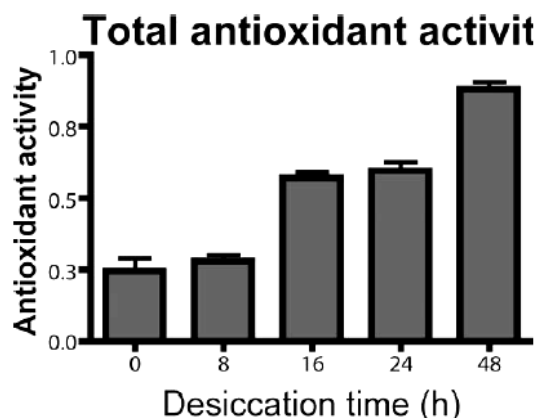
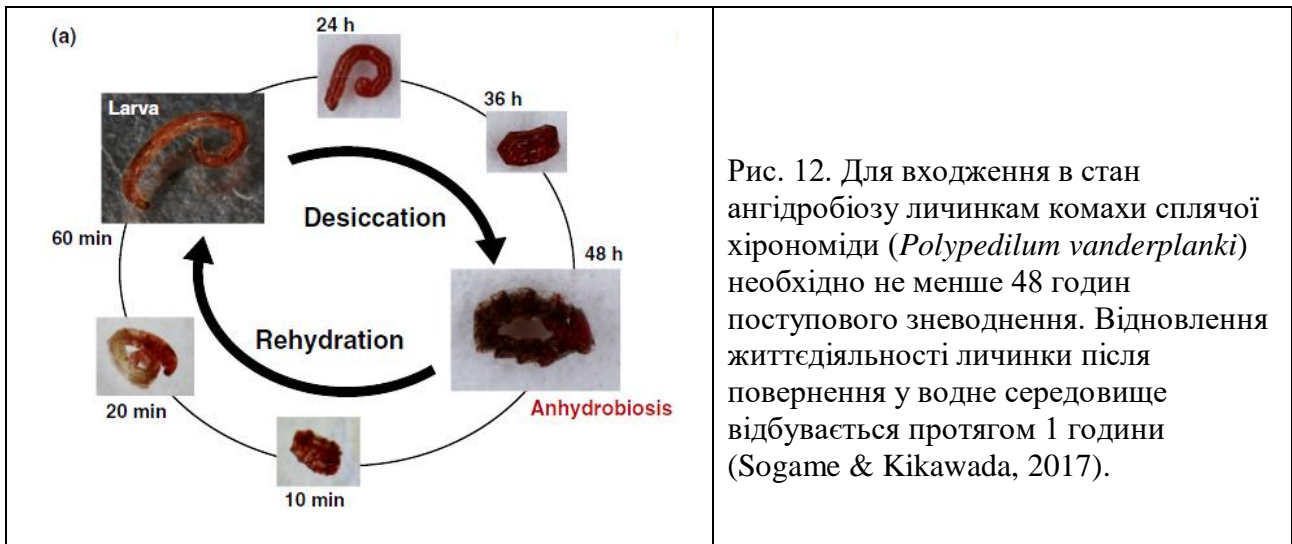


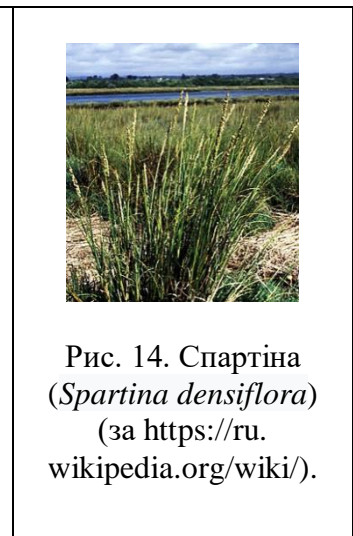
Рис. 11. Залежність рівня активності антиоксидантних ензимів від тривалості періоду поступового зневоднення личинок сплячої хірономіди. Де: по осі ОУ - активність антиоксидантних ензимів, (Antioxidant activity); по осі ОХ - тривалість періоду зневоднення личинки, години (Desiccation time, h) (цитовано за Cornette & Kikawada, 2011).



Завдання 4. Роль екосистемних взаємин у виживанні організмів в умовах нестачі води. Angelini С. з колегами (2016) тестували гіпотезу існування в умовах посух в засоленій підтопленій прибережній екосистемі (salt marshes) мутуалістичних взаємин між мідіями і спартіною (багаторічною трав'янистою рослиною родини злакові, cord-grass, - домінуючий тип рослинності в засолених прибережних болотах).

Проведені обстеження охоплювали 250 км південно-східної берегової лінії США і показали, що просторово розосереджені поселення мідій збільшували виживаність рослин спартіни під час сильної посухи в 5-25 разів. Експериментальні дослідження по введенню мідій в екосистему показали, що позитивний вплив мідій на рослини спартіни був пов'язаний з тим, що поселення мідій збільшували запаси води в ґрунтах і зменшували стрес засолення ґрунтів.

Після посух виживали, як правило, ділянки, на яких поруч з травною спартіною оселялися мідії. Ці ділянки після завершення посухи були в свою чергу центрами, з яких йшло відновлення росту спартіни по всій території засоленого прибережного болота, що помітно скорочувало час відновлення екосистеми. Отримані дані свідчать про те, що мутуалістичні взаємини на ділянках екосистем, стійких до дії стресорів, можуть відігравати ключову роль у посиленні стійкості екосистем до екстремальних умов навколишнього середовища (Angelini et al., 2016).



Результати дослідження взаємовідносин між мідіями і травною спартіною в екосистемах прибережних засолених боліт в умовах посух наведені на рисунках 13,15-17 (Angelini et al., 2016).

1) Використовуючи дані рисунка 15 Д, вкажіть рівень виживання рослин спартіни в умовах посух при рості даної трави без асоціації з мідіями (вкажіть інтервал виживання в частках

одиниці) _____ і в асоціації з мідіями (вказіть інтервал виживання в частках одиниці)

2) Використовуючи дані рисунка 16, вкажіть вміст води в ґрунтах на територіях без підселення мідій _____ і на територіях з підселенням мідій _____.

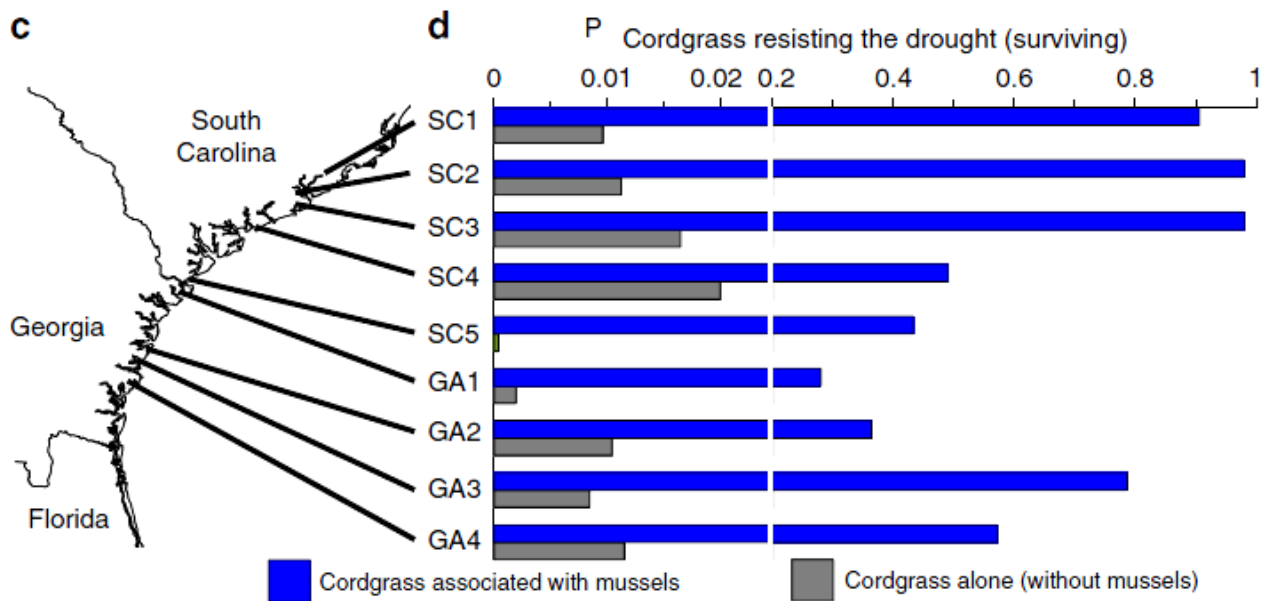


Рис. 15. С. На схемі вказані ділянки узбережжя США, на яких проводилося дослідження впливу мідій на виживання трави спартіни в умовах посухи в екосистемах засолених прибережних боліт (salt marshes). Д. Рівень виживання рослин спартіни в умовах посухи при наявності або відсутності поселень мідій на території засоленого прибережного болота. Де: по осі ОУ - обстежені ділянки узбережжя; по осі ОХ - рівень виживання рослин спартіни в умовах посухи, в частках одиниці (Cordgrass resisting the drought, surviving); сірі стовпчики гістограм - рослини спартіни без асоціації з мідіями (Cordgrass alone, without mussels); блакитні стовпчики гістограм - рослини спартіни, які ростуть в асоціації з поселеннями мідій (Cordgrass associated with mussels) (Angelini et al., 2016).

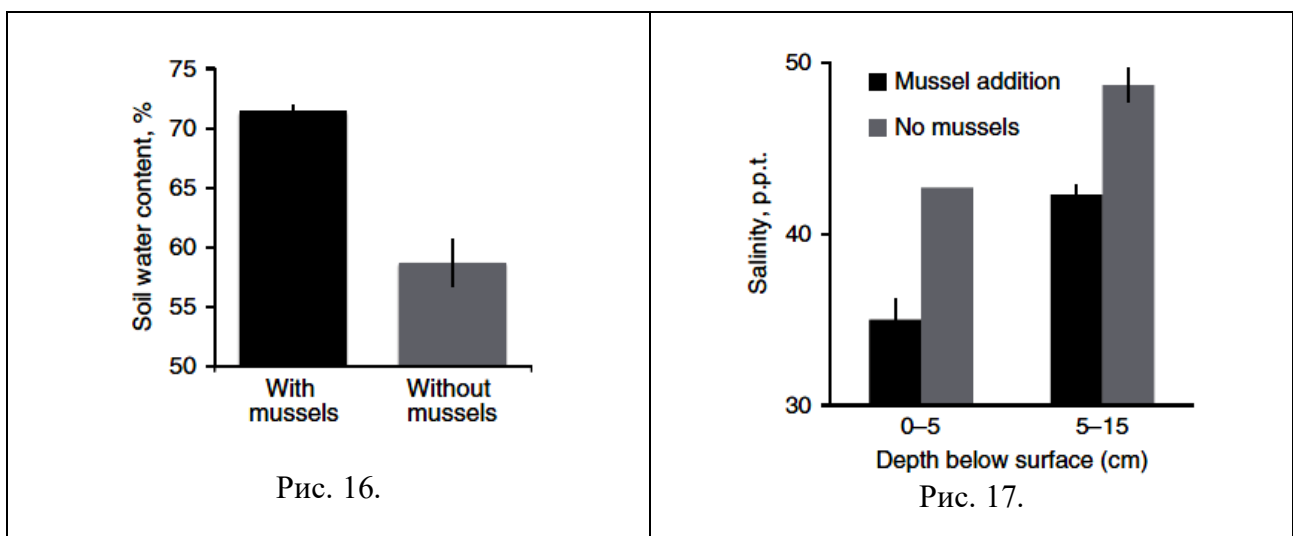


Рис. 16. Вміст води в ґрунті прибережних засолених боліт при поселенні мідій (With mussels) і без поселень мідій (Without mussels). Де: по осі ОУ - вміст води в ґрунті, % (Soil water content, %) (Angelini et al., 2016).

Рис. 17. Вплив експериментального підселення мідій на рівень солоності ґрунту в прибережних засолених болотах. Де: по осі ОУ - рівень солоності ґрунту, (Salinity, p.p.t.); по осі ОХ - глибина ґрунтового горизонту, см (Depth below surface, cm); сірі стовпчики

гістограм - до підселення мідій (No mussels); чорні стовпчики гістограм - після підселення мідій (Mussel addition). Експериментальне підселення мідій знижує рівень засоленості ґрунтів в кореновому горизонті трави спартіни (Angelini et al., 2016).

3) Використовуючи дані рисунка 17, вкажіть рівень засолення ґрунтів в кореневій зоні трави спартіни (на глибині 5-15 см) до підселення мідій _____ і після підселення мідій _____.

4) На підставі отриманих даних зробіть висновок про те, чому підселення мідій захищає траву спартіну від посухи? _____

Завдання 5. Вплив біорізноманіття екосистем на їх стійкість до посухи. Isbell F. з колегами (2015) використовували результати 46 експериментів, в ході яких проводилися маніпуляції з різноманітністю трав'янистих співтовариств, для того, щоб перевірити, чи забезпечує різноманітність спільнот їх стійкість до кліматичних подій. В результаті проведених досліджень авторами роботи було показано, що біорізноманіття підвищує стійкість екосистем до будь-яких типів кліматичних змін, включаючи посухи.

Отримані дані дозволяють зробити висновок про те, що антропогенні зміни в навколишньому середовищі, які призводять до втрати біорізноманіття, знижують стабільність екосистем; тоді як високий рівень біорізноманіття екосистем збільшує їх стійкість до кліматичних змін (Isbell et al., 2015).

Результати проведених Isbell F. з колегами (2015) досліджень наведені на рисунку 18.

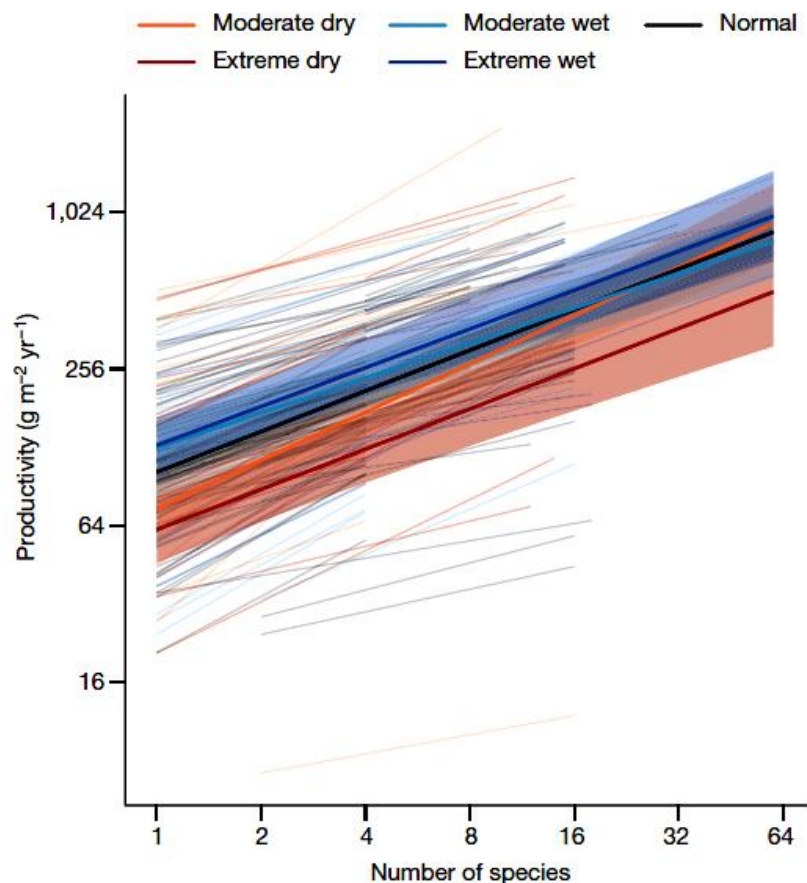


Рис. 18. Залежність продуктивності екосистеми від її біорізноманіття в умовах зміни клімату. Де: по осі ОУ - рівень біопродуктивності екосистеми, (Productivity, g/m²yr); по осі ОХ - кількість видів, що населяють екосистему, (Number of species); Moderate dry - помірно посушливі умови; Extreme dry - екстремально посушливі умови; Moderate wet - умови помірного зволоження; Extreme wet - умови екстремального зволоження; Normal - звичайні умови (Isbell et al., 2015).

- 1) Використовуючи дані, наведені на рисунку 18, вкажіть продуктивність екстремально посушливої екосистеми, за умови проживання в ній одного виду організмів _____ і при проживанні в ній 16 видів організмів _____.
- 2) Чому збільшення кількості видів, які проживають на території екосистеми, призводить до різкого збільшення біопродуктивності екосистеми? _____

- 3) До яких наслідків може привести антропогенне зниження біорізноманіття екосистем? _____

Завдання 6. Адаптація організмів до сезонних змін зволоженості, основана на онтогенетичній пластичності організмів. Сезонні зміни в рівні вологості впливають на рівень стійкості мух дрозофіл до зневоднення. Мухи *Drosophila leontia* живуть у вологих екваторіальних тропіках і під час сезону дощів є дуже чутливими до зневоднення. Однак, в субтропіках під час осіннього посушливого сезону - нормально переносять нестачу води. Parkash R. і Ranga P. (2014) було показано, що якщо личинки мух *Drosophila leontia* піддаються дії умов нестачі води - то і дорослі мухи потім виявляються більш стійкими до посух. При цьому у стійких мух відзначені зміни в кількості кутикулярних ліпідів, уповільнення втрати вологи тілом, запасання крабогідратів і т.н. (Parkash & Ranga, 2014).

Результати досліджень Parkash R. і Ranga P. (2014) наведені на рисунках 19-21.

- 1) Використовуючи дані рисунка 19, вкажіть, через скільки годин зневоднення рівень виживання мух падає до нуля, якщо їх личинки розвивалися при відносній вологості середовища 85% для личинок, що сформувалися в сезон дощів, _____ і для личинок, що сформувалися в осінній сезон посух: _____.
- 2) Чи вплинув суттєво сезон проведення експерименту (сезон дощів - осінній сезон посух) на результати цього експерименту? _____.
- 3) Через скільки годин зневоднення рівень виживання мух падає до нуля, якщо їх личинки розвивалися при відносній вологості середовища 35% для личинок, що сформувалися в сезон дощів, _____ і для личинок, що сформувалися в осінній сезон посух: _____.
- 4) Чи вплинув суттєво сезон проведення експерименту (сезон дощів - осінній сезон посух) на результати цього експерименту? _____.
- 5) Як Ви вважаєте, чому дорослі мухи, личинки яких розвивалися при відносній вологості 35%, виявилися більш стійкими до зневоднення, в порівнянні з мухами, личинки яких розвивалися при відносній вологості 85%? _____

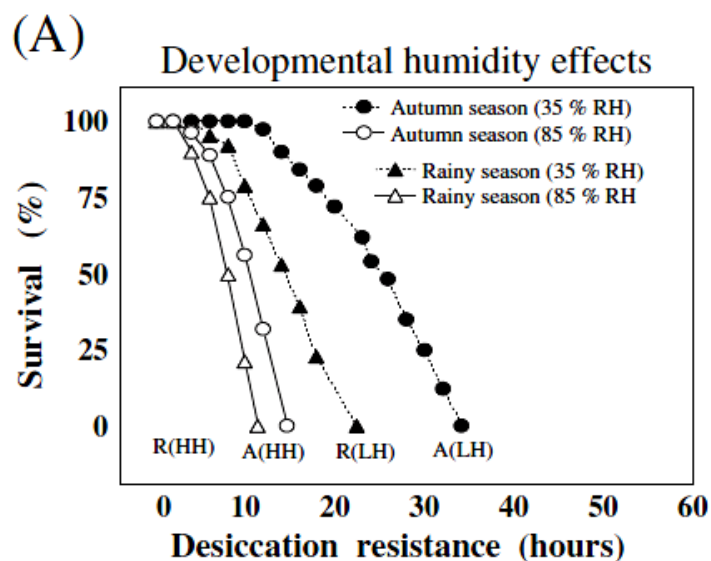


Рис. 19. Вплив умов зволоження під час розвитку личинок на стійкість дорослих мух *Drosophila leontia* до зневоднення. Де: по осі ОУ - % виживання особин, % (Survival,%); по

осі ОХ - стійкість особин до зневоднення, години (Desiccation resistance, hours); Rainy season - сезон дощів; Autumn season - осінній сезон посух; 85% RH, 35% RH - рівень відносної вологості навколишнього середовища, % (Parkash & Ranga, 2014).

6) Сезон проведення експерименту (дощовий сезон - сезон осінніх посух) істотно вплинув на стійкість мух до зневоднення при вирощуванні личинок при відносній вологості 35%, але не 85%. Як Ви думаєте, які ще фактори, крім рівня відносної вологості, при якій розвивалися личинки, могли вплинути на стійкість дорослих мух до зневоднення? _____

7) Для перевірки можливого впливу температури навколишнього середовища під час розвитку личинок на стійкість дорослих мух до зневоднення, автори роботи проводили вирощування личинок при двох різних температурах +18°C і +26°C в сезон дощів і в сезон осінніх посух. Використовуючи дані рисунка 20, вкажіть через скільки годин зневоднення виживання мух впало до нуля при температурі навколишнього середовища +18°C під час сезону дощів _____ і під час сезону осінніх посух _____. Через скільки годин зневоднення виживання мух впало до нуля при температурі вирощування личинок +26°C під час сезону дощів _____ і під час сезону осінніх посух _____.

8) Чи вплинула температура, при якій розвивалися личинки, на їх стійкість до зневоднення? _____

9) Чому мухи, личинки яких розвиваються восени в сезон посух, при однаковій вологості і температурі розвитку, дають дорослих мух, які є більш стійкими до зневоднення, ніж мухи, личинки яких розвиваються в сезон дощів? (Для відповіді на це питання згадайте про сезонні біологічні годинники організмів) _____

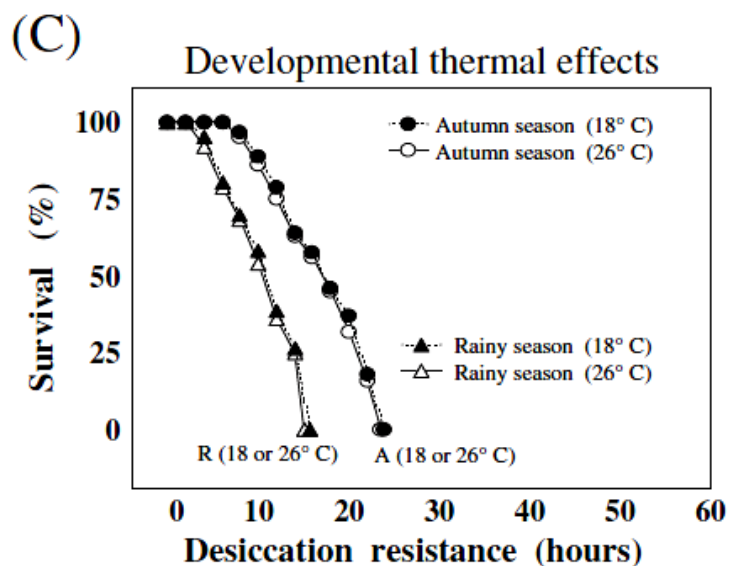


Рис. 20. Вплив температури, при якій відбувається розвиток личинок, на стійкість дорослих мух до умов зневоднення. Де: по осі ОУ - % виживання особин, % (Survival,%); по осі ОХ - стійкість особин до зневоднення, години (Desiccation resistance, hours); Rainy season - сезон дощів; Autumn season - осінній сезон посух; +18°C, +26°C – температура навколишнього середовища, при якій відбувався розвиток личинок мух, °C (Parkash & Ranga, 2014).

10) Одним з важливих чинників, від яких залежить стійкість мух до зневоднення, є кількість ліпідів в кутикулі покривів мух, які захищають тіло мух від втрати вологи. Parkash R. і Ranga R. (2014) досліджували рівень ліпідів в кутикулі мух, личинки яких розвивалися при різних рівнях відносної вологості середовища і в різні сезони року. Використовуючи дані рисунка

21, вкажіть рівень кутикулярних ліпідів для мух, личинки яких розвивалися при відносній вологості 85% в сезон дощів _____ і в сезон осінніх посух _____.

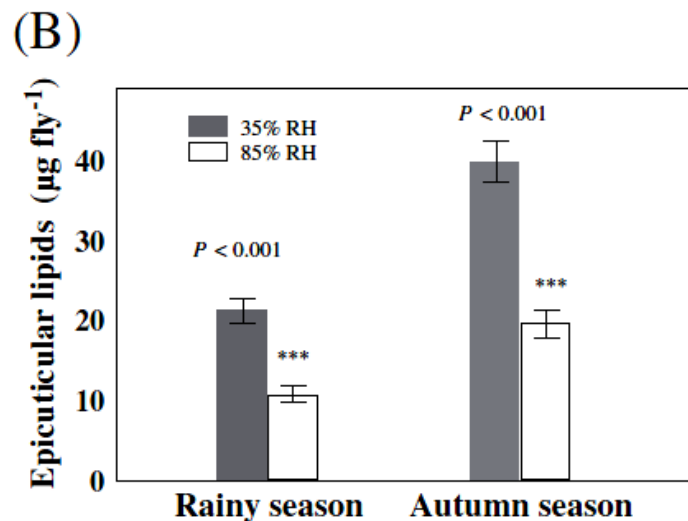


Рис. 21. Залежність кількості ліпідів в кутикулі тіла мух від сезону і відносної вологості, при якій розвивалися личинки мух. Де: по осі ОУ - кількість ліпідів в покривній кутикулі мух, (Epicuticular lipids, mkg/fly); по осі ОХ - сезон, в який розвивалися личинки мух; Rainy season - сезон дощів; Autumn season - осінній сезон посух; 85% RH, 35% RH - рівень відносної вологості навколишнього середовища, % (Parkash & Ranga, 2014).

11) Вкажіть рівень кутикулярних ліпідів для мух, личинки яких розвивалися при відносній вологості 35% в сезон дощів _____ і в сезон осінніх посух _____.

12) Чому в осінній сезон посух за будь-яких додаткових факторів, рівень кутикулярних ліпідів в тілі мух був вищим, ніж у сезон дощів? _____

13) Зробіть висновок про те, від яких чинників залежить кількість захисних кутикулярних ліпідів в покривах тіла мух: _____

Контрольні питання:

1. Причини небезпеки нестачі води в організмі.
2. Адаптації організмів до катастрофічної нестачі води (т.зв. ефект безлюдного острова).
3. Адаптації організмів до сезонної нестачі води. Толерантні і резистентні організми.
4. Ангідробіоз як особлива форма адаптації організмів до нестачі води в навколишньому середовищі.

Література:

Angelini C., Griffin J.N., van de Koppel J., Lamers L.P., Smolders A.J., Derksen-Hooijberg M., van der Heide T., Silliman B.R. A keystone mutualism underpins resilience of a coastal ecosystem to drought // Nat. Commun. – 2016. – Vol. 7:12473. doi: 10.1038/ncomms12473.

Boothby T.C., Tapia H., Brozyna A.H., Piszkiwicz S., Smith A.E., Giovannini I., Rebecchi L., Pielak G.J., Koshland D., Goldstein B. Tardigrades Use Intrinsically Disordered Proteins to Survive Desiccation // Mol. Cell. – 2017. – Vol. 65(6). – P. 975 - 984.e5. doi: 10.1016/j.molcel.2017.02.018.

Boschetti C., Pouchkina-Stantcheva N., Hoffmann P., Tunnacliffe A. Foreign genes and novel hydrophilic protein genes participate in the desiccation response of the bdelloid rotifer *Adineta ricciae* // J. Exp. Biol. – 2011. – Vol. 214(Pt 1). – P. 59 - 68. doi: 10.1242/jeb.050328.

Burraco P., Valdes A.E., Johansson F., Gomez-Mestre I. Physiological mechanisms of adaptive developmental plasticity in *Rana temporaria* island populations // BMC Evol. Biol. – 2017. – Vol. 17(1):164. doi: 10.1186/s12862-017-1004-1.

- Cornette R., Kikawada T. The induction of anhydrobiosis in the sleeping chironomid: current status of our knowledge // *IUBMB Life*. – 2011. – Vol. 63(6). – P. 419 - 429. doi: 10.1002/iub.463.
- Erkut C., Penkov S., Khesbak H., Vorkel D., Verbavatz J.M., Fahmy K., Kurzchalia T.V. Trehalose renders the dauer larva of *Caenorhabditis elegans* resistant to extreme desiccation // *Curr. Biol.* – 2011. – Vol. 21(15). – P. 1331 - 1336. doi: 10.1016/j.cub.2011.06.064.
- Fierro C., Lopez-Cristoffanini C., Meynard A., Lovazzano C., Castaneda F., Guajardo E., Contreras-Porcia L. Expression profile of desiccation tolerance factors in intertidal seaweed species during the tidal cycle // *Planta*. – 2017. – Vol. 245(6). – P. 1149 - 1164. doi: 10.1007/s00425-017-2673-0.
- Furini A. CDT retroelement: The stratagem to survive extreme vegetative dehydration // *Plant Signal Behav.* – 2008. – Vol. 3(12). – P. 1129 - 1131.
- Gallardo P.A., Cortes A., Bozinovic F. Phenotypic flexibility at the molecular and organismal level allows desert-dwelling rodents to cope with seasonal water availability // *Physiol Biochem Zool.* – 2005. – Vol. 78(2). – P. 145 - 152.
- Gomez-Mestre I., Kulkarni S., Buchholz D.R. Mechanisms and consequences of developmental acceleration in tadpoles responding to pond drying // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8(12):e84266. doi: 10.1371/journal.pone.0084266.
- Herman J.J., Sultan S.E. DNA methylation mediates genetic variation for adaptive transgenerational plasticity // *Proc. Biol. Sci.* – 2016. – Vol. 283(1838). pii: 20160988. doi: 10.1098/rspb.2016.0988.
- Isbell F., Craven D., Connolly J., Loreau M., Schmid B., et al. Biodiversity increases the resistance of ecosystem productivity to climate extremes // *Nature*. – 2015. – Vol. 526(7574). – P. 574 - 577. doi: 10.1038/nature15374.
- Kearney M., Blacket M.J. The evolution of sexual and parthenogenetic *Warramaba*: a window onto Plio-Pleistocene diversification processes in an arid biome // *Mol. Ecol.* – 2008. – Vol. 17(24). – P. 5257 - 52575. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03991.x.
- Kearney M., Blacket M.J., Strasburg J.L., Moritz C. Waves of parthenogenesis in the desert: evidence for the parallel loss of sex in a grasshopper and a gecko from Australia // *Mol. Ecol.* – 2006. – Vol. 15(7). – P. 1743 - 1748.
- Kearney M., Shine R. Developmental success, stability, and plasticity in closely related parthenogenetic and sexual lizards (*Heteronotia*, *Gekkonidae*) // *Evolution*. – 2004. – Vol. 58(7). – P. 1560 - 1572.
- Kiss A.J., Muir T.J., Lee R.E.Jr, Costanzo J.P. Seasonal variation in the hepatoproteome of the dehydration and freeze-tolerant wood frog, *Rana sylvatica* // *Int J Mol Sci.* – 2011. – Vol. 12(12). – P. 8406 - 8414. doi: 10.3390/ijms12128406.
- Kordonowy L., MacManes M. Characterizing the reproductive transcriptomic correlates of acute dehydration in males in the desert-adapted rodent, *Peromyscus eremicus* // *BMC Genomics*. – 2017. – Vol. 18(1):473. doi: 10.1186/s12864-017-3840-1.
- Li D., He X. Desiccation induced structural alterations in a 66-amino acid fragment of an anhydrobiotic nematode late embryogenesis abundant (LEA) protein // *Biomacromolecules*. – 2009. – Vol. 10(6). – P. 1469 - 1477. doi: 10.1021/bm9002688.
- Mao H., Wang H., Liu S., Li Z., Yang X., Yan J., Li J., Tran L.S., Qin F. A transposable element in a NAC gene is associated with drought tolerance in maize seedlings // *Nat. Commun.* – 2015. – Vol. 6:8326. doi: 10.1038/ncomms9326.
- Parkash R., Ranga P. Seasonal changes in humidity impact drought resistance in tropical *Drosophila leontia*: testing developmental effects of thermal versus humidity changes // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* – 2014. – Vol. 169. – P. 33 - 43. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.12.007.
- Sogame Y., Kikawada T. Current findings on the molecular mechanisms underlying anhydrobiosis in *Polypedilum vanderplanki* // *Curr. Opin. Insect. Sci.* – 2017. – Vol. 19. – P. 16 - 21. doi: 10.1016/j.cois.2016.10.008.
- Xiao L., Yang G., Zhang L., Yang X., Zhao S., Ji Z., Zhou Q., Hu M., Wang Y., Chen M., Xu Y., Jin H., Xiao X., Hu G., Bao F., Hu Y., Wan P., Li L., Deng X., Kuang T., Xiang C., Zhu J.K., Oliver M.J., He Y. The resurrection genome of *Boea hygrometrica*: A blueprint for survival of dehydration // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2015. – Vol. 112(18). – P. 5833 - 5837. doi: 10.1073/pnas.1505811112.
- Yoshida Y., Koutsovoulos G., Laetsch D.R., Stevens L., Kumar S., Horikawa D.D., Ishino K., Komine S., Kunieda T., Tomita M., Blaxter M., Arakawa K. Comparative genomics of the tardigrades *Hypsibius dujardini* and *Ramazzottius varieornatus* // *PLoS Biol.* – 2017. – Vol. 15(7):e2002266. doi: 10.1371/journal.pbio.2002266.

Тема 3. Кисень. Стрес нестачі кисню в навколишньому середовищі.

3.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Адаптація до гіпоксії у підземних гризунів. Гризуни голі землекопи (*Heterocephalus glaber*) живуть колоніями в підземних норах в сухих саванах і напівпустелях Кенії, Ефіопії і Сомалі (Африка). В їх підземних норах дуже низька концентрація кисню і висока концентрація вуглекислого газу. Більше того, вони здатні виживати після 30 хвилин повної відсутності кисню в повітрі. Одна з причин їх стійкості до гіпоксії - низька активність метаболічних процесів (на відміну від інших ссавців - голі землекопи холоднокровні тварини). Крім того, у дорослих голих землекопів збережений ембріональний рівень стійкості організму до нестачі кисню, який у інших груп ссавців втрачається після народження.

Ран J. з колегами (2012) вивчали пульмонарні нейроепітеліальні тільця цих тварин. *NB! Пульмонарні нейроепітеліальні тільця - це група клітин, які розташовуються в легенях, контактують з нервовими закінченнями і є хемосенсорами, які контролюють хімічний склад повітря, що вдихається, зокрема, вміст у повітрі кисню і вуглекислого газу. Крім того, клітини цих тілець секретують багато біологічно активних речовин. У дорослих тварин активність цих тілець, як правило, знижується. Проведені Ран J. з колегами (2012) дослідження показали, що у голих землекопів пульмонарні нейроепітеліальні тільця знаходяться в гіперактивному стані, подібному до ембріонального рівню, і збереженому у дорослих тварин (Ran et al., 2014).



Рис. 1. Голий землекоп (*Heterocephalus glaber*) (за https://elementy.ru/novosti_nauki/433211/Kletki_golykh_zemlekopov_stareyut_ne_tak_kak_kletki_myshey).

Експресія в дорослому стані ембріонального білка - захищає підземних мешканців від смерті нейронів через гіпоксію. Підземний гризун сліпак *Spalax* є стійким до гіпоксії. У сезон дощів в його норах концентрація O_2 становить 6%, а CO_2 - 7%. У цих тварин, у порівнянні з наземними гризунами, виявлені зміни в експресії нейроглобіну (Avivi et al. 2010). *NB! Білок нейроглобін переносить кисень в нервових клітинах, в сітківці ока і в ендокринних тканинах.

Відомо, що нейрони споживають багато АТФ. При нестачі АТФ, рецептори групи NR (глутаматні рецептори в нейронах) запускають деполяризацію мембран в мозку, що призводить до смерті нейронів. *NB! NR-рецептори є рецепторними білками-каналами, які активуються нейромедіатором глутаматом. В умовах відсутності кисню, в клітинах мозку ссавців протягом всього декількох хвилин росте рівень глутамату. Надлишок глутамату гіперактивує рецепторні білки-канали і вони впускають кальцій в нейрони, що призводить до запуску програми на самознищення нейронів.

Цей рецептор складається з обов'язкової субодиниці NR1 і декількох факультативних субодиниць NR2 (NR2A, NR2B, NR2C і NR2D), які відповідають за різні функціональні властивості даного рецептора. Експресія різних NR2 субодиниць - контролюється в онтогенезі. На пренатальній та ранній постнатальній стадіях - експресуються NR2B і NR2D. Тоді як у дорослих особин - експресуються NR2A і NR2C субодиниці.

У видів, толерантних до гіпоксії, експресія NR2D варіанта даного рецептора виявлена у дорослих організмів. Наприклад, у карасів. А також - у підземних гризунів сліпаків *Spalax galili*. Таким чином, експресія в дорослому стані ембріонального білка захищає організми від смерті нейронів через гіпоксію (Band et al., 2012).



Рис. 2. Сліпак верхньогалілейський (*Spalax galili*) (<https://www.asianscientist.com/2014/06/in-the-lab/blind-mole-rat-cancer-resistance-genome-transcriptome-2014/>).

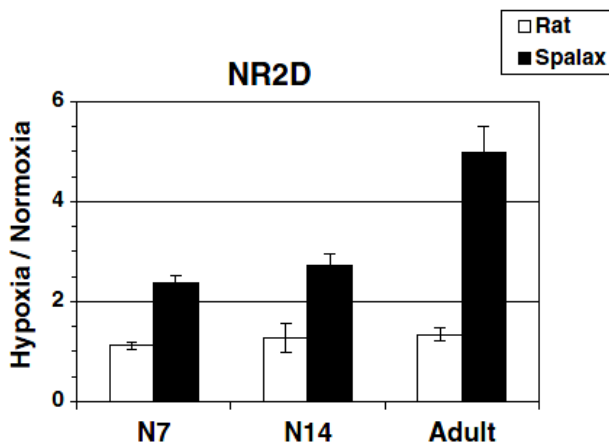


Рис. 3. Рівень активності гена ембріонального білка NR2 в умовах гіпоксії (6% кисню протягом 6 годин) в клітинах підземних гризунів сліпаків *Spalax* і наземних гризунів щурів, Rat. Де: по осі ОУ - відношення кількості РНК-транскриптів ембріонального білка NR2D в умовах гіпоксії до кількості транскриптів в умовах нормоксії, (Нуроксія/Нормоксія); N7, N14 - ранні постнатальні стадії розвитку тварин (7 і 14 доба після народження); Adult - дорослі особини; NR2D - ембріональний рецепторний білок; *Spalax* - підземні сліпаки *Spalax galili*; Rat - наземні гризуни, щури (Band et al., 2012).

Механізм стійкості мозку черепах до аноксії. Північноамериканські прісноводні черепахи, зокрема, розписні черепахи родів *Trachemys* і *Chrysemys*, проводять 4 місяці і більше в сплячці на дні замерзлих озер і ставків. Як їх мозок виживає без кисню настільки тривалий період?



Рис. 4. Північно-американська розписна черепаха *Chrysemys picta* (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Функціонування мозку засноване на комплексній взаємодії збуджуючих і гальмівних ланцюгів, в яких задіяні основні нейромедіатори - глутамат і гамма-аміномасляна кислота (ГАМК), відповідно. В умовах аноксії, в клітинах мозку ссавців швидко росте рівень глутамату, що призводить до цитотоксичної смерті клітин мозку, що, однак, не відбувається в мозку черепах. Виявилося, що в мозку черепах швидко росте рівень ГАМК, що призводить

до пригнічення роботи рецептора глутамату і до інгібування активності клітин мозку (Hogg et al., 2014).

Стрес гіпоксії у риб в умовах сезонного зростання температури води.

Дослідження, проведені Nilsson G.E. з колегами (2010), показали, що коралові рибки *Ostorhinchus doederleini* і *Pomacentrus moluccensis* в умовах спеки втрачають толерантність до нестачі кисню: зростання температури води на 3 градуси призводить до посилення споживання кисню і знижує толерантність риб до гіпоксії. При цьому, коралові рибки не здатні адаптуватися до такого підвищення температури: температурна аклімації протягом 7-22 днів не дає результатів.

Nilsson G.E. з колегами (2010) вважають, що зниження толерантності до гіпоксії може змусити коралових риб покинути їх нічні укриття в коралових рифах, наражаючи їх на небезпеку нападу хижаків. Таким чином, наслідки потепління клімату для виживання популяцій і видів можуть бути серйозними, якщо фенотипічна пластичність розвитку в поколіннях або генетична адаптація між поколіннями не призведуть до появи коралових рибок, більш толерантних до високих температур (Nilsson et al., 2010).



Рис. 5. Коралова рибка *Ostorhinchus doederleini* (за https://en.wikipedia.org/wiki/Ostorhinchus_doederleini).



Рис. 6. Коралова рибка *Pomacentrus moluccensis* (за https://en.wikipedia.org/wiki/Pomacentrus_moluccensis).

Під час сезонного замерзання поверхні водойм – карасі переходять від дихання до гліколізу, що рятує їх від аноксії. Взимку, через замерзання водойм, багато видів риб виявляються в умовах хронічної гіпоксії і навіть аноксії, оскільки взимку, через зупинку фотосинтезу водоростями, кисень в воду може надходити тільки з повітря. Серед риб найбільш стійкими до сезонної гіпоксії є карасі (*Carassius carassius*), які здатні досить довго витримувати відсутність кисню у воді.



Рис. 7. Золотий карась (*Carassius carassius*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

При цьому риби зберігають досить високу активність, на відміну від інших тварин, які також потрапляють в умови сезонної аноксії в замерзлих водоймах. Так, розписні північно-американські черепахи здатні витримувати тривалу аноксію - проте, в стані сплячки. Завдяки яким адаптаціям карасям вдається за відсутності кисню в воді зберігати активність мозку і всього організму?

Виявилося, що при замерзанні водойми і відсутності кисню - в клітинах карасів в ході анаеробного процесу гліколізу починається розщеплення запасів глікогену, що і є джерелом

енергії для синтезу молекул АТФ. Дослідження, проведені Varis J. з колегами (2016), показали, що сигналом для початку сезонного запасання глікогену в клітинах карасів є початок сезонного зниження температури навколишнього середовища (Varis et al., 2016).

*NB! Крім того, у дорослих карасів виявлено експресію ембріонального білка глутаматного рецептора, що також захищає клітини від нестачі кисню.

Регуляторна пластичність генома забезпечує адаптацію високогірних оленячих хом'ячків до холоду і гіпоксії. У Північній Америці оленячі хом'ячки (*Peromyscus maniculatus*) живуть на всіх висотах: від низин на рівні моря до гір, висотою понад 4300 м. Дослідження Cheviron Z.A. з колегами (2014) показали, що високогірні оленячі хом'ячки спроможні адаптуватися до холоду і гіпоксії на висотах (4350 м) в порівнянні з низинами (430 м).

Відомо, що зігрітися на великій висоті проблематично через нестачу кисню. Проведені дослідження показали, що оленячі хом'ячки, які живуть високо в горах, мають потужну здатність до термогенезу в порівнянні з мешканцями низин. Це пов'язано з активуванням генів, які контролюють дифузію кисню (за рахунок ангиогенезу - процесу утворення нових кровоносних судин в тканинах) і ефективність утилізації кисню тканинами (клітинну окислювальну здатність).

Cheviron Z.A. з колегами (2014) прийшли до висновку, що саме регуляторна пластичність генома забезпечує адаптацію високогірних оленячих хом'ячків до холоду і гіпоксії (Cheviron et al., 2014).



Рис. 8. Оленячий хом'ячок (*Peromyscus maniculatus*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Адаптація раків-богомолів до нестачі кисню у природних водоймах відбувається за рахунок активації синтезу білка – фактора гіпоксії. Промислові, аграрні та комунальні стоки призводять до забруднення вод Світового океану. Кисень, який знаходиться у воді, витрачається на окислення цих забруднюючих речовин, що призводить до зменшення концентрації кисню у воді і розвитку гіпоксії у організмів, які мешкають в даній акваторії.

Крім того, накопичення у воді біогенних хімічних елементів (азоту, калію, фосфору) викликає гіперрозмноження водоростей, після відмирання яких утворюється значна кількість решток відмерлих організмів, на окислення яких також витрачається кисень водойми.

Kodama K. з колегами (2012) досліджували раків-богомолів (*Oratosquilla oratoria*), зібраних в гіпоксичних водах Токійського заливку недалеко від Японії.



Рис. 9. Рак-богомол (*Oratosquilla oratoria*) (https://ru.wikipedia.org/wiki/Oratosquilla_oratoria).

Аналіз показав, що в клітинах серця і головного мозку цих раків-богомолів рівень транскриптів молекул РНК білка фактора гіпоксії (т.зв. HIF-1 α) в кілька разів перевищував

рівень аналогічних транскриптів у креветок, зібраних в нормоксичних умовах. *NB! Білок – фактор гіпоксії (HIF-1 α) активує в клітинах програми захисту від нестачі кисню.

При поверненні раків-богомолів до нормоксичних умов – відбувається поступове зниження рівня РНК транскриптів білка фактора гіпоксії. Таким чином, було встановлено, що в умовах нестачі кисню в навколишньому середовищі, раки-богомолі активують синтез білка фактора гіпоксії, який в свою чергу – включає клітинні програми захисту від нестачі кисню (Kodama et al., 2012).

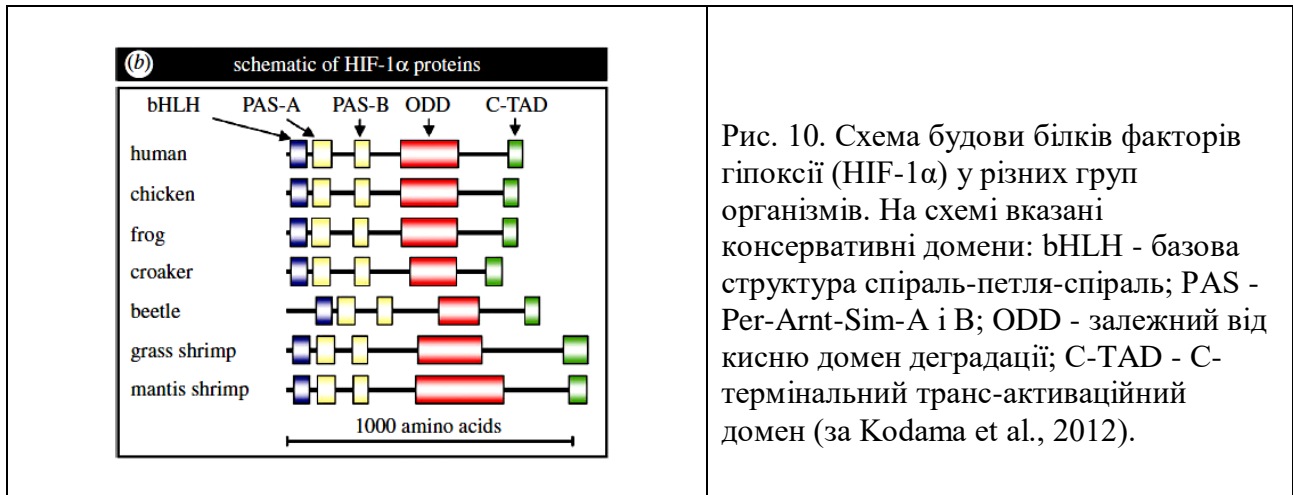


Рис. 10. Схема будови білків факторів гіпоксії (HIF-1 α) у різних груп організмів. На схемі вказані консервативні домени: bHLH - базова структура спіраль-петля-спіраль; PAS - Per-Arnt-Sim-A і B; ODD - залежний від кисню домен деградації; C-TAD - С-термінальний транс-активаційний домен (за Kodama et al., 2012).

Механізм активування білком фактором гіпоксії HIF- α захисних реакцій організмів в умовах гіпоксії. Якщо кисень в клітині присутній в достатній кількості - тоді білок PHD (пролігдроксилаза) відправляє білок фактора гіпоксії HIF- α в протеасому на деградацію. Але, за умови нестачі кисню – білок HIF- α накопичується в клітині, йде в ядро і змінює роботу генів, які відповідають за адаптацію організму до гіпоксії (Petousi & Robbins, 2014).

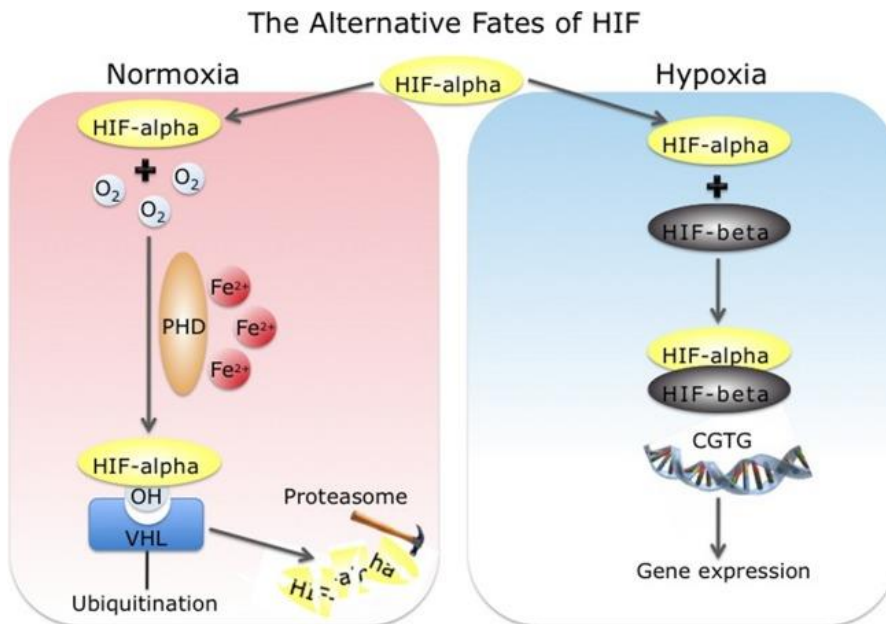


Рис. 11. Схема, яка відображає регулювання активності білка фактора гіпоксії HIF- α в умовах нормоксії і гіпоксії (цитовано за Petousi & Robbins, 2014).

Адаптація жителів Тибету до хронічної високогірної гіпоксії. Жителі Тибету адаптувалися до життя високо в горах. На відміну від жителів Анд (Південна Америка), мешканці Тибету не мають підвищеної продукції червоних кров'яних тілець.

На подив учених, виявилось, що низький вміст червоних кров'яних тілець у жителів Тибету не пов'язаний з мутаціями в генах гормону еритропоєтину (Еро) або в регуляторних генах, які його контролюють. Більше того, не були виявлені також мутації і в гені, що кодує

білок - фактор гіпоксії (HIF-1 α), робота якого забезпечує активування більше 100 генів у відповідь на гіпоксію.

Нещодавні дослідження показали, що ключова мутація у популяції, що мешкає в Тибеті, знаходиться в гені EPAS-1, який кодує білок HIF-2 α . Саме завдяки цій мутації жителі Тибету спроможні жити високо в горах, не дивлячись на хронічну нестачу кисню в атмосфері.



Рис. 12. Корінні Тибетці живуть на високогірному плато вже більше 25000 років в умовах хронічної гіпоксії, маючи низьку концентрацію гемоглобіну в крові (Storz, 2010).

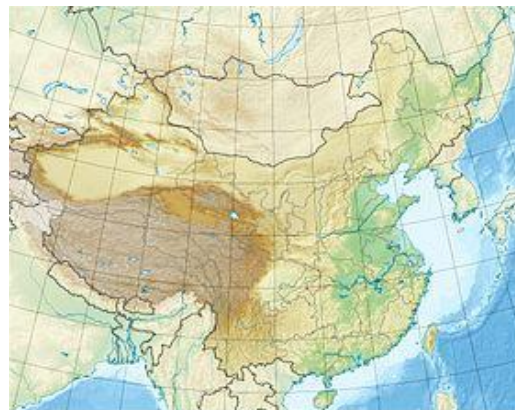


Рис. 13. Тибетське плато (за <https://ru.wikipedia.org/wiki>).

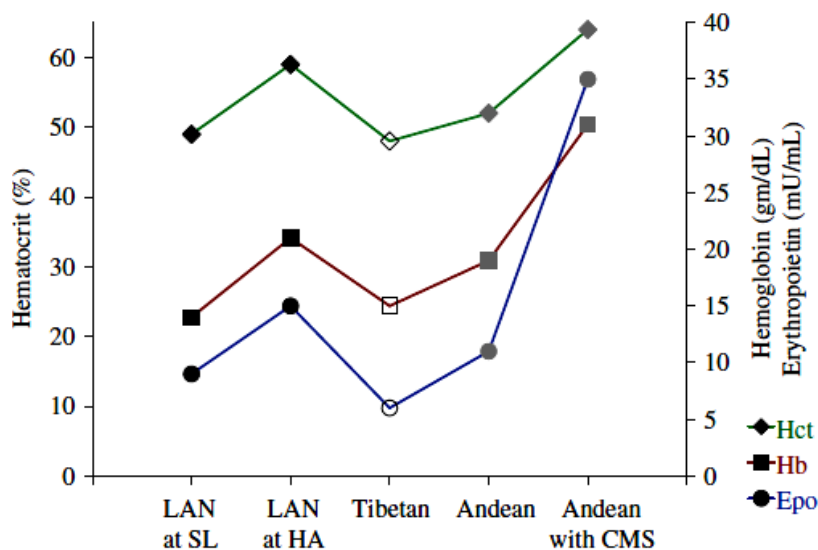


Рис. 14. Показники крові для мешканців низин і високогір'я. Де: LAN - корінні жителі Індії; SL - мешканці низин; HA - мешканці високогір'я; Tibetan - жителі Тибету; Andean - жителі Анд; Andean with CMS - жителі Анд, які страждають від хронічної гірської хвороби; Hct - показники гематокриту (гематокрит – об'єм червоних кров'яних клітин в крові); Hb - показники гемоглобіну; Epo - показники плазмового еритропоєтину. Мешканці Тибету мають показники крові, аналогічні показникам крові мешканців низин (на відміну від жителів Анд). Чорні символи - популяції, для яких не виявлено мутацій в гені EPAS-1; відкриті символи - популяції, для яких виявлені мутації в гені EPAS-1; сірі символи - популяції, для яких немає даних по гену EPAS-1 (цитовано за van Patot et al., 2011).

*NB! Транскрипційний фактор, індукований гіпоксією (білок – фактор гіпоксії HIF-1), був відкритий в 90-х роках минулого століття. Було встановлено, що саме робота цього білка забезпечує захисну відповідь організму на гіпоксію, зокрема, активування еритропоезу, ангиогенезу, гліколізу і т.н.

Трохи пізніше був ідентифікований білок HIF-2. І хоча цей білок за своїми функціями подібний білку HIF-1, він має свої особливості. Зокрема, нещодавно було показано, що саме цей білок задіяний у відповіді організму людини на високогірні умови нестачі кисню в атмосфері: в еритропоезі, в гомеостазі заліза, в метаболізмі, в проникності судин і т.н. Таким чином, мутація по гену EPAS-1, що кодує білок HIF-2, цілком могла забезпечити адаптацію жителів Тибету до високогірних умов хронічної гіпоксії (цитовано за van Patot et al., 2011).

Крім мутації по гену EPAS1, що кодує транскрипційний фактор HIF-2A, у жителів Тибету була також виявлена мутація в гені EGLN1, що кодує білок PHD2 (пролілгідроксилазу-2) (Lorenzo et al., 2014). Lorenzo F.R. з колегами (2014), показали, що дана мутація з'явилася в геномі жителів Тибету приблизно 8000 років тому. Ця мутація перешкоджає посиленню еритропоеза (т.т. синтезу додаткових еритроцитів) у відповідь на гіпоксичні умови навколишнього середовища, що є молекулярним механізмом, який захищає жителів Тибету від поліцитемії в умовах високогір'я.

*NB! Звичайний PHD2 білок при низьких концентраціях кисню – перешкоджає деградації білка фактора гіпоксії і, таким чином, сприяє проліферації попередників еритроцитів. Тоді як мутантний білок PHD2, виявлений у мешканців Тибету, в умовах нестачі кисню сприяє посиленій деградації білка фактора гіпоксії HIF, що перешкоджає активації синтезу нових еритроцитів (Lorenzo et al., 2014).

В цілому, проведені дослідження свідчать про те, що адаптація до високогірних умов включає необхідність узгоджених змін в роботі багатьох генів організму (Bigham & Lee, 2014).

Еволюція сприйняття рівня кисню у багатоклітинних тварин. Здатність клітин відчувати рівень кисню в навколишньому середовищі сприяє адаптації організму до мінливих умов. У хребетних тварин ця функція контролюється трьома внутрішньоклітинними білками PHD 1-3 (проліл-4-гідроксилази). Ці три споріднені ензими здатні гідроксилувати білок - фактор гіпоксії (HIF) і таким чином контролювати транскрипцію генів, включених в метаболізм і в мобілізацію судин. Проведені дослідження показали, що білки PHD контролюють значно більшу кількість процесів, ніж тільки сприйняття рівня кисню в клітині. Зокрема, для білка PHD3 виявлені дуже різноманітні за функціями ізоформи. Так, опосередковане білком PHD3 гідроксилування задіяне у розвитку симпатичних нейронів і м'язів, у розвитку сепсису, в гліколітичному метаболізмі, у виборі клітинного шляху (за Place & Domann, 2013).

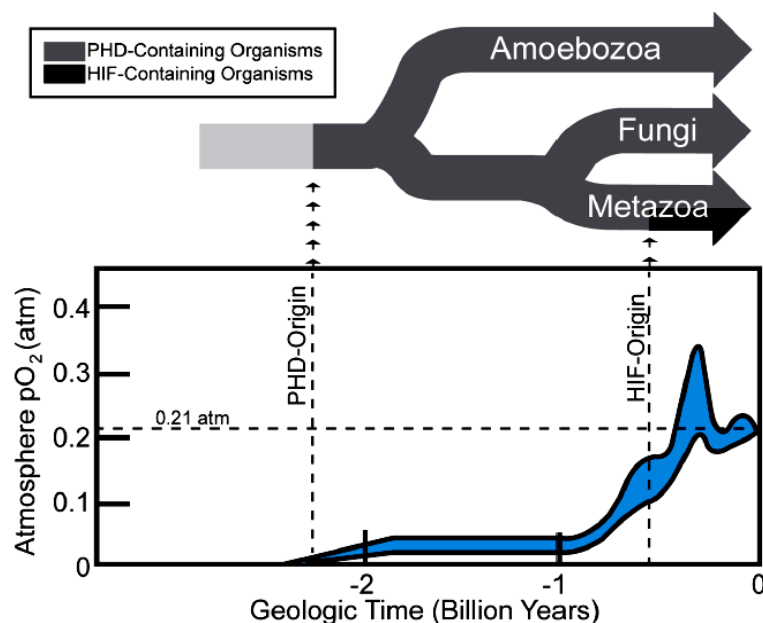


Рис. 15. Кореляція еволюції білків кисень-сенсорної системи PHD і HIF зі змінами рівня оксигенації атмосфери Землі. На філогенетичному дереві *Amoebozoa* і *Opisthokonta* (*Metazoan*

і *Fungi*) зазначено час появи білків PHD і HIF (верхня частина рисунка). У нижній частині рисунка наведено рівні вмісту кисню в атмосфері Землі за останні 2,3 млрд. років. Сучасний рівень кисню вказано у вигляді пунктирної лінії (0,21 атм). Поява в клітинах еукаріот білків PHD відповідає часу початку накопичення кисню в атмосфері Землі. Поява в клітинах багатоклітинних тварин білків HIF відповідає часу різкого зростання рівня кисню в атмосфері приблизно 600 млн.р.т. (цитовано за Place & Domann, 2013).

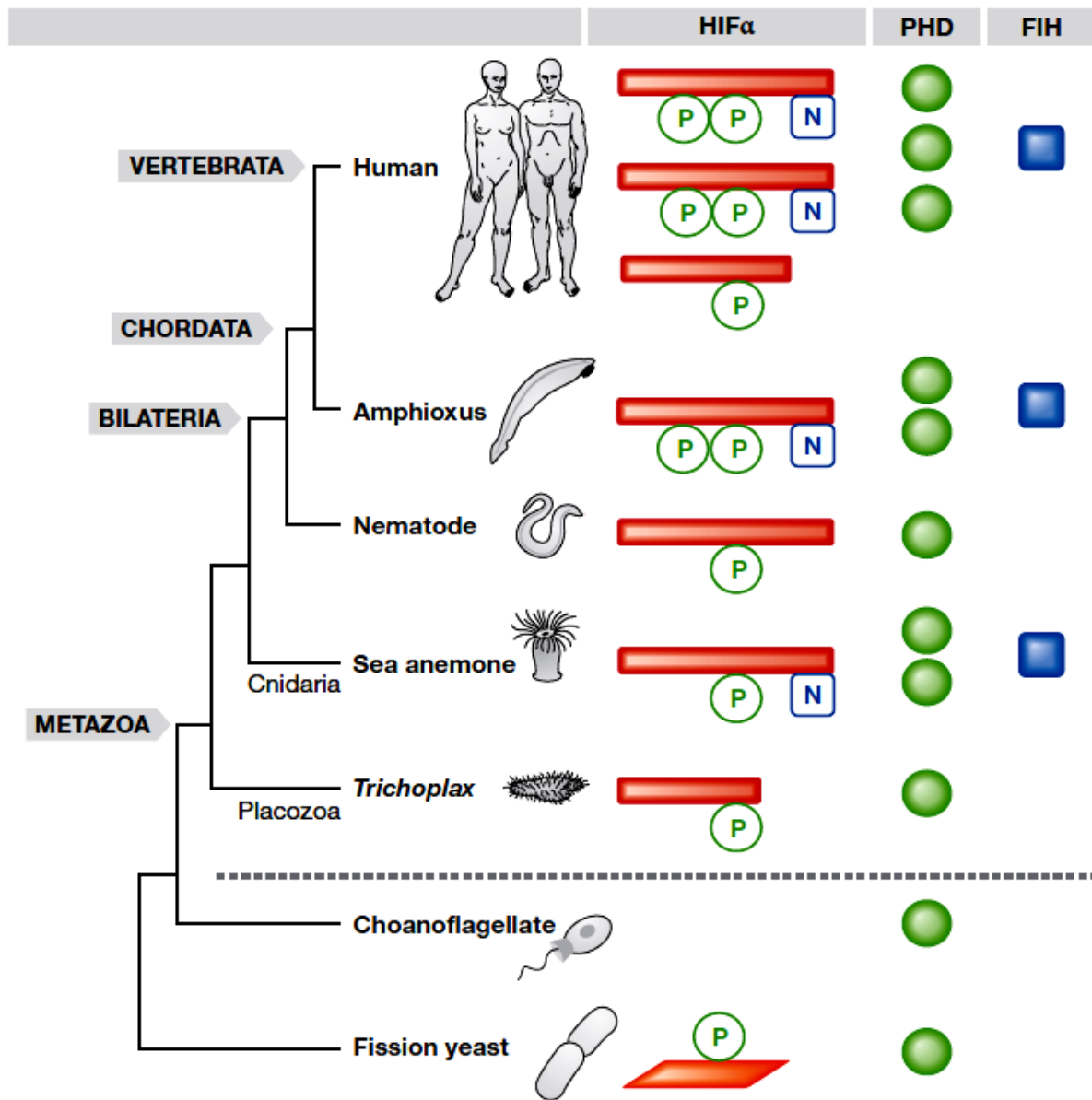


Рис. 16. Еволюція білка - фактора гіпоксії (HIF) в еукаріот. Базові компоненти HIF-сигнального шляху з'явилися у спільного предка багатоклітинних тварин (*Metazoa*). У подальшому, компоненти сигнального шляху вдосконалювалися в лініях нащадків. Гомологи білка HIF- α виявлені тільки у багатоклітинних тварин, тоді як гомологи білка PHD знайдені у всіх еукаріотів. Слід зазначити, що гомологи FIH виявлені не у всіх групах багатоклітинних тварин. Причиною появи великої кількості паралогів генів HIF- α і PHD є два кола повногеномних дуплікацій в геномах базової лінії хребетних тварин. У грибів гомологи білка PHD взаємодіють з білком Sre1. Де: FIH - фактор, що інгібує білок фактор гіпоксії HIF; HIF - білок фактор гіпоксії; PHD - проліл-гідроксилаза; Sre1 (sterol regulatory element binding protein) - білок, що зв'язує стеринний регуляторний елемент (за Rytkönen & Storz, 2011).

3.2. Практична робота

Завдання 1. Адаптація рослин до часткового підтоплення територій. Рослини є аеробними організмами, яким для основного синтезу молекул АТФ необхідна присутність кисню в клітинах і, відповідно, в навколишньому середовищі. При сезонному або катастрофічному підтопленні територій, надлишок води в ґрунті призводить до нестачі кисню, від якого в першу чергу страждає коріння рослин. Для адаптації до стресу гіпоксії (нестача кисню) - рослини змінюють обмін речовин і морфологічну структуру коренів.



Рис. 1. Дихальні корені - пневматофори - у мангрових рослин авіценії (*Avicennia germinans*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 2. Дихальні корені - пневматофори - у дерева таксодіума (*Taxodium ascendens*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Деякі рослини у відповідь на затоплення формують адвентивні корені (додаткові корені, які виникають в незвичайних місцях рослини), що допомагає їм пережити нестачу кисню в навколишньому середовищі.

Дерева, які ростуть в заболоченому ґрунті або в припливно-відливній смузі морських узбереж, формують пневматофори - надземні дихальні корені, що ростуть вгору і розвиваються з підземних коренів. Їх основна функція - постачання киснем підземних частин рослин (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

У коренях інших рослин при затопленні починає формуватися аеренхіма. Аеренхіма - це система порожнин, яка з'єднує коріння і пагони і дозволяє кисню надходити від пагонів до коренів. Крім того, деякі рослини, що мешкають на підтоплених територіях, в зовнішніх клітинних шарах коренів формують бар'єр, який запобігає втраті кисню. Рослини, що живуть в звичайних ґрунтах, - такий бар'єр, як правило, не утворюють.

Проведені дослідження показали, що вже через кілька годин після затоплення в клітинах рослин змінюється робота генів. Так, Tang W. з колегами (2003) було встановлено, що після затоплення проростків кукурудзи відбувається активація генів, залучених в гліколіз, в формування захисних механізмів, в передачу сигналів і в метаболізм енергії (Tang et al., 2005). Крім того, при підтопленні рослин - змінюється активність мікроРНК, які контролюють анатомічні зміни, пов'язані з розвитком додаткових коренів (Zhai et al., 2013).

Xu Q.T. з колегами (2013) досліджували корені проростків пшениці, які піддавалися протягом 3 днів (72 години) затопленню. Проведені дослідження показали, що у відповідь на затоплення в коренях проростків пшениці формується аеренхіма - порожнини, заповнені повітрям. При відсутності підтоплення - така тканина в коренях відсутня. Результати проведених досліджень наведені на рисунках 3-4 (Xu et al., 2013).

1) Що таке «аеренхіма»? _____

2) Використовуючи дані рисунка 4, вкажіть % аеренхіми в коренях проростків пшениці до початку затоплення коренів _____ і через 72 години після затоплення коренів _____.

3) Яку роль виконує аеренхіма, яка формується в корнях підтоплених рослин? _____

4) Для чого клітинами коренів необхідний кисень? _____

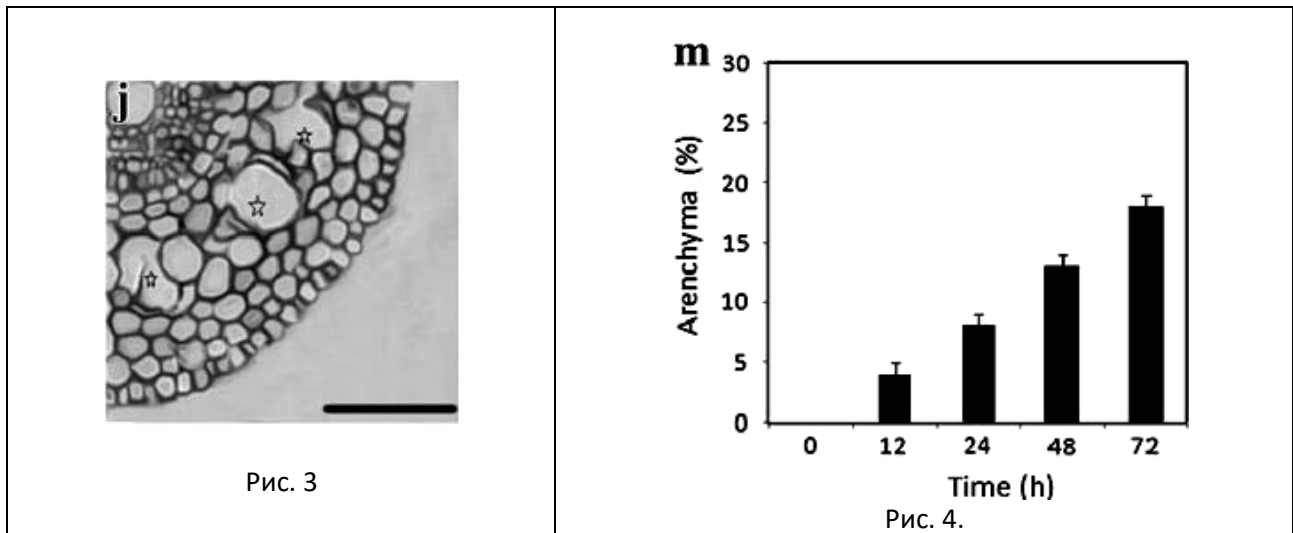


Рис. 3. Поперечний зріз через корінь проростка пшениці на 3 день після затоплення коренів. Зірочками зазначено формування порожнин аеренхіми. 1 бар = 0,1 мм (Xu et al., 2013).

Рис. 4. Залежність між об'ємом аеренхіми і тривалістю затоплення коренів проростків пшениці. Де: по осі ОУ - відсоток формування аеренхіми в тканинах коренів, (Aerenchyma,%); по осі ОХ - тривалість підтоплення коренів, години (Time, h) (Xu et al., 2013).

Завдання 2. Механізми виживання рослин при їх повному затопленні. При сильній повені наземні рослини цілком виявляються під водою. При цьому більшість рослин гине через зупинку фотосинтезу і дихання. Однак, деякі види рослин набули здатність виживати навіть в таких умовах. Наприклад, рослини роду Роріпа (*Rorippa*) в природних екосистемах піддаються повному затопленню та є дуже стійкими до нестачі кисню. Акман М. з колегами (2014) було показано, що у цих рослин висока стійкість до гіпоксії пов'язана з ефективним гліколізом, що дозволяє отримувати енергію з органічних речовин без участі кисню.

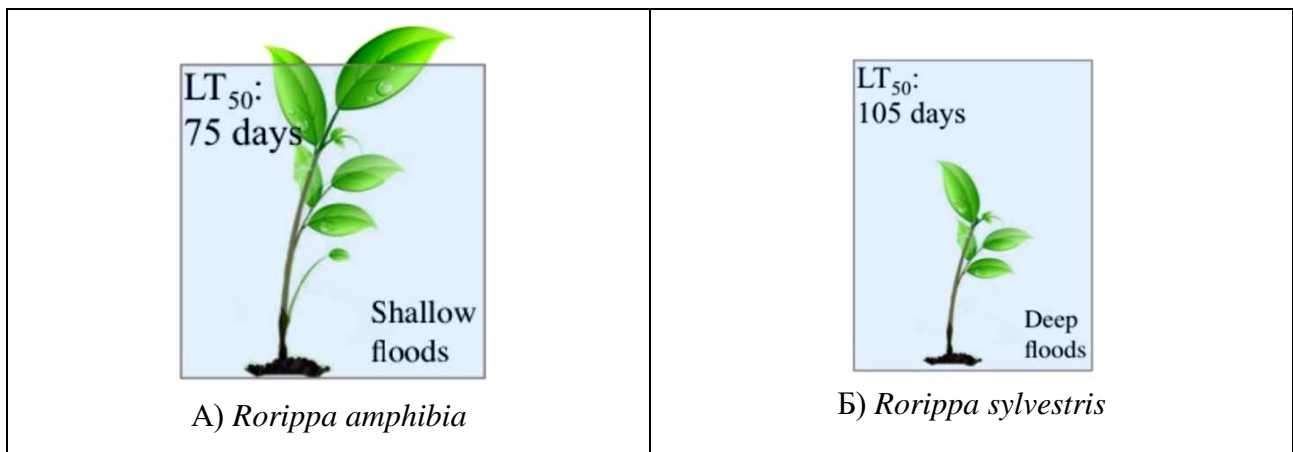


Рис. 5. Рослини роріпи двох різних видів в умовах затоплення розвивають дві різні стратегії: А) рослини виду *Rorippa amphibia* включають механізм посиленого гліколізу всіх запасних

речовин в рослині - отримана при цьому енергія витрачається на посилений ріст рослини для виринання на поверхню. Після виринання - повітря по потужній системі аеренхіми (система повітряних порожнин, яка з'єднує пагони і корені) надходить до всіх частин рослини; Б) рослини виду *Rorippa sylvestris* теж активують гліколіз в клітинах для безкисневого синтезу молекул АТФ. Однак при цьому рослини максимально знижують обмін речовин і перецікують підтоплення, дуже економно витрачаючи енергію, отриману з запасних речовин за допомогою гліколізу (приблизно 95 днів повного підтоплення не знижують життєздатності рослин цього виду) (Akman et al., 2014).

Крім того, автори дослідження порівняли роботу генів в клітинах рослин роріпи *Rorippa*, стійких до підтоплення, з роботою генів в клітинах рослин арабідопсису *Arabidopsis*, чутливих до підтоплення, і виявили, що тільки види роду *Rorippa* індукували різноманітні гени, які залежать від неорганічного пірофосфату, і які складають альтернативу АТФ-залежним клітинним шляхам, тим самим зберігаючи енергію і потенційно пояснюючи різницю в виживаності за умов затоплення між рослинами родів *Rorippa* і *Arabidopsis* (Akman et al., 2014).

Sasidharan R. з колегами (2013) піддавали молоді рослини двох видів роріпи - *Rorippa sylvestris* і *Rorippa amphibian* - повному підтопленню протягом 24 годин і потім досліджували експресію генів в клітинах їх коренів.

Обидва види роріпи здатні виживати при повному затопленні, однак, *Rorippa sylvestris* може перебувати під водою значно довше, ніж *Rorippa amphibian*. У підтоплених рослин зареєстровано активування генів гліколізу і ферментації і репресія генів інших метаболічних шляхів, які вимагають великої витрати енергії. Результати проведених досліджень представлені на рисунках 6-7 (Sasidharan et al., 2013).

1) Використовуючи дані рисунка 6, вкажіть, через скільки днів після повного затоплення, виживання рослин знижується на 50% для виду *Rorippa amphibian* _____ і для виду *Rorippa sylvestris* _____.

2) Використовуючи інформацію, наведену на рисунках 5-6, поясніть, чому рослини *Rorippa sylvestris* і *Rorippa amphibian* в умовах повного затоплення включають різну стратегію виживання _____

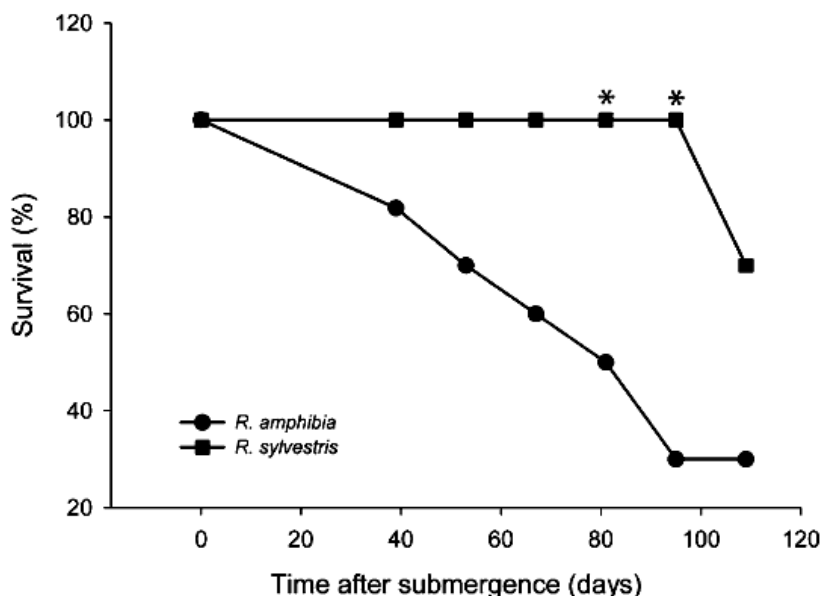


Рис. 6. Залежність виживання рослин двох видів роду роріпа (*Rorippa*) від тривалості їх повного затоплення. Де: по осі ОУ - відсоток виживання рослин,% (Survival,%); по осі ОХ - час після повного затоплення рослин, дні (Time after submergence, days); ● - для рослин виду *Rorippa amphibian*; ■ - для рослин виду *Rorippa sylvestris* (Sasidharan et al., 2013).

3) Використовуючи дані, наведені на рисунках 7 В-Ф, вкажіть рівень синтезу ферментів, які беруть участь в процесах гліколізу і ферментації, у рослин видів *Rorippa sylvestris* і *Rorippa amphibian* в контрольних умовах відсутності затоплення _____.

4) Як змінилася інтенсивність синтезу ферментів, які беруть участь в процесах гліколізу і ферментації після затоплення рослин *Rorippa sylvestris* і *Rorippa amphibian*? _____.

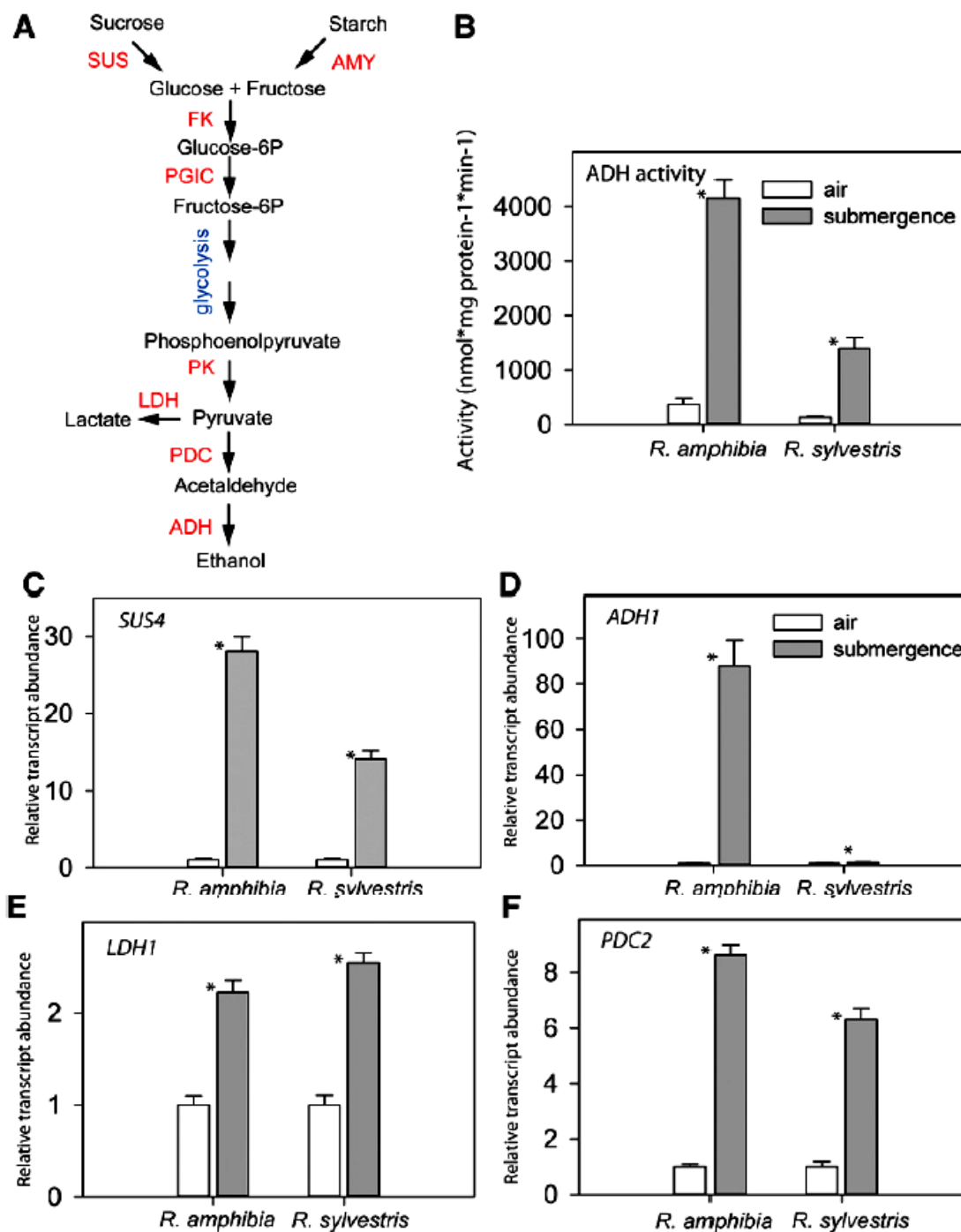


Рис. 7. А. Схема, яка відображає метаболічні шляхи розщеплення цукрів і крохмалю в процесах гліколізу і ферментації. В-Ф. Інтенсивність роботи генів, що відповідають за процеси гліколізу і ферментації (*ADH*, *SUS4*, *ADH1*, *PDC2* і *LDH1*) в клітинах коренів роріпи двох різних видів: *Rorippa sylvestris* і *Rorippa amphibian*. Де: по осі ОУ - відносна кількість транскриптів генів гліколізу і ферментації, (Relative transcript abundance); білі стовпчики гістограм - контрольні умови; сірі стовпчики гістограм - умови повного затоплення рослин протягом 24 годин (Sasidharan et al., 2013).

5) Чому після повного затоплення рослин роду роріпа в їх клітинах посилився синтез ферментів, що відповідають за процеси гліколізу і ферментації? _____

6) Для якого з двох видів роріпи: *Rorippa sylvestris* або *Rorippa amphibian* – активування роботи генів, які забезпечують процеси гліколізу і ферментації, було сильніше виражено? _____

7) Використовуючи дані, наведені на рисунку 5, поясніть, чому рослини *Rorippa amphibian* мають потребу в дуже інтенсивному гліколізі і ферментації для виживання в умовах повного затоплення рослин? _____

Завдання 3. Адаптація до гіпоксії у підземних гризунів. Ізраїльські сліпаки *Spalax ehrenbergi* мешкають в підземних норах в умовах хронічної гіпоксії. Shams I. з колегами (2005) виявили у сліпаків *Spalax ehrenbergi* в ембріогенезі більш інтенсивну експресію гена еритропоетину, в порівнянні з їх наземними родичами *Rattus*.

У наземних родичів така інтенсивна експресія еритропоетину відбувається тільки у новонароджених малюків (оскільки їх гнізда підземні і погано-вентильовані). Крім того, Shams I. з колегами (2005) було показано, що у дорослих підземних сліпаків *Spalax ehrenbergi* в нирках в два рази інтенсивніше експресується еритропоетин в порівнянні з їх наземними родичами *Rattus*. *NB! Еритропоетин - це один з гормонів нирок, який контролює еритропоез, тобто утворення еритроцитів. В умовах гіпоксії синтез еритропоетину і посилений еритропоез захищають організм від нестачі кисню.



Рис. 8. Сліпак Еренберга (*Spalax ehrenbergi*) (<https://en.wikipedia.org/wiki/Spalax>).

Проведені Shams I. з колегами (2005) дослідження також показали, що підземні сліпаки в два рази інтенсивніше експресують мРНК фактора гіпоксії HIF-1 α на всіх стадіях онтогенезу, в порівнянні з наземними особинами *Rattus*, що захищає їх від гіпоксії (Shams et al., 2005). *NB! Фактори, індуковані гіпоксією (Hypoxia-inducible factors, HIFs,) – це транскрипційні фактори, які реагують на зменшення кількості кисню в клітинах. HIF-1 є необхідним для виживання клітин в умовах гіпоксії, оскільки дозволяє клітинам адаптуватися до умов низького вмісту кисню.

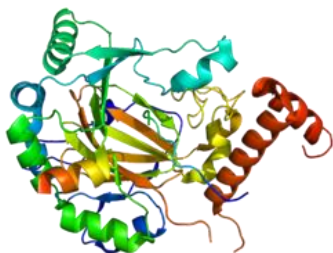


Рис. 9. Структура білка фактора гіпоксії HIF-1A (или HIF-1 α) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

При нормальній концентрації кисню в навколишньому середовищі в більшості клітин ген HIF1A конститутивно експресується на низьких рівнях, однак при гіпоксії транскрипція HIF1A часто значно підвищується. HIF-1 індукує транскрипцію більше 60 генів, включаючи гени VEGF і еритропоетину, що беруть участь в біологічних процесах, таких як ангиогенез і еритропоез, які сприяють транспортуванню і збільшенню доставки кисню в гіпоксичні області (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/HIF1A>).

Результати досліджень, проведених Shams I. з колегами (2004), наведені на рисунках 10-11.

1) Яку функцію виконує білок еритропоетин в клітинах тварин? _____

 _____.

2) Використовуючи дані рисунка 10, вкажіть рівень експресії гена еритропоетина в клітинах нирок сліпака *Spalax* і його наземних родичів *Rattus* в умовах звичайного вмісту кисню в навколишньому середовищі _____ і через 4 години перебування тварин в умовах 10% гіпоксії: для *Spalax* _____ і для *Rattus* _____.

3) Як вплинули умови гіпоксії на інтенсивність роботи гена еритропоетина? _____
 _____.

4) У наземних або у підземних гризунів рівень роботи гена еритропоетина виріс сильніше в умовах гіпоксії? _____.

Чому у підземних гризунів *Spalax* у відповідь на умови гіпоксії сильніше активується робота гена еритропоетина, в порівнянні з наземними гризунами? _____

 _____.

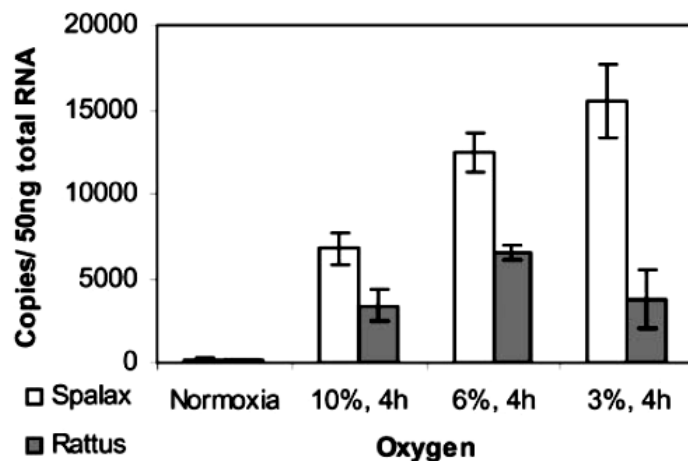


Рис. 10. Залежність рівня експресії гена еритропоетина в клітинах нирок сліпака *Spalax* і його наземних родичів *Rattus* від вмісту кисню в навколишньому середовищі. Де: по осі ОУ - інтенсивність експресії гена еритропоетина (кількість копій мРНК на 50 нг загальної РНК), (copies/50 ng total RNA); по осі ОХ - концентрація кисню в навколишньому середовищі, %, (Oxygen, %). Normoxia - умови звичайного вмісту кисню в навколишньому середовищі; 10%, 6% і 3% - відсоток вмісту кисню в навколишньому середовищі (рівень гіпоксії), створений в експериментальних умовах для гризунів, що досліджувалися, протягом 4 годин (4h); *Spalax* - сліпак *Spalax galili*; *Rattus* - і його наземний родич (Shams et al., 2004).

5) Яка існує залежність між інтенсивністю роботи гена еритропоетину і рівнем гіпоксії у навколишньому середовищі: для підземних гризунів *Spalax* _____

і для наземних гризунів *Rattus* _____
 _____.

6) На підставі отриманих даних, поясніть, чому підземні гризуни *Spalax* є більш стійкими до умов нестачі кисню, в порівнянні з їх наземними родичами *Rattus* _____
 _____.

7) Яку функцію в організмі тварин виконує білок фактор гіпоксії HIF-1? _____

 _____.

8) Використовуючи дані рисунка 11, вкажіть рівень експресії гена білка фактора гіпоксії HIF-1 в умовах звичайного вмісту кисню в навколишньому середовищі для підземних гризунів *Spalax* _____ і для їх наземних родичів *Rattus* _____.

9) Як вплинула 4-годинна експозиція тварин в умовах 10% гіпоксії на рівень експресії гена фактора гіпоксії HIF-1 в клітинах нирок підземних гризунів *Spalax* _____ і їх наземних родичів *Rattus* _____.

10) Як Ви думаєте, чому у підземних гризунів *Spalax* у відповідь на 10% гіпоксію - інтенсивність роботи гена білка фактора гіпоксії HIF-1 не змінилася? _____

11) Як вплинуло подальше зниження концентрації кисню в навколишньому середовищі (до 3%) на інтенсивність роботи гена білка фактора гіпоксії HIF-1 в клітинах нирок підземних гризунів *Spalax* _____ і їх наземних родичів *Rattus* _____.

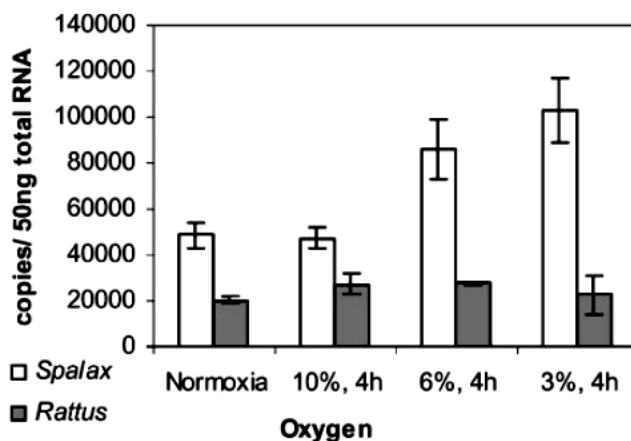


Рис. 11. Залежність між рівнем кисню в навколишньому середовищі і рівнем експресії гена білка - фактора гіпоксії HIF-1 в клітинах нирок підземного мешканця сліпака *Spalax* і його наземного родича *Rattus*. Де: по осі ОУ - інтенсивність експресії гена фактора гіпоксії (кількість копій мРНК на 50 нг загальної РНК), (copies/50 ng total RNA); по осі ОХ - концентрація кисню в навколишньому середовищі, %, (Oxygen, %). Normoxia - умови нормального вмісту кисню в навколишньому середовищі; 10%, 6% і 3% - відсоток вмісту кисню в навколишньому середовищі (рівень гіпоксії), створений в експериментальних умовах для гризунів, які досліджувалися, протягом 4 годин (4h); *Spalax* - сліпак *Spalax galili*; *Rattus* - і його наземний родич (Shams et al., 2004).

12) Використовуючи отримані дані по інтенсивності роботи гена білка фактора гіпоксії поясніть, чому підземні гризуни *Spalax* є більш стійкими до умов нестачі кисню, в порівнянні з їх наземними родичами *Rattus* _____

Завдання 4. Адаптації тварин, що мешкають в зоні морських припливів і відливів, до періодичної аноксії.

Припливи створюють умови циклічної доступності кисню для мілководних мешканців акваторій: в умовах відливів доступ до кисню у них обмежений.

Для самозахисту від нестачі кисню мешканці припливної зони під час відливів переходять від дихання до анаеробного обміну речовин (гліколіз + ферментація) і до мінімуму знижують свою активність і обмін речовин. Перехід на анаеробний обмін речовин дозволяє морським тваринам синтезувати молекули АТФ в умовах відсутності кисню, що, поряд зі зниженням загальної інтенсивності обміну речовин, забезпечує їх виживання під час відливів.

Connor K.M. і Gracey A.Y. (2012) досліджували особливості обміну речовин в клітинах зябер каліфорнійських ребристих мідій (*Mytilus californianus*), що мешкають в зоні припливів.



Рис. 15. Каліфорнійські ребристі мідії (*Mytilus californianus*) (за <https://www.inaturalist.org/photos/30070>).

Дослідниками в лабораторних умовах були змодельовані 6 годинні припливи і відливи. Автори роботи вивчили 169 метаболітів з клітин зябер мідій і з них для 24 метаболітів були виявлені цикли накопичення з 12 годинною періодичністю, пов'язаною з припливними циклами. Отримані дані підтвердили наявність чергування фаз анаеробного і аеробного метаболізму в клітинах зябер мідій (Connor & Gracey, 2012).

Результати досліджень, проведених Connor К.М. і Gracey А.У. (2012), наведені на рисунках 12-14.

1) Використовуючи дані рисунків 13-14, вкажіть, під час припливів або відливів частота серцевих скорочень у каліфорнійських мідій знижується? _____.

Про що це свідчить? _____.

2) Використовуючи дані рисунка 15, вкажіть під час припливів або відливів в клітинах зябер каліфорнійських мідій накопичуються анаеробні (безкисневі) продукти обміну речовин (наприкладі сукцинат і малат) _____.

Про що це свідчить? _____.

3) Чому під час відливів мешканці мілководь переходять від дихання до гліколізу і ферментації? _____.

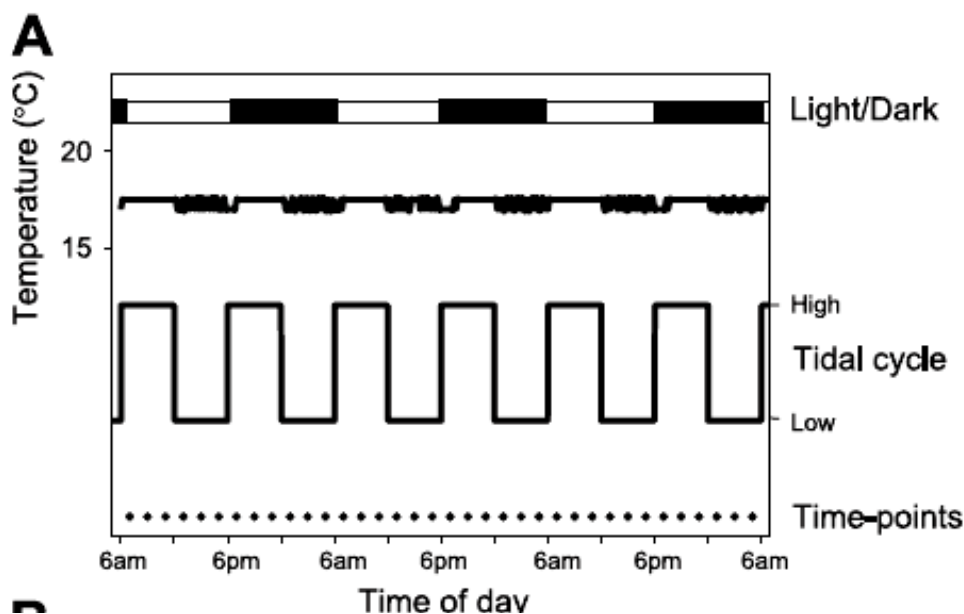


Рис. 12. Динаміка припливів-відливів, симульована в лабораторних умовах. Де: по осі ОУ - температура навколишнього середовища, (Temperature, °C); по осі ОХ - зміна припливів-відливів протягом дня, (Time of day); 6 am - 6 годин ранку; 6 pm - 6 годин вечора; Tidal cycle - припливний цикл; High, Low - високий і низький рівні води в припливному циклі; Light / Dark - світлий-темний час доби (Connor & Gracey, 2012).

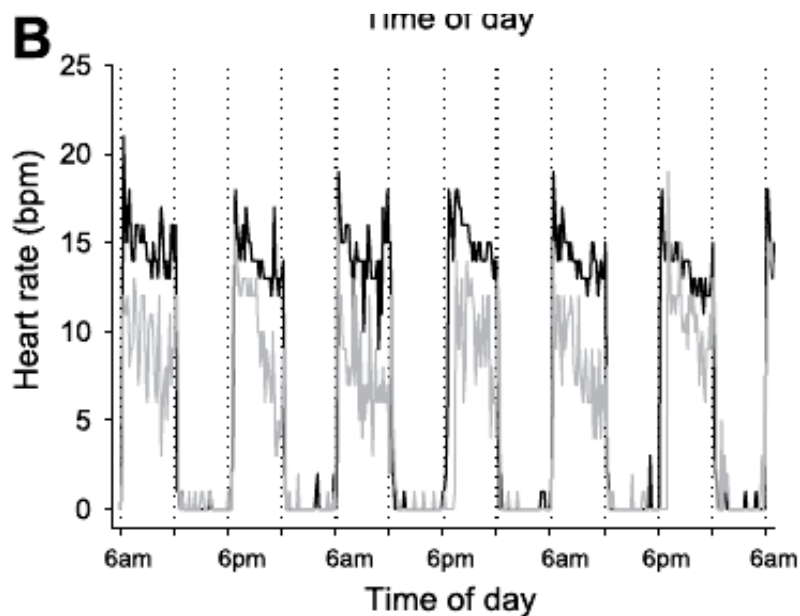


Рис. 13. Динаміка інтенсивності серцевого ритму у мідій *Mytilus californianus* під час симульованих в лабораторних умовах припливів і відливів. Де: по осі ОУ - серцевий ритм, ударів/хв (Heart rate, bpm); по осі ОХ - ритми припливів-відливів протягом дня, (Time of day); 6 am - 6 годин ранку; 6 pm - 6 годин вечора (Connor & Gracey, 2012).

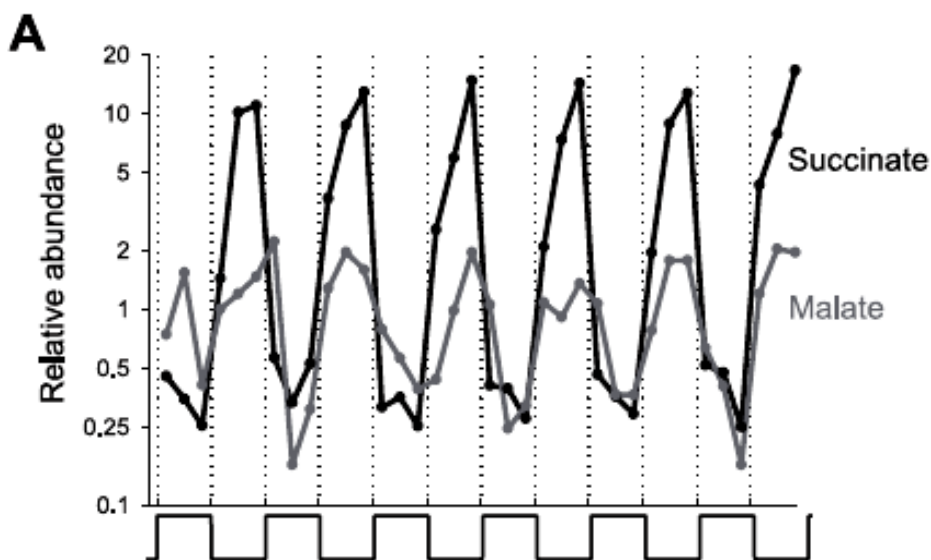
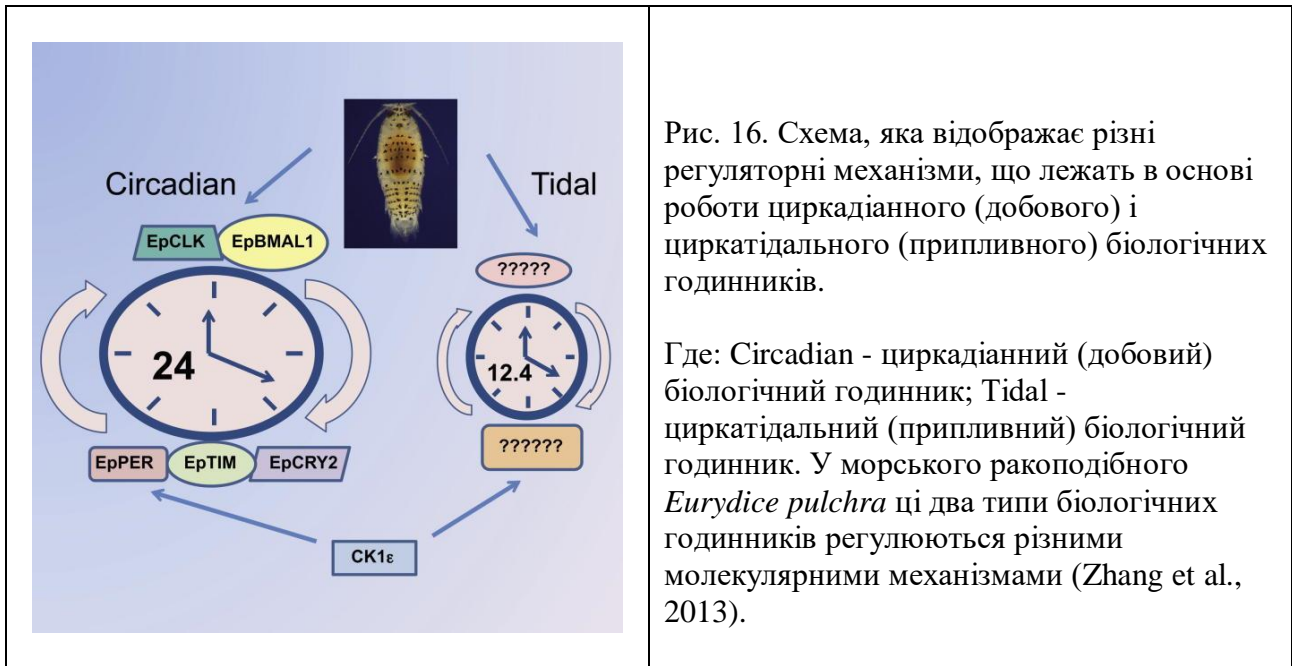


Рис. 14. Динаміка змін концентрації продуктів анаеробного обміну речовин в залежності від фази припливного циклу. Де: по осі ОУ - відносна кількість даного продукту обміну речовин, (Relative abundance); по осі ОХ - фаза припливно-відливної циклу (низьке положення ламаної лінії відповідає відливу, високе - припливу); Succinate - сукцинат; Malate - малат (Connor & Gracey, 2012).

Завдання 5. Припливний біологічний годинник у морських тварин, що мешкають в зоні припливів і відливів. Під час морських відливів мілководні тварини для самозахисту від аноксії переходять від дихання до гліколізу + ферментації, а також - знижують інтенсивність обміну речовин. Організми, здатні заздалегідь, до настання відливу, змінити свій обмін речовин, набувають переваги у виживанні в стресових умовах середовища. Проведені дослідження показали, що тварини, які мешкають в зоні припливів-відливів, придбали біологічні припливні годинники, які дозволяють їм заздалегідь змінювати обмін речовин і, відповідно, своєчасно адаптуватися до умов аноксії.

Молекулярна основа роботи припливних біологічних годинників на сьогоднішній день поки не встановлена. Однак, відомо, що добові (циркадіанні) і припливні (циркатідальні) біологічні годинники - обслуговуються різними молекулярними механізмами, оскільки поломка годинника одного типу не порушує хід годинника іншого типу (Zhang et al., 2013).



Leiva F.P. з колегами (2016) вивчали припливний біологічний годинник у креветок *Neotrypaea uncinata*, що мешкають на мілководдях в зоні припливів-відливів. Для цього тварин поміщали в лабораторні умови постійного нормального вмісту кисню і порівнювали зміни в обміні речовин креветок (зокрема, рівень споживання кисню клітинами) з динамікою реальних припливів-відливів. Отримані авторами дані підтвердили існування внутрішніх припливних ритмів в клітинах креветок, які періодично змінюють рівень споживання кисню клітинами в умовах постійного високого вмісту кисню в лабораторному експерименті.



Рис. 17. Креветка *Neotrypaea bifari* (<https://www.inaturalist.org/photos/1824569>).

- 1) Чому два рази на добу узбережжя морів піддається дії припливів і відливів?

- 2) Дії яких стресових факторів піддаються мешканці мілководь в умовах відпливу?

- 3) Які адаптації до нестачі кисню в умовах відливу виробили прибережні морські тварини?

- 4) Яку функцію виконують припливні біологічні годинники, виявлені у багатьох морських організмів - мешканців припливної зони? _____
- 5) Відомо, що всі типи біологічних годинників (добові, сезонні, припливні, місячні і т.н.) в природних умовах існування організмів постійно підлаштовуються до точної роботи

факторами зовнішнього середовища. Які фактори навколишнього середовища підлаштовують роботу припливних біологічних годинників? _____

б) На рисунку 18 наведено графік морських припливів-відливів в зоні вилову креветок і графік рівня споживання кисню креветками *Neotrypaea uncinata*, які знаходяться в лабораторії в умовах нормального постійного вмісту кисню. Як Ви думаєте, чому криві реального припливу-відливу і криві споживання кисню креветками, що живуть в лабораторії, - відрізняються? _____

7) Через деякий час утримання в лабораторних умовах у креветок *Neotrypaea uncinata* пропадають припливні ритми в обміні речовин. Поясніть, чому? _____

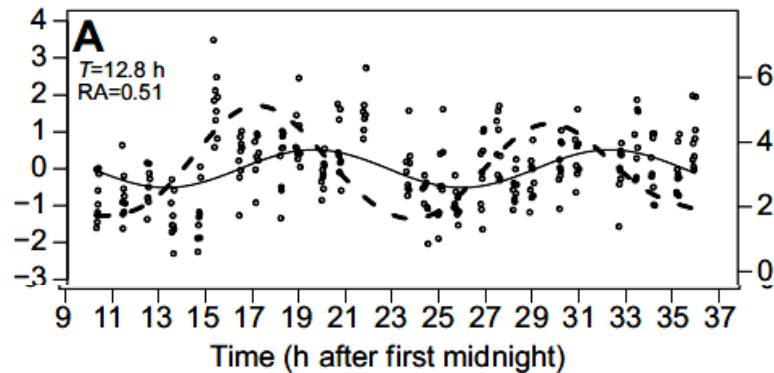


Рис. 18. Залежність між висотою реального припливу (пунктирна лінія) і рівнем споживання кисню креветками *Neotrypaea uncinata*, які утримуються в лабораторних умовах відсутності реального припливу-відливу (суцільна лінія на графіку) (Leiva et al., 2016).

Контрольні питання:

1. Організми аероби і анаероби.
2. Причини небезпеки нестачі кисню в навколишньому середовищі для організмів аеробів.
3. Адаптації організмів до сезонної гіпоксії і аноксії.
4. Адаптації організмів до хронічної нестачі кисню високо в горах, в ґрунтах, в глибинах океанів.

Література:

- Akman M., Bhikharie A., Mustroph A., Sasidharan R. Extreme flooding tolerance in *Rorippa* // Plant Signal. Behav. – 2014. – Vol. 9(2):e27847.
- Band M., Malik A., Joel A., Avivi A. Hypoxia associated NMDA receptor 2 subunit composition: developmental comparison between the hypoxia-tolerant subterranean mole-rat, *Spalax*, and the hypoxia-sensitive rat // J. Comp. Physiol. B. – 2012. – Vol. 182(7). – P. 961 - 969.
- Bigham A.W., Lee F.S. Human high-altitude adaptation: forward genetics meets the HIF pathway // Genes Dev. – 2014. – Vol. 28(20). – P. 2189 - 2204. doi: 10.1101/gad.250167.114.
- Cheviron Z.A., Connaty A.D., McClelland G.B., Storz J.F. Functional genomics of adaptation to hypoxic cold-stress in high-altitude deer mice: transcriptomic plasticity and thermogenic performance // Evolution. – 2014. – Vol. 68(1). - P.48 - 62. doi: 10.1111/evo.12257.
- Connor K.M., Gracey A.Y. High-resolution analysis of metabolic cycles in the intertidal mussel *Mytilus californianus* // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2012. – Vol. 302(1):R103-111. doi: 10.1152/ajpregu.00453.2011.
- Hogg D.W., Hawrysh P.J., Buck L.T. Environmental remodelling of GABAergic and glutamatergic neurotransmission: rise of the anoxia-tolerant turtle brain // J. Therm. Biol. – 2014. – Vol. 44. – P. 85 - 92. doi: 10.1016/j.jtherbio.2014.01.003.
- Kodama K., Rahman M.S., Horiguchi T., Thomas P. Assessment of hypoxia-inducible factor-1 α mRNA expression in mantis shrimp as a biomarker of environmental hypoxia exposure // Biol. Lett. – 2012. – Vol. 8(2). – P. 278 - 281. doi: 10.1098/rsbl.2011.0887.

- Leiva F.P., Niklitschek E.J., Paschke K., Gebauer P., Urbina M.A. Tide-related biological rhythm in the oxygen consumption rate of ghost shrimp (*Neotrypaea uncinata*) // J. Exp. Biol. – 2016. – Vol. 219(Pt 13). – P. 1957 - 1960. doi: 10.1242/jeb.133785.
- Loenarz C., Coleman M.L., Boleininger A., Schierwater B., Holland P.W., Ratcliffe P.J., Schofield C.J. The hypoxia-inducible transcription factor pathway regulates oxygen sensing in the simplest animal, *Trichoplax adhaerens* // EMBO Rep. – 2011. – Vol. 12(1). – P. 63 - 70. doi: 10.1038/embor.2010.170.
- Lorenzo F.R., Huff C., Myllymäki M., Olenchock B., Swierczek S., et al., A genetic mechanism for Tibetan high-altitude adaptation // Nat Genet. – 2014. – Vol. 46(9):951 - 956. doi: 10.1038/ng.3067.
- Nilsson G.E., Ostlund-Nilsson S., Munday P.L. Effects of elevated temperature on coral reef fishes: loss of hypoxia tolerance and inability to acclimate // Comp Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. – 2010. – Vol. 156(4). – P. 389 - 393. doi: 10.1016/j.cbpa.2010.03.009.
- Pan J., Park T.J., Cutz E., Yeger H. Immunohistochemical characterization of the chemosensory pulmonary neuroepithelial bodies in the naked mole-rat reveals a unique adaptive phenotype // PLoS One. – 2014. – Vol. 9(11):e112623. doi: 10.1371/journal.pone.0112623.
- Petousi N., Robbins P.A. Human adaptation to the hypoxia of high altitude: the Tibetan paradigm from the pregenomic to the postgenomic era // J. Appl. Physiol. – 2014. – Vol. 116(7). – P. 875 - 884. doi: 10.1152/jappphysiol.00605.2013.
- Place T.L., Domann F.E. Prolyl-hydroxylase 3: Evolving Roles for an Ancient Signaling Protein // Hypoxia (Auckl). – 2013. – Vol. 2013(1). – P. 13 - 17.
- Rytkönen K.T., Storz J.F. Evolutionary origins of oxygen sensing in animals // EMBO Rep. – 2011. – Vol. 12(1). – P. 3 - 4. doi: 10.1038/embor.2010.192.
- Sasidharan R., Mustroph A., Boonman A., Akman M., Ammerlaan A.M., Breit T., Schranz M.E., Voeselek L.A., van Tienderen P.H. Root transcript profiling of two *Rorippa* species reveals gene clusters associated with extreme submergence tolerance // Plant Physiol. – 2013. – Vol. 163(3). – P. 1277 - 1292. doi: 10.1104/pp.113.222588.
- Shams I., Avivi A., Nevo E. Hypoxic stress tolerance of the blind subterranean mole rat: expression of erythropoietin and hypoxia-inducible factor 1 alpha // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004. – Vol. 101(26). – P. 9698 - 9703.
- Shams I., Nevo E., Avivi A. Ontogenetic expression of erythropoietin and hypoxia-inducible factor-1 alpha genes in subterranean blind mole rats // FASEB J. – 2005. – Vol. 19(2). – P. 307 - 309.
- Song D., Li L.S., Arsenault P.R., Tan Q., Bigham A.W., Heaton-Johnson K.J., Master S.R., Lee F.S. Defective Tibetan PHD2 binding to p23 links high altitude adaptation to altered oxygen sensing // J. Biol. Chem. – 2014. – Vol. 289(21). – P. 14656 - 14665. doi: 10.1074/jbc.M113.541227.
- Storz J.F. Evolution. Genes for high altitudes // Science. – 2010. – Vol. 329(5987):40-1. doi: 10.1126/science.1192481.
- Tang W., Zhang Z., Zou X., Zheng Y. Functional genomics of maize submergence tolerance and cloning of the related gene Sicyp51 // Sci. China C Life Sci. – 2005. – Vol. 48(4). – P. 337 - 345.
- van Patot M.C., Gassmann M. Hypoxia: adapting to high altitude by mutating EPAS-1, the gene encoding HIF-2 α // High Alt. Med. Biol. – 2011. – Vol. 12(2). – P. 157 - 167. doi: 10.1089/ham.2010.1099.
- Varis J., Haverinen J., Vornanen M. Lowering Temperature is the Trigger for Glycogen Build-Up and Winter Fasting in Crucian Carp (*Carassius carassius*) // Zoolog. Sci. – 2016. – Vol. 33(1). – P. 83 - 91. doi: 10.2108/zs150072.
- Xu Q.T., Yang L., Zhou Z.Q., Mei F.Z., Qu L.H., Zhou G.S. Process of aerenchyma formation and reactive oxygen species induced by waterlogging in wheat seminal roots // Planta. – 2013. – Vol. 238(5). – P. 969 - 982. doi: 10.1007/s00425-013-1947-4.
- Zhai L., Liu Z., Zou X., Jiang Y., Qiu F., Zheng Y., Zhang Z. Genome-wide identification and analysis of microRNA responding to long-term waterlogging in crown roots of maize seedlings // Physiol. Plant. – 2013. – Vol. 147(2). – P. 181 - 193. doi: 10.1111/j.1399-3054.2012.01653.x.
- Zhang L., Hastings M.H., Green E.W., Tauber E., Sladek M., Webster S.G., Kyriacou C.P., Wilcockson D.C. Dissociation of circadian and circatidal timekeeping in the marine crustacean *Eurydice pulchra* // Curr. Biol. – 2013. – Vol. 23(19). – P. 1863 - 1873. doi: 10.1016/j.cub.2013.08.038.

Тема 4. Тиск навколишнього середовища

4.1. Практична робота

Завдання 1. Роль осмолітів в регулюванні внутрішньоклітинного тиску.

Багато мешканців водойм здійснюють добові вертикальні міграції спливання-занурення, пов'язані з особливостями харчування організмів. При збільшенні глибини знаходження організму на кожні 10 м - тиск навколишнього середовища збільшується на 1 атмосферу. Щоб при цьому високий гідростатичний тиск не роздавив клітини організму - клітини відкривають натрієві канали і оскільки концентрація іонів натрію в навколишньому середовищі завжди вище, ніж в клітинах, то натрій за градієнтом концентрації заходить в клітини, слідом за натрієм, за законом фізики, заходить через водні канали вода і внутрішньоклітинний тиск підвищується.

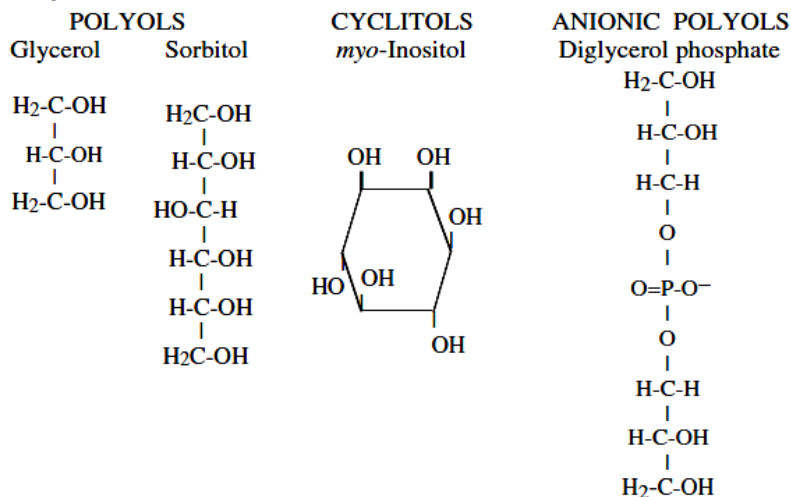
Якщо організм навпаки, спливає, то щоб його клітини не розірвав високий внутрішньоклітинний тиск - в мембранах клітин відкриваються калієві і хлоридні канали і оскільки всередині клітин концентрація іонів калію і хлору завжди вище, ніж в навколишньому середовищі, то калій і хлор виходять з клітин, слідом за ними через водні канали виходить вода і внутрішньоклітинний тиск знижується. Так здійснюється швидке регулювання внутрішньоклітинного тиску.

Однак, якщо організм довго перебуває в умовах нового тиску, наприклад, в разі занурення, - то з клітин необхідно вивести надлишок іонів натрію. Щоб при цьому не впав внутрішньоклітинний тиск - клітини синтезують маленькі молекули - осмоліти, які замість іонів натрію забезпечують підтримку високого внутрішньоклітинного тиску. Якщо організм спливає ближче до поверхні і довго перебуває в даних умовах - то він повинен повернути в клітини іони калію і хлору. Щоб при цьому не підвищився внутрішньоклітинний тиск - клітини руйнують частину своїх органічних молекул осмолітів.

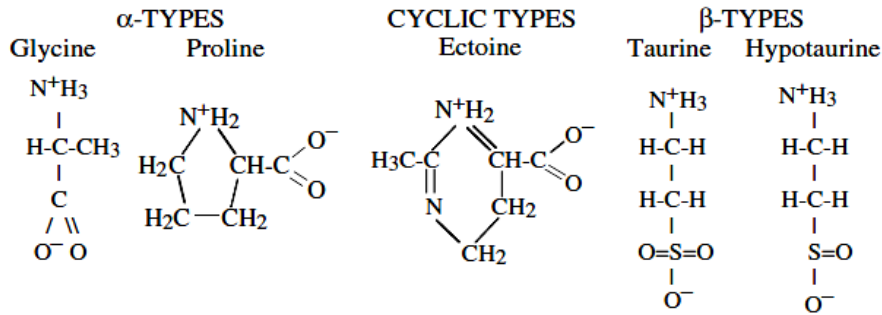
Осмоліти - це маленькі органічні молекули, які захищають клітини не тільки від перепадів тиску, але також і від умов засолення, посухи, високих температур. Такий спектр захисних функцій осмолітів пов'язаний з тим, що ці молекули здатні зв'язуватися з макромолекулами клітин і захищати їх від пошкоджень. Наприклад, відомо, що високий гідростатичний тиск здатний руйнувати структуру макромолекул. Якщо макромолекули пов'язані з осмолітами - вони стають стійкими до роздавлювання високим тиском середовища.

В якості осмолітів організми використовують амінокислоти та їх похідні, поліоли і цукри, метиламін, метилсульфонові сполуки і сечовину (Yancey, 2005). При цьому набір осмолітів для організмів однієї систематичної групи - залежить від глибини проживання виду і відрізняється між мешканцями глибинних і приповерхневих вод.

Carbohydrates



Amino acids and derivatives



Methylammonium and methylsulfonium solutes

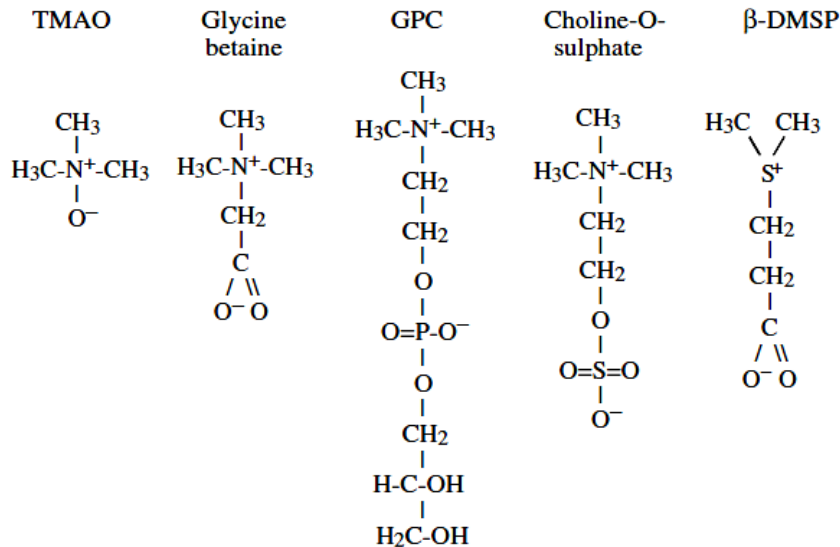


Рис. 1. Приклади органічних молекул-осмолітів, які відносяться до різних хімічних груп. *NB! Сечовина на схемі не вказана. Де: ТМАО - триметиламін-N-оксид; GPC - гліцерофосфорилхолін; DMSP - диметилсульфонпропіонат (Yancey, 2005).

Проведені дослідження показали, що при дії високого тиску осмоліти мешканців глибин більш ефективно захищають клітинні білки від денатурації, ніж осмоліти мешканців приповерхневих вод.

Так, морські безхребетні тварини, що мешкають в приповерхневих водах, в якості клітинних осмолітів використовують вільні амінокислоти. Риби і членистоногі, які мешкають на значних глибинах, підвищують в своїх клітинах концентрацію осмоліта - триметиламіноксида (ТМАО). У інших тварин, що мешкають на великих глибинах, - підвищується концентрація інших осмолітів. Наприклад, у голкошкірих, червононогих молюсків і поліхет - це сцило-інозитол (scyllo-inositol); у октопод - поліол, бета-аланін і бетаїн; у вестіменіфер з гідротермальних джерел - гіпотаурин, N-метил-таурин і різні метиламіни; у глибоководних везікомідних молюсків (vesicomoid clams) - серин-фосфатні осмоліти.

Присутність в клітинах осмолітів, які містять сірку, таких як гіпотаурин (hypotaurine) і тіотаурин (thiotaurine) - не корелює з глибиною; вочевидь, ці осмоліти задіяні в сульфідному метаболізмі і виконують функції детоксикації. Таким чином, осмоліти виконують не менше трьох функцій: власне осмотичну, захист клітинних макромолекул від високого тиску і функцію детоксикації (Yancey et al., 2002).

Yancey P.H. з колегами (2002) досліджували, як змінюється концентрація молекул осмоліта триметиламін-N-оксиду (ТМАО) в клітинах морських тварин, які мешкають на різних глибинах. Результати проведених досліджень наведені на рисунках 2-3 (Yancey et al., 2002).

- 1) Використовуючи дані рисунка 2, вкажіть концентрацію осмоліта ТМАО в клітинах креветок, що мешкають в поверхневому шарі води _____, а також тих, що мешкають на глибинах 2000 м _____ і 3000 м _____.
- 2) Як зі збільшенням глибини проживання змінюється концентрація осмоліта ТМАО в клітинах креветок та інших морських тварин? _____.
- 3) Яку функцію виконують молекули осмоліти при зануренні організму в глибокому океану? _____.

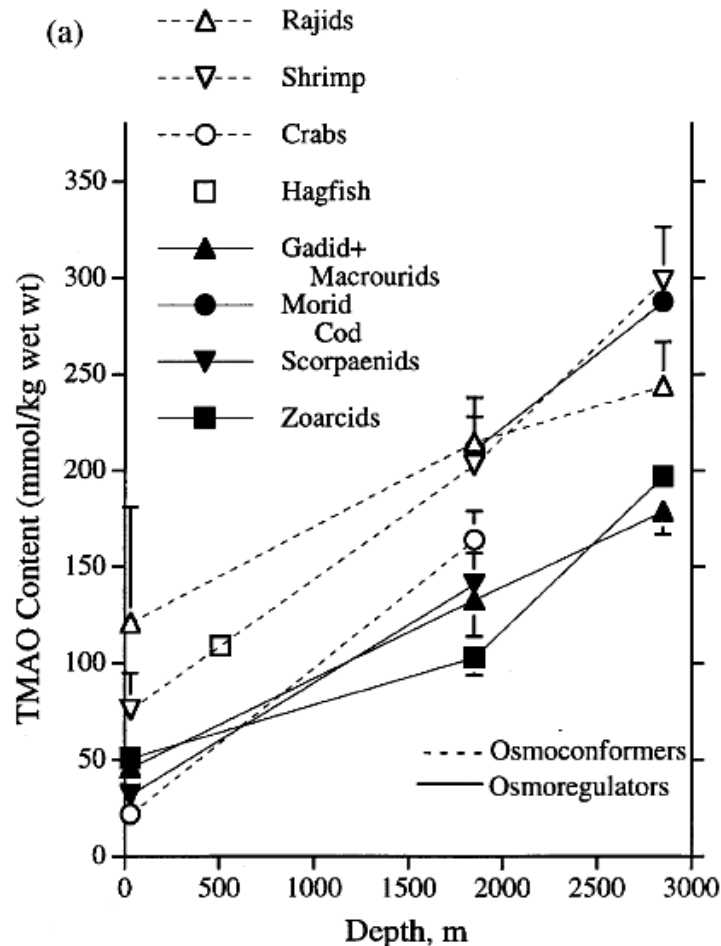


Рис. 2. Зміна концентрації осмоліта ТМАО (триметиламін-N-оксиду) в м'язових клітинах різних груп морських тварин зі збільшенням глибини існування організмів цих груп. Де: по осі ОУ - концентрація осмоліта ТМАО, (ТМАО Content, mmol/kg wet wt); осі ОХ - глибина мешкання тварин, м (Depth, m); Osmoconformers - осмоконформатори (забезпечують підтримку правильної конформації молекул); Osmoregulators - осморегулятори (забезпечують підтримку високого осмотичного тиску в клітинах); Rajids - скати; Shrimp - креветки; Crabs - краби; Hagfish - риби міксини; Gadid + Macrourids - родина риб Тріскові (*Gadidae*) + риби родини Макрурусові (*Macrouridae*); Morid Cod – родина риб Морові (*Moridae*); Scorpaenids – родина риб Скорпенові (*Scorpaenidae*); Zoarcids – родина риб Бельдюгові (*Zoarcidae*) (Yancey et al., 2002).

- 4) Використовуючи дані рисунка 3, вкажіть загальний вміст молекул осмолітів в клітинах скатів, що мешкають в прибережних водах _____, і у скатів, що мешкають на глибинах 1850 м _____ і 2900 м _____.
- 5) Отримані дані свідчать про те, що з глибиною загальний вміст молекул осмолітів в клітинах скатів - практично не змінюється і навіть дещо знижується. За рахунок якого механізму скати, які мешкають на великій глибині, набувають стійкості до високого

гідростатичного тиску? Для відповіді на це питання - порівняйте присутність в клітинах м'язів скатів осмолітів різних типів _____

б) Як Ви вважаєте, чому зі збільшенням глибини проживання в клітинах морських тварин починають накопичуватися осмоліти іншого типу порівняно з організмами, які живуть в приповерхневих водах? _____

*NB! Подальші дослідження показали, що в умовах високого тиску осмоліт ТМАО краще захищає клітинні білки від денатурації, ніж інші типи осмолітів.

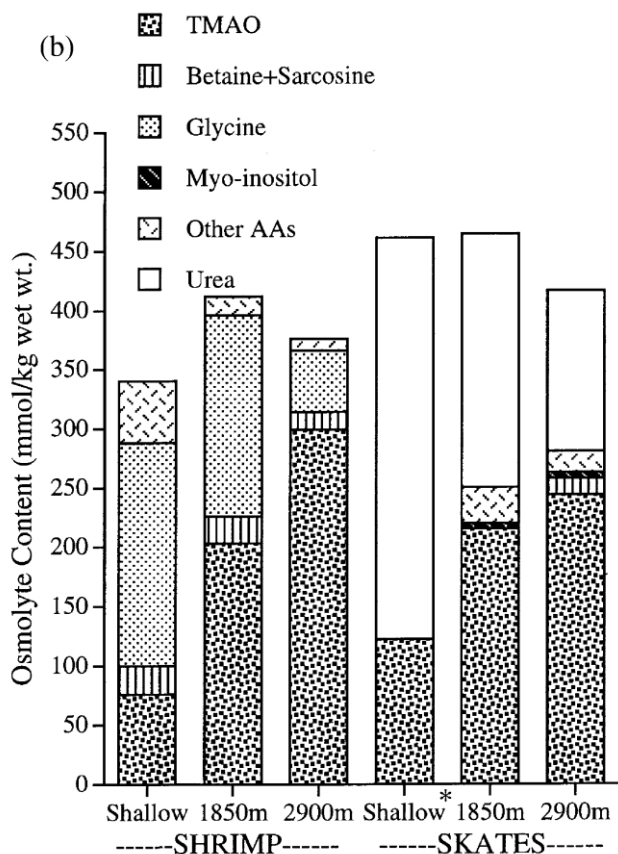


Рис. 3. Типи молекул осмолітів, присутні в клітинах м'язів креветок і скатів, які мешкають на різних глибинах. Де: по осі ОУ - концентрація осмолітів різних типів, (Osmolyte Content, mmol/kg wet wt); ТМАО - триметиламін-N-оксид; Betaine + Sarcosine - бетаїн + саркозин; Glycine - гліцин; Myo-inositol - міоінозитол; Other AAs - інші амінокислоти; Urea - сечовина; по осі ОХ - глибина проживання морських тварин, м; SHRIMP - креветки; SKATES - скати; Shallow - мілководні умови проживання (Yancey et al., 2002).

Завдання 2. Вплив амінокислотної послідовності на стійкість білків глибоководних організмів до високого гідростатичного тиску. Відомо, що високий гідростатичний тиск здатний викликати денатурацію білків - тобто призводити до порушень їх структури і, відповідно, функцій. Сьогодні високий тиск використовується в сучасних технологіях низькотемпературної стерилізації продуктів, оскільки викликає загибель патогенних мікроорганізмів.

Як мешканці глибоководних зон океану виживають при дії високого гідростатичного тиску, створюваного водою? Молекулярні дослідження показали, що в молекулах білків глибоководних мешканців відбулися амінокислотні заміни, які захищають білки від пошкодження високим тиском.

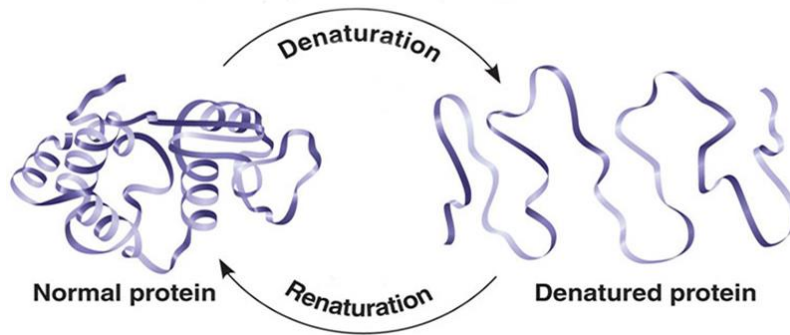


Рис. 4. Схема, яка відображає процеси денатурації (втрати структури) і ренатурації (відновлення структури) молекули білка (за <https://www.biologicscorp.com/protein-refolding/#.XDRVwdIzaM8>). Денатурацію білка можуть викликати високі температури, високий тиск, дія деяких хімічних речовин і т.н.

Nishiguchi Y. з колегами (2010) вивчали фермент лактатдегідрогеназу, виділену з клітин глибоководних (*Eptatretus okinoseanus*) і мілководних (*Eptatretus burgeri*) риб піявкоротів.



Рис. 5. Мілководна риба японський піявкоріт (*Eptatretus burgeri*). Клас Міксини (за <http://www.fishbiosystem.ru/cyclostomata/Myxinidae/>).

Отримані результати наведені на рисунках 6-8 (Nishiguchi et al., 2010).

1) Використовуючи дані, наведені на рисунку 6, вкажіть рівень активності ферменту лактатдегідрогенази при тиску 40 МПа, виділеного з клітин глибоководних риб сакагамських піявкоротів (*E. okinoseanus*) _____ і з клітин мілководних риб японських піявкоротів (*E. burgeri*) _____.

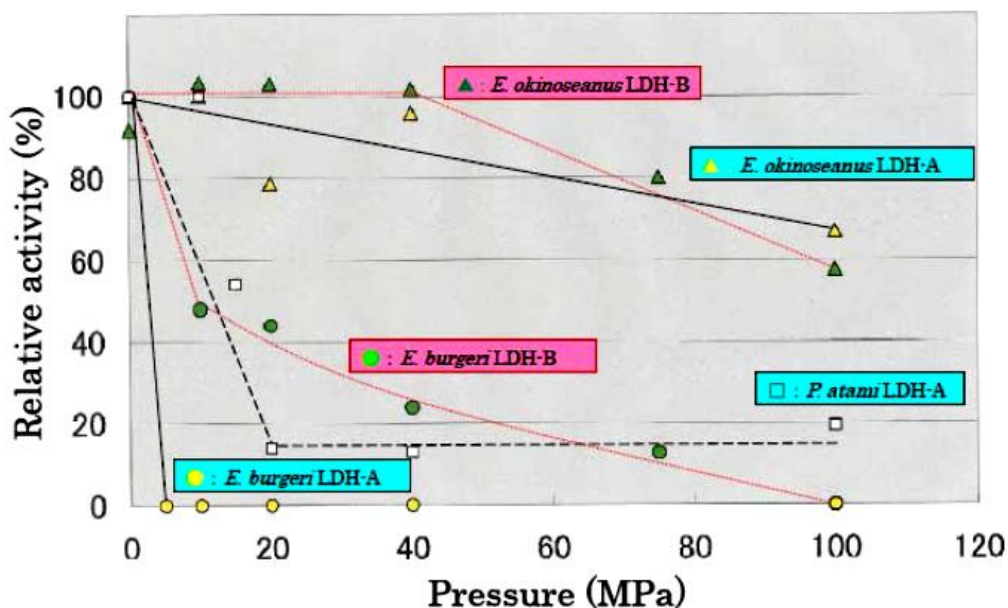


Рис. 6. Вплив гідростатичного тиску на активність ферменту лактатдегідрогенази, виділеного з клітин риб *E. okinoseanus*, *E. burgeri* і *P. atami*. Де: по осі ОУ - відносна активність ферменту лактадегідрогенази, % (Relative activity,%); по осі ОХ - величина гідростатичного

тиску, МПа, (Pressure, MPa); LDH-A, LDH-B - ізоформи А і В ферменту лактатдегідрогенази (за Nishiguchi et al., 2010).

2) Чому фермент, виділений з клітин японського піявкорота (*E. burgeri*), інактивується при високому тиску, тоді як фермент з клітин сакагамського піявкорота (*E. okinoseanus*) – залишається активним? _____

3) Аналіз послідовності амінокислот, з яких складається фермент лактатдегідрогеназа, показав відмінності по шести амінокислотах між ферментами мілководних і глибоководних піявкоротів (див. рис. 7-8). На підставі отриманих даних, поясніть причину різної стійкості ферменту лактадегідрогенази до підвищення тиску у мілководних і глибоководних риб піявкоротів _____

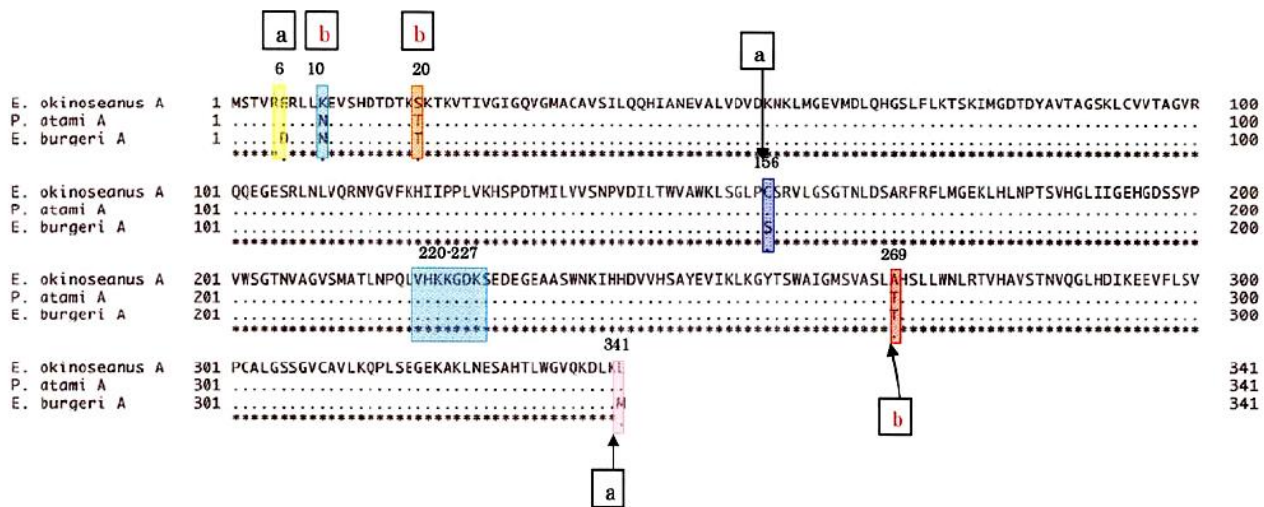


Рис. 7. Відмінності в послідовності амінокислот ферменту лактатдегідрогенази, виділеного з клітин глибоководних піявкоротів (*E. okinoseanus*) і мілководних піявкоротів (*E. burgeri*) (за Nishiguchi et al., 2010).

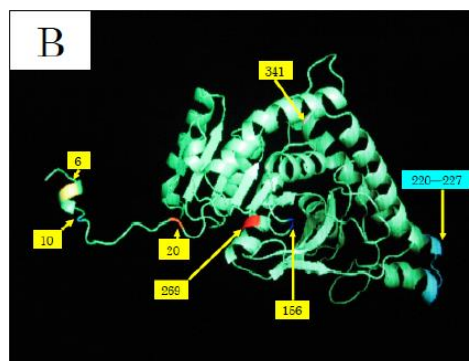


Рис. 8. Тривимірна структура ферменту лактатдегідрогенази риб піявкоротів. На схемі вказані амінокислотні залишки в положеннях 6, 10, 20, 156, 269 і 341 (жовті прямокутники), які відрізняються між трьома видами риб класу Міксини; а також регіон 220-227 (блакитний прямокутник), специфічний для риб класу Міксини (за Nishiguchi et al., 2010).

*NB! В активному стані лактатдегідрогеназа складається з чотирьох білкових субодиниць. Подальші дослідження, проведені Nishiguchi Y. з колегами (2011), показали, що після інактивації високим тиском - робота лактатдегідрогенази відновлюється при поверненні розчину до вихідного тиску 0,1 МПа. Виявилось, що у глибоководних риб *Eptatretus okinoseanus* тетрамерна структура даного ферменту не змінюється при тиску в 50

МПа. Тоді як у приповерхневого виду - тетрамери дисоціюють на димери і мономери при тиску 50 МПа і знову формують тетрамери при тиску в 0,1 МПа. Таким чином, причиною інактивації ферменту при високому тиску є дисоціація тетрамерів. Відмінності залежать від 6 - 10 амінокислот в послідовності ферменту. Більш високий тиск призводить до поступової інактивації ферменту також і у глибоководних риб *Eptatretus okinoseanus* внаслідок пошкодження внутрішньої структури білка (Nishiguchi et al., 2011). У інших глибоководних організмів знайдено амінокислотні заміни, які не тільки захищають четвертинну структуру білка (взаємне розташування різних білкових субодиниць), але також забезпечують стабільність внутрішньомолекулярної структури білка в умовах високого гідростатичного тиску (Lan et al., 2017; Lemaire et al., 2018).

Завдання 3. Облігатні барофіли. Організми, які можуть жити деякий час на великих глибинах, при досить високому рівні гідростатичного тиску, але краще себе почувають в приповерхневих водах - відносяться до групи баротолерантних організмів. Організми, які добре себе почувають на великих глибинах, а при підйомі до поверхні впадають в стан анабіозу, відносяться до групи облігатних барофілів. До облігатних барофілів зазвичай відносять організми, які постійно мешкають на глибинах більше 3500 м.

Проведені дослідження показали, що у облігатних барофілів відбулися амінокислотні заміни в білках, які дозволяють цим білкам нормально працювати в умовах дуже високого гідростатичного тиску. В умовах нормального тиску – такі білки виявляються не функціональними і організм впадає в анабіоз.

Kato С. з колегами (1998) з проб, піднятих з глибини 11 км в Маріанській западині, ізолювали два види бактерій - облігатних барофілів. Аналіз ДНК показав, що один з видів - це бактерії, найближчі родичі *Shewanella benthica*, (лінія DB21MT-2), а другий вид - відноситься до роду *Moritella* (лінія DB21MT-5).



Рис. 9. Географічне положення Маріанської западини в Тихому океані (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

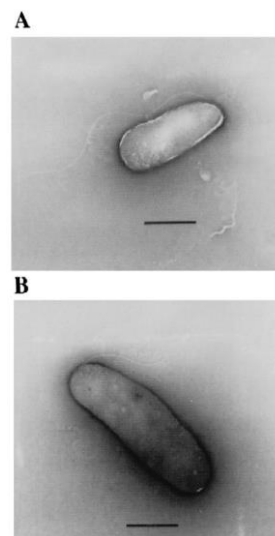


Рис.10. Електронна мікрофотографія бактерій, ізолюваних з проб з глибини 11 км Маріанської западини. Де: А - лінія DB21MT-2; В - лінія DB21MT-5. 1 бар = 1 мм (Kato et al., 1998).

Результат вивчення швидкості росту цих бактерій при різних значеннях гідростатичного тиску наведені на рисунку 11 (Kato et al., 1998).

1) Використовуючи дані рисунка 11, вкажіть, при яких значеннях гідростатичного тиску відбувався ріст колоній бактерій - екстремальних барофілів з проб з глибини 11 км Маріанської западини _____.

2) Яким глибинам дна океану відповідають дані величини гідростатичного тиску? Для відповіді на це питання скористайтеся формулою:

Величина тиску (атм) = Глибина (в метрах) : 10 + 1. Наприклад, на глибині 2,3 км величина гідростатичного тиску складе: $2300 \text{ м} : 10 + 1 = 231 \text{ атм}$. _____

*NB! Перехід від паскалей до атмосфер: $1 \text{ атм} = 101325 \text{ Па}$. Перехід від мегапаскалей до паскалей: $1 \text{ МПа} = 1\,000\,000 \text{ Па}$

Наприклад: $40 \text{ МПа} - \text{это } 40\,000\,000 \text{ Па}$,

Тоді в атмосферах = $\frac{40\,000\,000 \text{ Па}}{101325 \text{ Па}} \cdot 1 \text{ атм} = 394,8 \text{ атм}$.

Глибина в метрах : $10 + 1 = 394,8 \text{ атм}$, звідки глибина 3938 м або 3,9 км.

3) Вкажіть, при якій величині гідростатичного тиску ріст колоній глибоководних бактерій повністю припинявся: _____.

4) Яким глибинам океану відповідають дані значення гідростатичного тиску? _____.

5) Поясніть, чому ріст бактерій, відібраних в пробах з Маріанської западини (11 км), припиняється при низькому тиску навколишнього середовища? _____

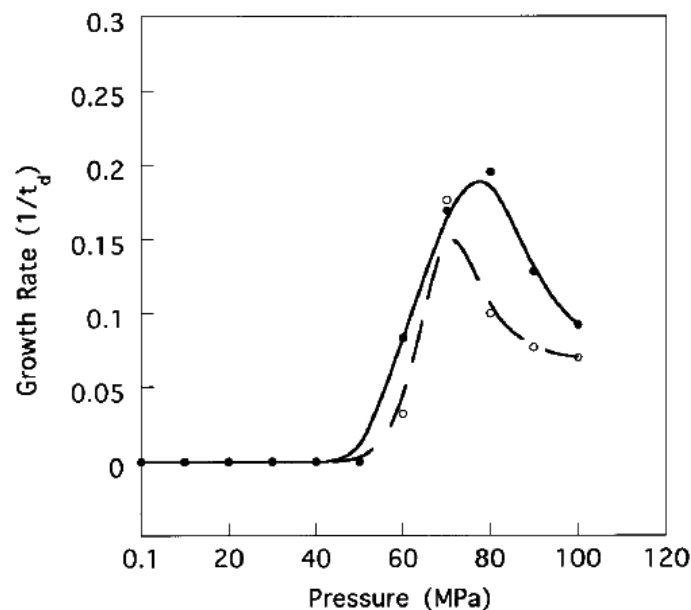


Рис. 11. Швидкість росту бактерій - екстремальних барофілів, з проб, взятих на глибині 11 км з Маріанської западини, при різних значеннях гідростатичного тиску навколишнього середовища. Де: по осі ОУ - швидкість росту бактерій, (час подвоєння колоній, години) (Growth Rate, 1/td); по осі ОХ - величина гідростатичного тиску навколишнього середовища, МПа (Pressure, MPa); пунктирною лінією вказана лінія бактерій DB21MT-2; суцільною лінією вказана лінія бактерій DB21MT-5 (Kato et al., 1998).

Контрольні питання:

1) Як обчислити величину гідростатичного тиску на різних глибинах?

2) Як організми адаптуються до швидкого зниження або підвищення тиску навколишнього середовища?

- 3) Як організми адаптуються до тривалого зниження або підвищення тиску навколишнього середовища?
- 4) Які функції в клітинах виконують молекули органічних осмолітів?
- 5) Якими є основні механізми адаптації глибоководних мешканців до високого гідростатичного тиску навколишнього середовища?
- 5) Баротолерантні організми і організми облігатні барофіли.

Література:

Kato C., Li L., Nogi Y., Nakamura Y., Tamaoka J., Horikoshi K. Extremely barophilic bacteria isolated from the Mariana Trench, Challenger Deep, at a depth of 11,000 meters // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1998. – Vol. 64(4). – P. 1510 - 1513.

Lan Y., Sun J., Tian R., Bartlett D.H., Li R., Wong Y.H., Zhang W., Qiu J.W., Xu T., He L.S., Tabata H.G., Qian P.Y. Molecular adaptation in the world's deepest-living animal: Insights from transcriptome sequencing of the hadal amphipod *Hirondellea gigas* // *Mol. Ecol.* – 2017. – Vol. 26(14). – P. 3732 - 3743. doi: 10.1111/mec.14149.

Lemaire B., Karchner S.I., Goldstone J.V., Lamb D.C., Drazen J.C., Rees J.F., Hahn M.E., Stegeman J.J. Molecular adaptation to high pressure in cytochrome P450 1A and aryl hydrocarbon receptor systems of the deep-sea fish *Coryphaenoides armatus* // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2018. – Vol. 1866(1). – P. 155 - 165. doi: 10.1016/j.bbapap.2017.06.026.

Nishiguchi Y., Abe F., Okada M. Different pressure resistance of lactate dehydrogenases from hagfish is dependent on habitat depth and caused by tetrameric structure dissociation // *Mar. Biotechnol. (NY)*. – 2011. – Vol. 13(2). – P. 137 - 141. doi: 10.1007/s10126-010-9299-6.

Nishiguchi Y., Ito N., Okada M. Structure and function of lactate dehydrogenase from hagfish // *Mar. Drugs*. – 2010. – Vol. 8(3). – P. 594 - 607. doi: 10.3390/md8030594.

Yancey P.H. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses // *J. Exp. Biol.* – 2005. – Vol. 208(Pt 15). – P. 2819 - 2830.

Yancey P.H., Blake W.R., Conley J. Unusual organic osmolytes in deep-sea animals: adaptations to hydrostatic pressure and other perturbants // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* – 2002. – Vol. 133(3). – P. 667 - 676.

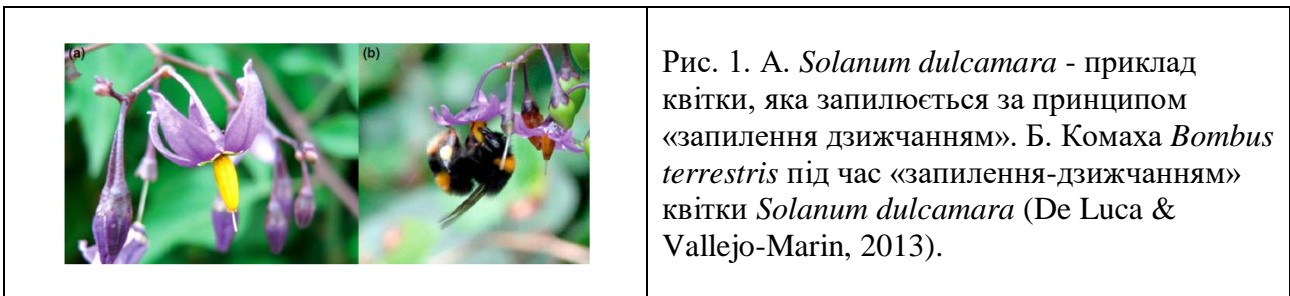
Тема 5. Звуки, інфразвуки, ультразвуки і вібрації навколишнього середовища

5.1. Практична робота

Завдання 1. Рослини розрізняють вібрації, що створюються гризучими комахами.

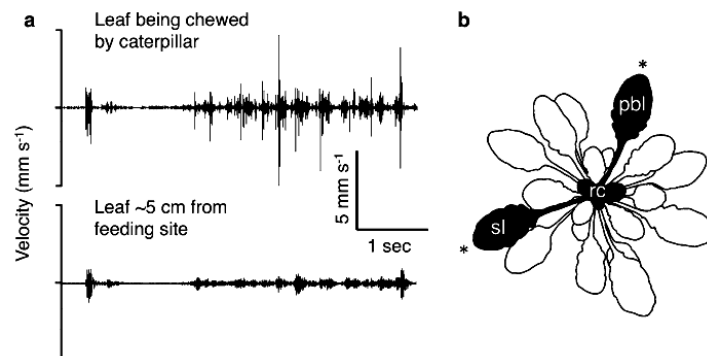
Рослини ведуть малорухливий спосіб життя, що сприяє максимальному розвитку у них сенсорних систем, які реагують на дію різних факторів навколишнього середовища і дозволяють рослинам адаптуватися до мінливих умов проживання. Недавні дослідження показали, що рослини здатні змінювати енергію проростання насіння, інтенсивність росту коренів і пагонів, характер обміну речовин у відповідь на дію звуків, інфразвуків, ультразвуків і вібрацій навколишнього середовища.

Наприклад, відомо, що багато видів рослин обмежують доступ комах до свого пилку. Тому, комахи-запилювачі використовують вібрації для вилучення пилку з пиляків (т.зв. «запилення дзижчанням»). Запилення дзижчанням з'являлося багато разів незалежно в різних ліній рослин і у різних ліній комах. Вчені припускають, що запилення дзижчанням розвивалося в результаті загострення конкуренції між рослинами і комахами, що споживають пилок (включаючи викрадачів пилку і справжніх запилювачів), щоб контролювати швидкість видалення пилку з квітів (De Luca & Vallejo-Marin, 2013).



Appel Н.М. і Cocrift R.B. (2014) було показано, що вібрації, які створюються гризучими комахами, здатні активувати у рослин хімічну захисну відповідь. Так, якщо провести передобробку рослин арабідопсиса *Arabidopsis thaliana* (L.) вібраціями обгризання, які створює гусениця, що харчується, і потім підсадити на ці рослини живих гусениць *Pieris rapae* (L.) – то це призводить до розвитку більш сильної захисної відповіді у передоброблених рослин порівняно з рослинами, які не піддавалися передобробці вібраціями обгризання.

Більше того, дослідження показали, що рослини здатні розрізняти вібрації, які створюються обгризанням порівняно з вібраціями вітру або співу комах. Таким чином, отримані дані свідчать про те, що рослини здатні вибірково і спрямовано відповідати на вібрації, які генеруються різними джерелами (Appel & Cocrift, 2014).



Відомо, що у відповідь на обгризання листя комахами рослини арабідопсиса синтезують два типи захисних хімічних речовин - глюкозинолати і антоціаніни. Appel H.M. і Coscroft R.B. (2014) піддавали рослини арабідопсиса впродовж 2 годин передобробці вібраціями обгризання (приладовий запис з реальних рослин, що обгризаються гусеницями). А потім на передоброблені та не передоброблені вібраціями обгризання рослини посадили гусениць і через 24 год та 48 год в листях експериментальних рослин перевірили рівень синтезу захисних речовин. Результати проведених досліджень наведені на рисунках 3-4.

1) Використовуючи дані, наведені на рисунку 3, вкажіть рівень синтезу аліфатичних глюкозинолатів в клітинах рослин арабідопсиса, що не піддавалися передобробці вібраціями обгризання _____ і тих, що піддавалися вібраціям обгризання _____.

*NB! На прикладі листа, на який в процесі попередньої обробки безпосередньо діяли вібраціями обгризання (Playback leaf).

2) Як вплинула попередня обробка рослин арабідопсиса вібраціями обгризання на синтез ними захисних речовин? _____.

3) Поясніть, яким чином вібрації харчування гусениці могли посилити захисну відповідь рослин арабідопсиса, в порівнянні з рослинами, які не експонувалися попередньо на вібраціях обгризання? _____.

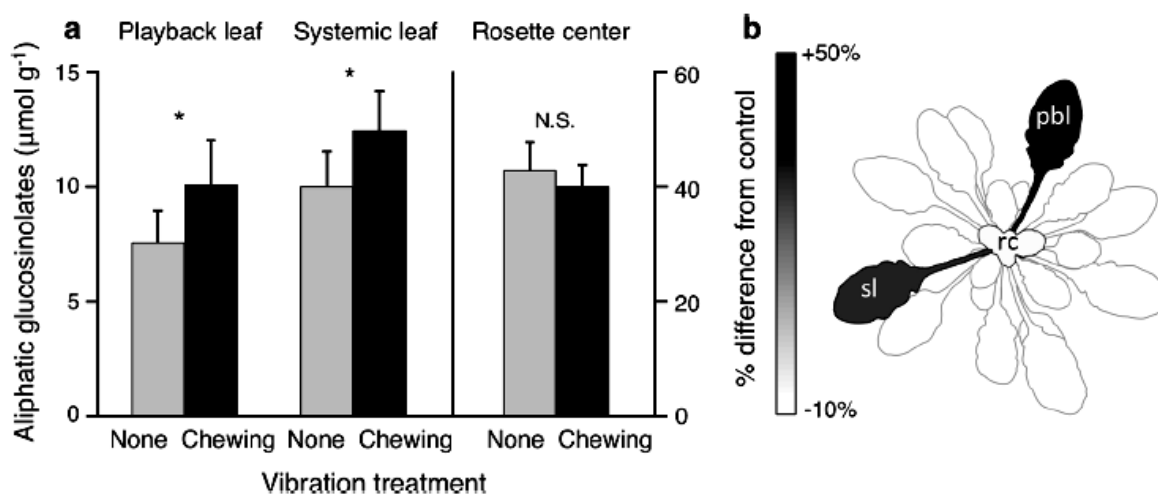


Рис. 3. Вплив вібрацій обгризання на рівень синтезу рослинами арабідопсиса аліфатичних глюкозинолатів - речовин, що захищають рослини від обгризання комахами. Де: по осі ОУ - концентрація аліфатичних глюкозинолатів, що захищають рослину від обгризання комахами, (Aliphatic glucosinolates, µmol/g); по осі ОХ - обробка вібраціями, Vibration treatment; None - контроль, відсутність дії вібрацій обгризання перед підсаджуванням гусениці; Chewing - попередня обробка рослин арабідопсиса вібраціями обгризання; Playback leaf - лист, на який безпосередньо діяли вібраціями обгризання; Systemic leaf - лист, віддалений на 5 см від листа, на який діяли вібраціями; Rosette center - центральний розетковий лист арабідопсиса, використаний в даному експерименті (Appel & Coscroft, 2014).

4) Використовуючи дані рисунка 4, вкажіть середні значення вмісту антоціанінів, речовин що захищають рослини від обгризання комахами, в рослинах арабідопсиса, які не пройшли передобробку вібраціями обгризання _____ і в рослинах, які пройшли таку передобробку _____.

5) Як вплинула попередня обробка вібраціями обгризання на рівень синтезу захисних речовин рослинами арабідопсиса? _____.

6) Вкажіть середні значення вмісту антоціанінів в клітинах рослин арабідопсиса, які пройшли попередню обробку вібраціями або шлюбної пісні коника _____, або вітровими вібраціями _____.

7) Чи підвищила передобробка вібраціями вітру або шлюбної пісні коника рівень стійкості рослин арабідопсиса до обгризання комахами? _____.

8) Чи підтверджують результати даного експерименту вибірковість відповіді рослин на вібрації різного типу? _____.

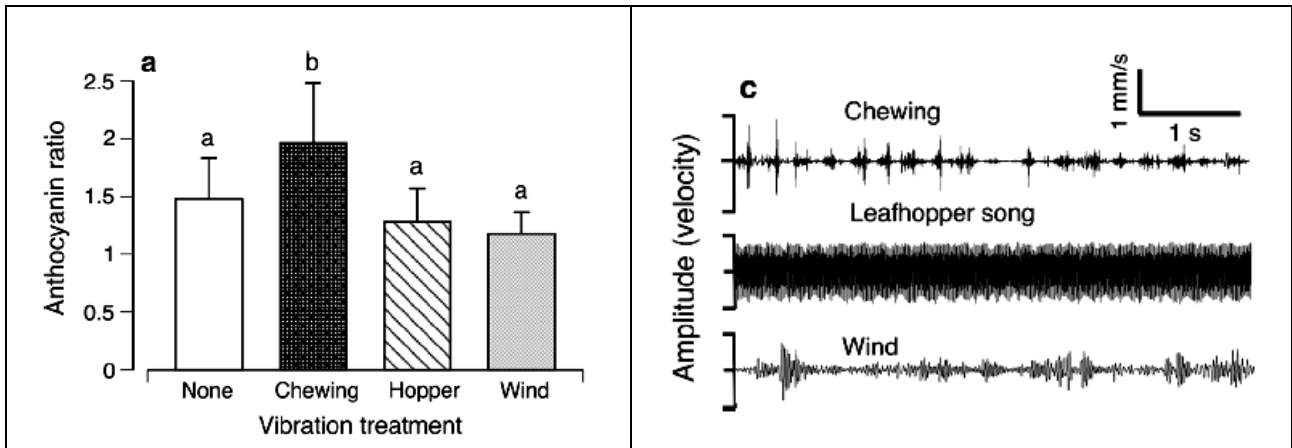


Рис. 4. А. Вплив вібрацій різного походження на синтез рослинами арабідопсиса антоціанінів - речовин, що захищають рослини від обгризання. Де: по осі ОУ - рівень антоціанінів після обгризання комахами по відношенню до рівня антоціанінів до обгризання комахами, (Anthocyanin ratio); по осі ОХ - характер вібраційної передобробки рослин арабідопсиса, (Vibration treatment); None - відсутність передобробки рослини вібраціями; Cheewing - попередня обробка рослин вібраціями обгризання; Hopper - попередня обробка рослин вібраціями шлюбної пісні коника; Wind - попередня обробка рослин вібраціями вітру. *NB! Тільки для передобробки вібраціями обгризання показані статистично достовірні відмінності в зростанні рівня антоціанінів в клітинах рослин арабідопсиса. С. Вібраційні хвилі різного походження. Де: Chewing - вібрації, що створюються гусеницями *P. rapae* під час обгризання листя арабідопсиса; Leafhopper song - вібрації, що створюються під час шлюбного співу коника; Wind - вібрації, що створюються вітром. Хвилі обгризання і шлюбного співу коників мають близький спектр за амплітудою, проте - відрізняються за часовими характеристиками розподілу хвиль (Appel & Coscroft, 2014).

Завдання 2. Звуковий вплив підвищує стійкість рослин до стресових умов середовища в результаті активування генів, що відповідають за захист рослин.

Lopez-Ribera I. і Vicient С.М. (2017) піддали 6-тижневі рослини арабідопсиса (*Arabidopsis thaliana*) впливу білого шуму інтенсивністю 100 дБ тривалістю 10 годин на добу протягом тижня. *NB! Білий шум - це шум, створюваний звуками різної частоти. При цьому контрольні рослини росли в тиші. Полив був припинений на початку звукового впливу на рослини. Через 2 тижні посухи полив рослин відновили. І через тиждень після відновлення поливу - підраховували кількість рослин, що вижили. Отримані дані наведені на рисунку 5.

1) Використовуючи дані, наведені на рисунку 5, вкажіть відсоток контрольних рослин, що вижили в умовах посухи (тобто тих рослин, які не піддавалися дії шуму) _____ і експериментальних рослин, які під час посухи піддавалися дії шуму _____.

2) Як вплинув шум на виживання рослин арабідопсиса в умовах посухи? _____.

3) Аналіз роботи генів рослин арабідопсиса після 10 годин впливу шумом інтенсивністю 100 дБ показав, що дія звуків посилила роботу 87 генів і знизила роботу 2 генів рослин. При цьому з 87 генів, активність яких підвищилася у відповідь на дію шуму, 44 гена залучені у відповідь рослин на стреси різної природи (абіотичні стреси, атака патогенів і т.н.), тоді як функції інших 22 генів - не відомі. Виходячи з результатів аналізу роботи генів рослин арабідопсиса після звукового впливу - зробіть висновок про те, чому рослини, на які діяли шумом, краще вижили в умовах посухи _____.

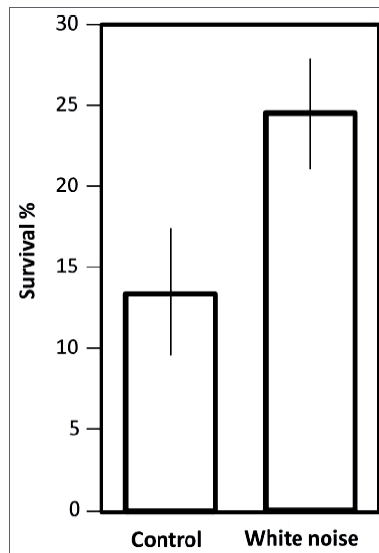


Рис. 5. Вплив експозиції на білому шумі на виживання рослин арабідопсиса в умовах посухи. Де: по осі ОУ - % рослин, що вижили в умовах посухи, (Survival,%); по осі ОХ - варіанти експерименту: Control - контрольні рослини, які не піддавалися дії білого шуму; White noise - експериментальні рослини, на які діяли білим шумом (Lopez-Ribera & Vicient, 2017).

4) Дослідження, проведені Chen Y.P. з колегами (2013), показали, що попередня обробка ультразвуком намоченого насіння пшениці - підвищує стійкість проростків до важких металів (кадмію і свинцю). А в роботі Choi В. з колегами (2017) було встановлено, що попередня обробка звуками підвищує стійкість рослин арабідопсиса до інфікування *Botrytis cinerea*. Поясніть, як попередній вплив звуками і ультразвуками може підвищити стійкість рослин до патогенів та важких металів? _____

Завдання 3. Роль вібрацій і звуків в просторовій орієнтації коренів рослин в процесі пошуку води. Дослідження, проведені Gagliano M. з колегами (2012), показали, що в процесі росту корені проростків кукурудзи орієнтуються у напрямку до джерела звуку (Gagliano et al., 2012). Згинання коренів сприяють звуки певної частоти (див. рис. 6 Б).

При цьому авторами дослідження було показано, що корені проростків кукурудзи генерують акустичні хвилі, функціональна роль яких залишилася незрозумілою (див. рис. 6 С) (Gagliano et al., 2012).

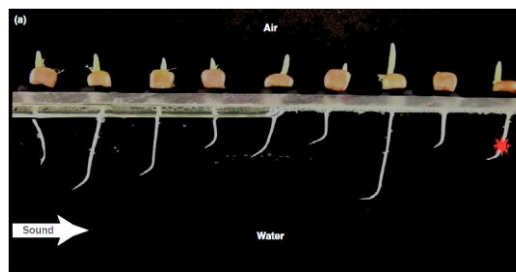


Рис. 6. А. Вигин коренів проростків кукурудзи у напрямку до джерела звуку (Gagliano et al., 2012).

Подальші дослідження, проведені Gagliano M. з колегами (2017), дозволили встановити екологічну роль здатності коренів сприймати звуки і вібрації, що поширюються в ґрунтовому горизонті. Серія експериментів з проростками кукурудзи, які розвиваються в умовах відсутності в ґрунті градієнта зволоження і наявності дії звукових вібрацій води, яка рухається в ґрунті, показала, що корені здатні сприймати звуки і вібрації, що створюються

водою, і змінювати напрямок свого росту до джерела води (т.зв. гідротропізм) (Gagliano et al., 2017).

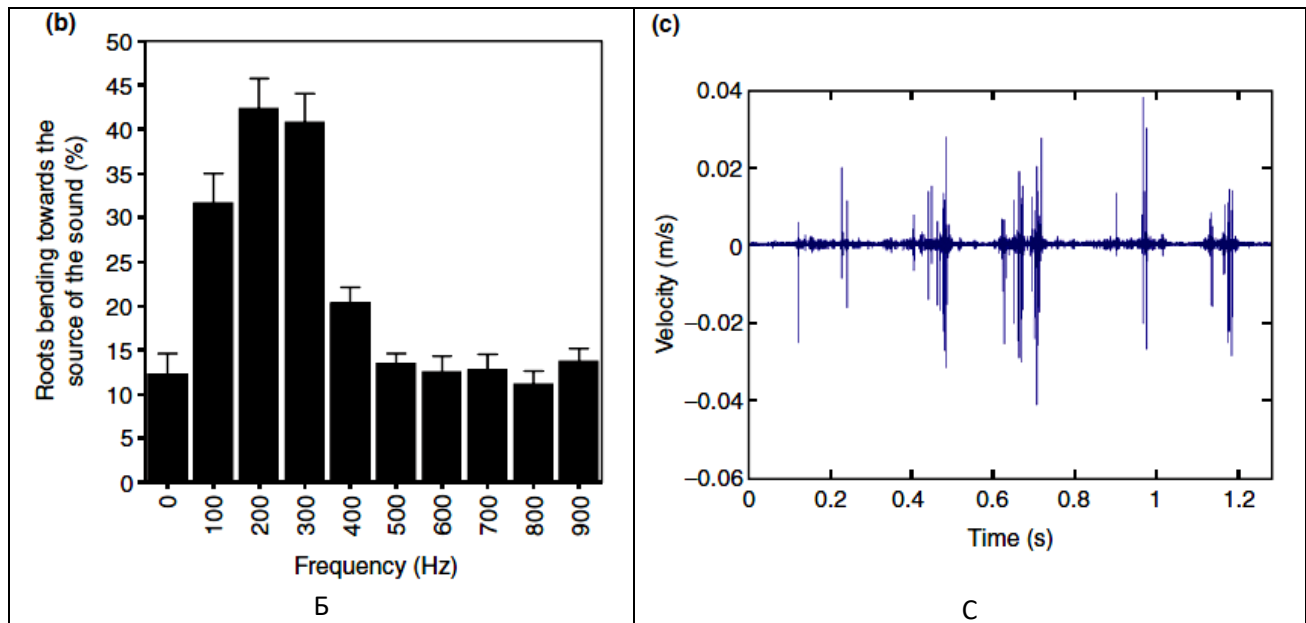


Рис. 6. Б. Вплив частоти звуків на вигин коренів проростків кукурудзи у напрямку до джерела звуку. Де: по осі ОУ - % проростків з вигином коренів у напрямку до джерела звуку, (Roots bending towards the source of the sound,%); по осі ОХ - частота звуків, використаних в ході експерименту, Гц (Frequency, Hz) (Gagliano et al., 2012).

Рис. 6. С. Акустичні мікрохвилі, які генерують корені проростків кукурудзи (Gagliano et al., 2012).

Робота вчених дозволила пояснити феномен, який тривалий час залишався незрозумілим: системи муніципальних відводів у всіх країнах світу зазнають великих збитків через проростання коренів в труби з проточною водою і їх закупорку (Randrup et al., 2001; Ostberg et al., 2012 ; Xie et al., 2014). При цьому проростання відбувається в цілі труби, які не мають витоків води і, таким чином, не створюють градієнт зволоження в ґрунтах.

Встановлення того факту, що корені рослин здатні сприймати звуки води, яка тече, і змінювати напрямок свого росту до джерела звуку - дозволило не тільки пояснити означене явище, але й розробити досить прості рекомендації для вирішення цієї проблеми, які полягають у використанні звукоізолюючих матеріалів навколо водовідних труб (Gagliano et al., 2017).

Схема експериментів, проведених Gagliano M. з колегами (2017), включала різні варіанти впливу на корені проростків кукурудзи, які описані в таблиці 1 і наведені на рисунках 7 А-С.

Таблиця 1. Типи експериментального впливу на корені проростків кукурудзи в одному з колін У-образної експериментальної ємності (Gagliano et al., 2017).

Шифр експерименту:	Тип впливу на проростки кукурудзи в одному з колін У-образної ємності:
WTR	- в одному з колін У-образної ємності в ґрунті був створений градієнт зволоження за рахунок 100 мл води в прозорому пластиковому контейнері під У-тестовою посудиною;
WTR-PIPE	- у проростків немає доступу до реальної води, проте навколо одного з колін У-образної ємності були намотані пластикові трубки, по яких за допомогою акваріумного насоса прокачувалася вода;
WTR-REC	- до одного з колін У-образної експериментальної ємності був

	приєднаний вібруючий мікродинамік, виведений на MP3 плеєр, який програвав запис звуків води, яка тече;
NOISE	- або запис білого шуму, що генерується комп'ютером;
ZERO HZ	- або MP3 плеєр був включений на режим нульового звуку;
NOTHING	- варіант повної відсутності будь-якого впливу.

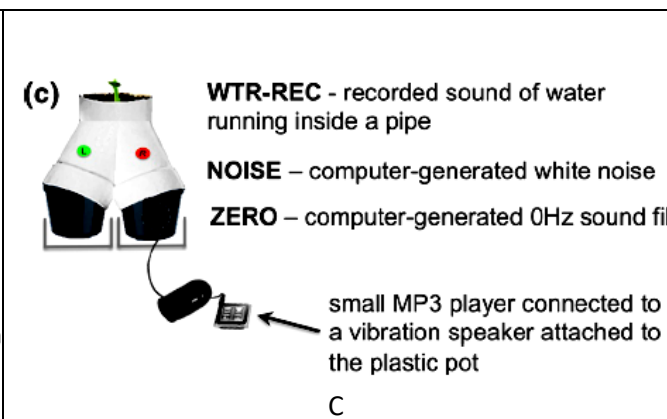
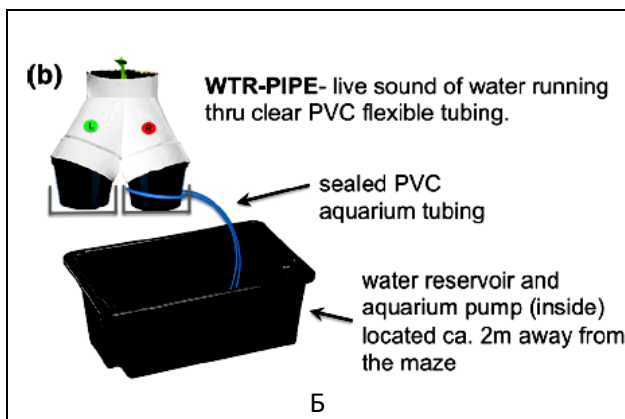
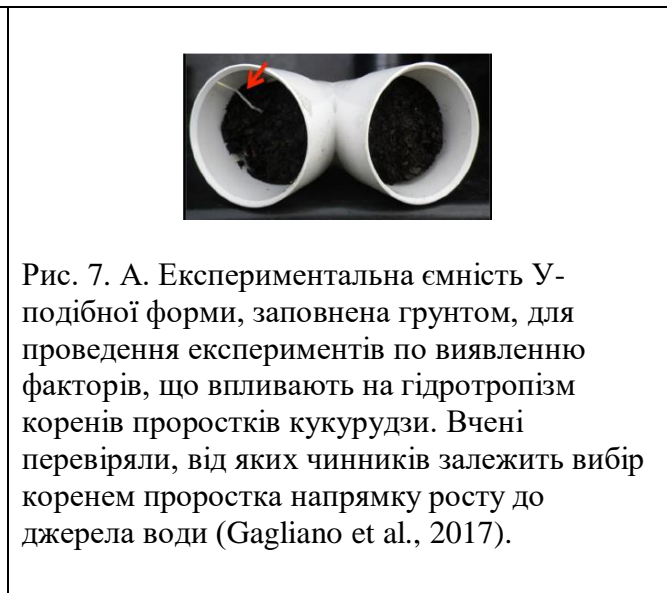
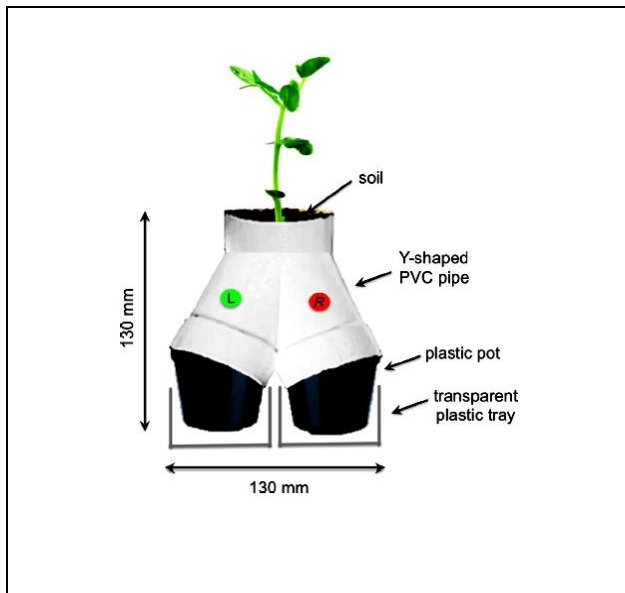


Рис. 7. Б. Схема експерименту: до одного з колін У-образної експериментальної ємності були приєднані пластикові трубки, по яких за допомогою акваріумного насоса прокачувалася вода (варіант WTR-PIPE); С - до одного з колін У-образної експериментальної ємності був приєднаний вібруючий мікродинамік, виведений на MP3 плеєр, який програвав або запис води, що тече (варіант WTR-REC), або запис білого шуму (варіант NOISE), або був включений на режим нульового звуку (варіант ZERO HZ) (Gagliano et al., 2017).

Результати проведених експериментів представлені графічно на рисунку 8. Використовуючи дані рисунка 8, дайте відповіді на наступні питання:

- 1) В якому напрямку переважно росли корені проростків кукурудзи в варіанті «WTR - NOTHING»? _____.
- 2) В якому напрямку переважно росли корені проростків кукурудзи в варіанті «WTR-PIPE - NOTHING»? _____.
- 3) Згідно з даними експерименту - відповідь коренів на градієнт зволоження (WTR) і на воду, яка реально біжить по трубах (WTR-PIPE), - був рівноцінним або корені надавали перевагу якомусь певному типу сигналу? _____.

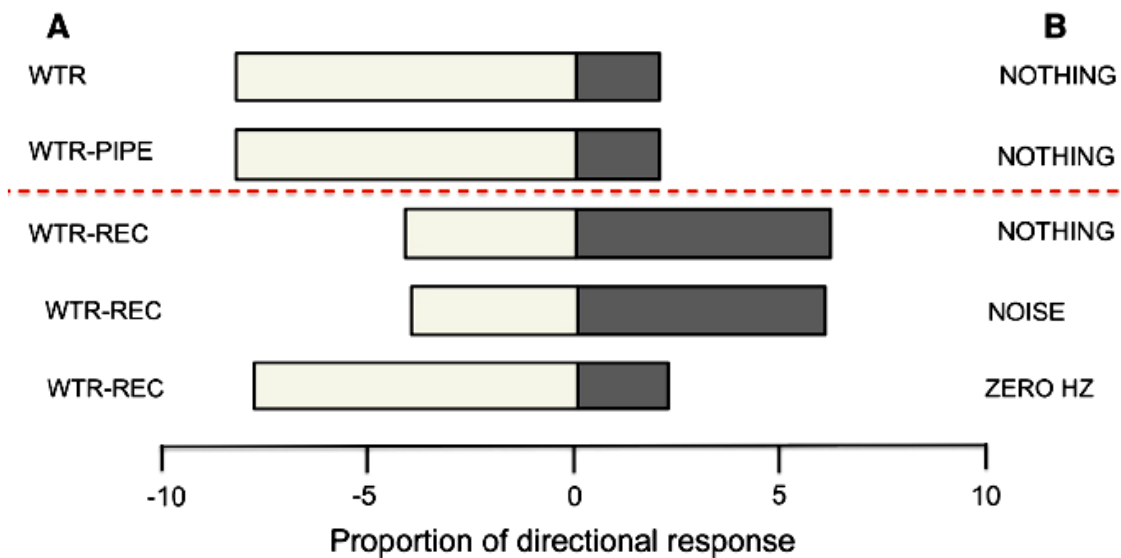


Рис. 8. Схематичне зображення результатів експериментів Gagliano M. з колегами (2017) (зі скороченнями). У кожному з тестованих варіантів досліджувалося по 10 проростків кукурудзи. Стопчики гістограм вказують кількість проростків, корені яких вибрали той чи інший напрямку росту (Gagliano et al., 2017).

4) У наступному експериментальному блоці - на корені проростків кукурудзи через приєднаний до пластикового контейнеру мікродинамік діяли записами звуків води, що тече (варіант WTR-REC), записами білого шуму (варіант NOISE) або MP3 плеєр був включений на режим нульового звуку (варіант ZERO HZ). Крім того, одним з варіантів була повна відсутність будь-якого впливу (варіант NOTHING).

В якому напрямку переважно росли корені проростків кукурудзи:

у варіанті «WTR-REC – ZERO HZ»? _____.

у варіанті «WTR-REC - NOISE»? _____.

7) Як Ви вважаєте, чому в варіанті «WTR-REC - ZERO HZ» корені переважно росли в напрямку джерела звуків поточної води, тоді як у варіанті «WTR-REC - NOISE» вибір коренями проростків напрямку росту був утруднений? _____

8) Як Ви вважаєте, чому в варіанті «WTR-REC - ZERO HZ» корені переважно росли в напрямку запису звуку, який створює вода, що тече, тоді як у варіанті «WTR-REC - NOTHING» - корені росли в напрямку відсіку експериментальної ємності, в якому був відсутній будь-який вплив на корені? *NB! Для відповіді на це питання згадайте, що будь-який прилад створює навколо себе електромагнітне поле, навіть перебуваючи в вимкненому режимі. А корені, будучи органом підземним, ростуть у напрямку від джерела електромагнітного поля. _____

9) Як Ви вважаєте, чому в варіанті «WTR-PIPE - NOTHING» корені переважно росли у напрямку відсіку, до якого були приєднані трубки з водою, що біжить, тоді як у варіанті «WTR-REC - NOTHING» корені росли в напрямку відсіку, в якому був відсутній будь-який вплив на корені (а не в напрямку до джерела записаних звуків води, що тече)? *NB! Для відповіді на це питання також необхідно взяти до уваги той факт, що будь-який прилад створює навколо себе електромагнітне поле, навіть перебуваючи в вимкненому режимі. А корені, будучи органом підземним, ростуть у напрямку від джерела електромагнітного поля. _____

Завдання 4. Негативний вплив техногенних інфразвуків і ультразвуків на живі організми.

В природних умовах джерелами звуків, інфразвуків, ультразвуків і вібрацій є природні процеси. Найбільш інтенсивно пружні механічні хвилі стискання-розтягнення середовища впливають на екосистеми під час ураганів, землетрусів, штормів. За некатастрофічних умов - сильне шумове навантаження на екосистеми створює падаюча вода водоспадів.

Техногенними джерелами звуків, інфразвуків, ультразвуків і вібрацій є працююче промислове і побутове обладнання, рух транспорту, прокачування рідин по трубопроводах і т.н. Особливу небезпеку при цьому представляють інфразвуки і ультразвуки, оскільки з одного боку, вухо людини не здатне сприймати хвилі відповідної частоти, а з іншого боку - ці хвилі впливають на всі клітини і органи організму.

Біологічна дія інфразвуків і ультразвуків залежить від інтенсивності хвиль, їх частоти і тривалості впливу на організм і може бути як позитивною, так і негативною. У ряді робіт було показано, що біологічна дія інфразвуків і ультразвуків реалізується через їх вплив на роботу генів в клітинах.

Техногенні інфразвуки і ультразвуки, як правило, чинять негативний вплив на живі організми. Зокрема, інфразвуки від побутових і промислових приладів здатні викликати появу дратівливості, порушення сну, головні болі, порушення пам'яті, пізнавальних процесів і психо-емоційні розлади. Тривала дія інфразвуків призводить до порушень функціонування слухового аналізатора, до спазму судин і підйому артеріального тиску, до появи симптомів вібро-акустичної хвороби і т.н.

Вплив техногенних ультразвуків на організм людини викликає втрату слуху, призводить до появи симптомів занепокоєння, до порушення вибіркової проникності клітинних мембран і до загибелі клітин; в медицині проведення ультразвукової діагностики може викликати розриви в ДНК і, як наслідок, призводити до запуску програми на самознищення клітин.

Однією з серйозних сучасних екологічних і медичних проблем є робота вітроенергетичних установок, оскільки в процесі їх функціонування генеруються інтенсивні інфразвуки, які поширюються на значні відстані, проникають крізь стіни будинків і викликають численні скарги місцевого населення на головний біль, порушення сну, підвищену дратівливість і т.н. Більше того, дослідження екологів показали, що не тільки люди, але і тварини, що мешкають поблизу працюючих вітроенергетичних установок, знаходяться в стані хронічного стресу.

Дослідження, проведені Agnew R.C. з колегами (2016), показали, що вітрові турбіни, які розташовані на території Великої Британії, викликають хронічний стрес у борсуків (*Meles meles*), які мешкають на територіях в радіусі 1 км від вітрових установок. При цьому рівень стресованості борсуків оцінювали за рівнем гормону кортизолу в шерсті тварин (Agnew et al., 2016).



Рис. 9. Вітрові установки. Уельс. Велика Британія (https://en.wikipedia.org/wiki/Carno_wind_farm).



Рис. 10. Борсук європейський (*Meles meles*) (за <https://uk.wikipedia.org/wiki/>).

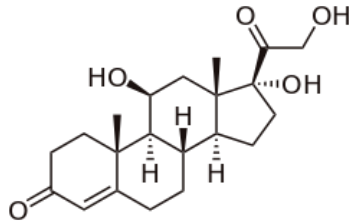


Рис. 11. Кортизол - стероїдний гормон, який бере участь в розвитку стресових реакцій організму. В умовах стресу його синтез посилюється (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Результати проведених досліджень наведені на рисунках 12 А-Б.

- 1) Використовуючи дані, наведені на рисунку 12А, вкажіть рівень гормону кортизолу в шерсті борсуків, що мешкають на відстані 10 км від вітрових турбін _____ і борсуків, які проживають в радіусі 1 км від місця розташування вітрових турбін _____.
- 2) У скільки разів рівень стресового гормону кортизолу вище в шерсті борсуків, що мешкають в радіусі 1 км від вітрових турбін порівняно з борсуками, що живуть на відстані більше 10 км _____.
- 3) Про що свідчить високий рівень гормону кортизолу в організмі борсуків, які мешкають в радіусі 1 км від вітрових установок? _____.
- 4) Чому інфразвуки від вітрових установок викликають розвиток стресової реакції у борсуків? _____.
- 5) Використовуючи дані рисунка 12Б, вкажіть середній рівень гормону кортизолу в організмі борсуків, що мешкають в радіусі 1 км від вітрових установок, за даними на 2009 рік _____ і за даними на 2012 рік _____.

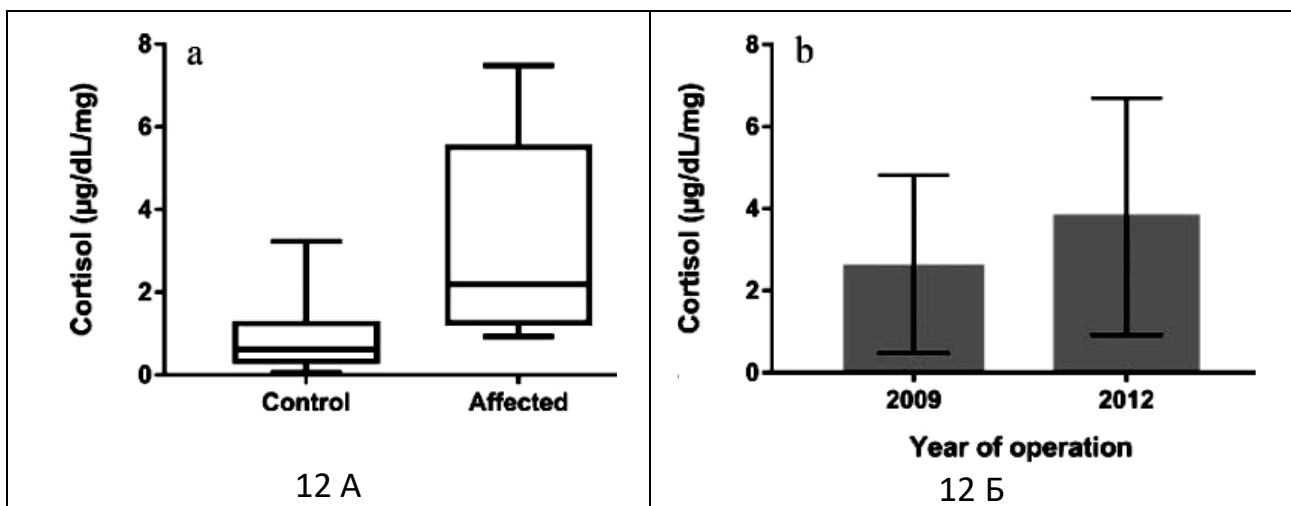


Рис. 12. А. Рівень кортизолу в шерсті борсуків Великої Британії, які мешкають на різній відстані від вітрових установок. Де: по осі ОУ - рівень кортизолу в шерсті борсуків, (Cortisol, mkg/dL/mg); Control - контрольні тварини, які проживають на значній відстані від вітрових установок, 10 км; Affected - тварини, які проживають в радіусі 1 км від вітрових установок (Agnew et al., 2016).

Рис. 12. Б. Зміни рівня кортизолу в шерсті борсуків, які проживають в радіусі 1 км від вітрових установок, за період 2009 - 2012 рр. Де: по осі ОУ - рівень кортизолу в шерсті борсуків, (Cortisol, mkg/dL/mg); Year of operation - роки проведення дослідження на даній території. *NB! Дані для 2009 і 2012 рр статистично не відрізняються (Agnew et al., 2016).

6) Статистичний аналіз не виявив достовірних відмінностей між даними за рівнем кортизолу в шерсті борсуків за 2009 р і 2012 р. Виходячи з цих результатів, як Ви вважаєте, чи справедливим є припущення, що з часом у тварин і у людей, які проживають недалеко від вітрових установок, сформується адаптація до інфразвуку від вітрових турбін? Поясніть свою відповідь. _____

7) До яких наслідків для тварин і людей, які проживають в районі дії вітрових турбін, може привести хронічний стрес, якщо відомо, що хронічний стрес, зокрема, знижує ефективність роботи імунної системи і репродуктивний успіх особин (здатність залишати потомство)? _____

Контрольні питання:

1. Природні і техногенні джерела пружних механічних хвиль в навколишньому середовищі.
2. Біологічна дія звуків, інфразвуків, ультразвуків і вібрацій на організми. Резонанс і гасіння хвиль.
3. Використання звуків, інфразвуків, ультразвуків і вібрацій живими організмами:
 - для спілкування один з одним;
 - для пошуку життєво важливих чинників проживання (їжі, води і т.н.).

Література:

- Agnew R.C., Smith V.J., Fowkes R.C. Wind Turbines Cause Chronic Stress in Badgers (*Meles meles*) in Great Britain // *J. Wildl Dis.* – 2016. – Vol. 52(3). – P. 459 - 467. doi: 10.7589/2015-09-231.
- Appel H.M., Cocroft R.B. Plants respond to leaf vibrations caused by insect herbivore chewing // *Oecologia.* – 2014. – Vol. 175. – P. 1257 – 1266, doi:10.1007/s00442-014-2995-6.
- Chen Y.P., Liu Q., Yue X.Z., Meng Z.W., Liang J. Ultrasonic vibration seeds showed improved resistance to cadmium and lead in wheat seedling // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* – 2013. – Vol. 20(7).- P. 4807 - 4816. doi: 10.1007/s11356-012-1411-1.
- Choi B., Ghosh R., Gururani M.A., Shanmugam G., Jeon J., Kim J., Park S.C., Jeong M.J., Han K.H., Bae D.W., Bae H. Positive regulatory role of sound vibration treatment in *Arabidopsis thaliana* against *Botrytis cinerea* infection // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7(1):2527. doi: 10.1038/s41598-017-02556-9.
- De Luca P.A., Vallejo-Marin M. What's the 'buzz' about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination // *Current opinion in plant biology.* – 2013. – Vol. 16. – P. 429 – 435, doi:10.1016/j.pbi.2013.05.002.
- Gagliano M., Grimonprez M., Depczynski M., Renton M. Tuned in: plant roots use sound to locate water // *Oecologia.* – 2017. – Vol. 184(1). – P. 151 – 160. doi:10.1007/s00442-017-3862-z.
- Gagliano M., Mancuso S., Robert D. Towards understanding plant bioacoustics // *Trends Plant Sci.* – 2012. – Vol. 17(6). – P. 323 – 325. doi:10.1016/j.tplants.2012.03.002.
- Lopez-Ribera I., Vicient C.M. Drought tolerance induced by sound in *Arabidopsis* plants // *Plant Signal. Behav.* – 2017. – Vol. 12(10):e1368938. doi: 10.1080/15592324.2017.1368938.
- Ostberg J., Martinsson M., Stal O., Fransson A.-M. Risk of root intrusion by tree and shrub species into sewer pipes in Swedish urban areas // *Urban For Urban Green.* - 2012. – Vol. 11. – P. 65 – 71. doi:10.1016/j.ufug.2011.11.001.
- Randrup T.B., McPherson E.G., Costello L.R. Tree Root Intrusion in Sewer Systems: Review of Extent and Cost // *J. Infrastructure Systems.* - 2001. - Vol. 7, No.1. – P. 26 – 31.
- Xie Q., Hodkiewicz M.R., Khan N., Best A. Predictive modelling of sewer blockages in vitrified clay pipes. CEED Seminar Proceedings. 2014.

Тема 6. Гравітаційне поле Землі і живі організми

6.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Зміни рівня гравітації і робота (експресія) генів

Мікрогравітація (невагомість) і гіпергравітація змінюють роботу генів щурів і забезпечують адаптацію клітин до гравітаційного стресу через систему епігенетичних змін. Casey T. з колегами (2015) вивчали вплив умов мікрогравітації космічного польоту і умов гіпергравітації, створених за допомогою центрифуги, на роботу генів у щурів. Результати ДНК-мікрочіп аналізу показали, що зміни в рівні гравітації впливають на роботу генів, які регулюють роботу циркадіанного (добового) годинника і шляхи передачі механосенсорних сигналів в клітинах. Зміни в цих системах спроможні пояснити глобальні зміни в роботі генів імунної відповіді, метаболізму і проліферації (поділу) клітин в умовах зміненого рівня гравітації.

Крім того, були відмічені зміни в роботі генів, які модифікують структуру хроматину і впливають на процеси метилювання. Це дозволило припустити, що адаптація до змінених гравітаційних умов може відбуватися через епігенетичні зміни в роботі ДНК (Casey et al., 2015).

Гравітаційні умови впливають на характер епігенетичних модифікацій ДНК у рослин. Kamal K.Y. з колегами (2018) вирощували культуру клітин арабідопсиса (*Arabidopsis thaliana*) в різних гравітаційних умовах. Автори роботи виявили зміни в епігенетичних модифікаціях хроматину: в умовах симульованої мікрогравітації було відмічено підвищення рівня метилювання ДНК і зниження рівня ацетилювання гістонів (Kamal et al., 2018).

Невагомість і пошкодження в ДНК

В умовах космічного польоту і космічне випромінювання, і мікрогравітація викликають пошкодження в ДНК круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans*. На борту космічного корабля на живі організми діють умови мікрогравітації і космічне випромінювання. Вважають, що обидва ці фактори викликають появу пошкоджень в ДНК. Однак, дані, щодо пошкодження ДНК в умовах мікрогравітації – є суперечливими.

Gao Y. з колегами (2015) досліджували роботу генів в клітинах личинок дауер круглого черв'яка *Caenorhabditis elegans*, які перебували в умовах 16,5 денного космічного польоту. При цьому на борту космічного корабля одна група личинок знаходилася як під впливом космічного випромінювання, так і умов мікрогравітації, тоді як друга група личинок - була поміщена в центрифугу, яка створювала наземний рівень гравітації в 1Г, і, таким чином, ці личинки піддавалися тільки впливу космічного випромінювання.

Проведені дослідження показали, що в умовах космічного польоту у личинок, які підлягали дії як мікрогравітації, так і космічного випромінювання - в два рази більше генів значно змінили свою роботу в порівнянні з личинками, на які діяло тільки космічне випромінювання. Зокрема, було виявлено 38 генів, пов'язаних з реакцією клітин на пошкодження ДНК, робота яких змінилася в умовах космічного польоту. При цьому важливо підкреслити, що більшість з них змінили свою роботу в умовах одночасної дії і мікрогравітації, і космічного випромінювання, а не лише дії космічного випромінювання.

В результаті проведених досліджень були отримані опосередковані докази того, що в присутності космічного випромінювання мікрогравітація посилювала пошкодження ДНК у круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans* (Gao et al., 2015).

Ембріональні клітини мишей, дефектні по репарації (лагодженню пошкоджень) ДНК, є гіперчутливими до умов симульованої за допомогою кліноротації невагомості. Li N. з колегами (2015) використовували мишачі ембріональні стовбурові клітини і мишачі ембріональні фібробласти для виявлення впливу симульованої мікрогравітації на пошкодження ДНК. Отримані дані свідчать про те, що симульована мікрогравітація

призводить до значного накопичення двонитевих розривів ДНК в лініях клітин, мутантних по генам репарації ДНК, але не в диких лініях (Li et al., 2015).

В умовах космічного польоту у проростків рослин збільшується кількість хромосомних аберацій. Дослідження, проведені Nevzgodina V. з колегами (1984), показали, що в умовах космічного польоту у проростків рослин збільшується кількість клітин з хромосомними абераціями (пошкодженнями), поява яких може бути пов'язана як з дією космічного випромінювання, так і з впливом мікрогравітації (Nevzgodina et al., 1984).

Гравітація і ембріогенез

Умови мікрогравітації космічного польоту впливають на розвиток пуголовків жаб. Вплив мікрогравітації на організми може викликати морфологічні, фізіологічні та поведінкові зміни, які, зазвичай, нормалізуються протягом декількох годин або декількох тижнів після повернення організмів до умов нормальної наземної гравітації 1Г.

Horn E.R. і Gabriel M. (2014) протягом 3-х років контролювали розвиток пуголовків *Xenopus laevis*, їх метаморфоз і ріст дорослих жаб після їх 12-денного польоту на кораблі "Союз" ТМА13 на Міжнародну космічну станцію. На момент початку дії умов мікрогравітації - пуголовки тільки що розвинули задні кінцівки (стадія 47) або у них з'явився зачаток передніх кінцівок (стадія 50).

Після повернення на Землю між наземними групами і тими, які побували в космосі, з'явилися значні відмінності, які включали: більш ранній метаморфоз на 47-й стадії і більш пізній метаморфоз на 50-й стадії у пуголовків, які побували в космосі; наявність хвоста на ювенільній стадії (47-й стадія) виключно у деяких тварин, які побували в космосі; прискорений ріст на 47-й стадії і сповільнений ріст на 50-й стадії у самців жаб, які побували в космосі, в порівнянні з відповідними самцями наземного контролю.

Всі відмінності між наземними тваринами і тими, які побували в космосі, зникли через 1 рік після приземлення (Horn & Gabriel, 2014).

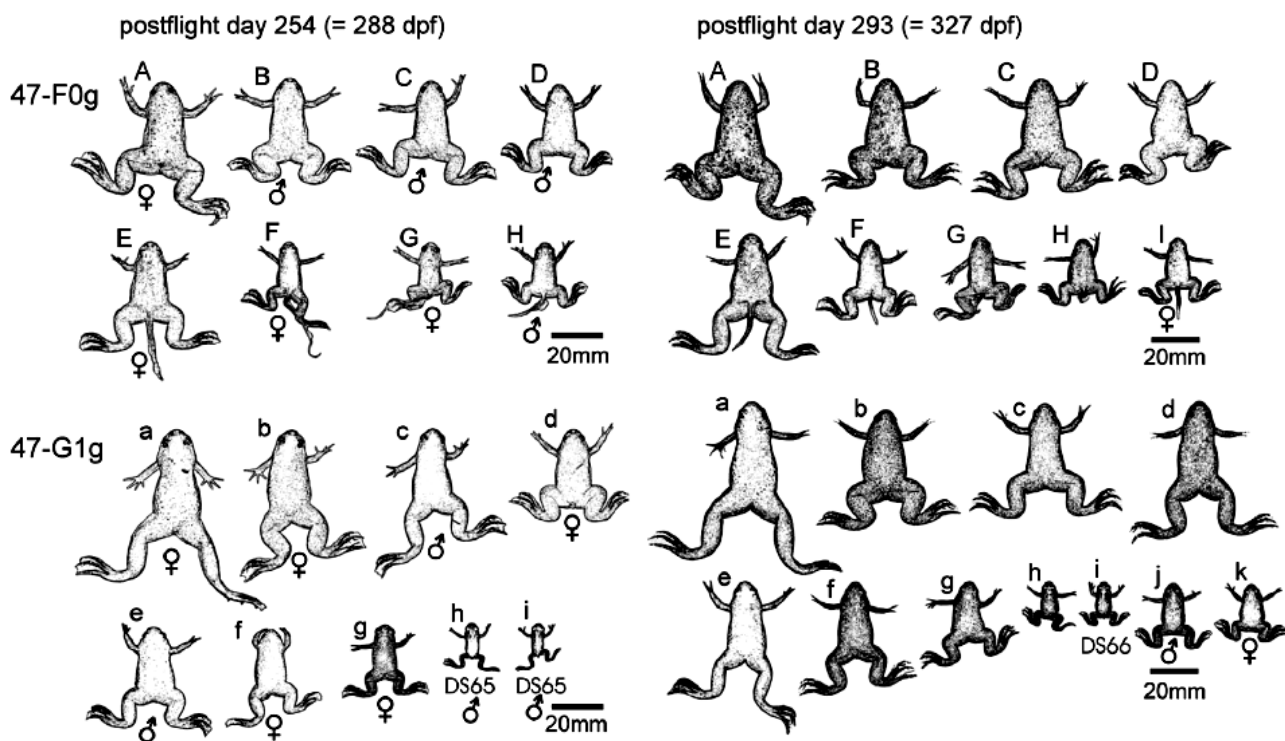


Рис. 1. Стале збереження хвостів після метаморфозу на 254-й і 293-й дні після космічного польоту на 47-й стадії у тварин, що побували в космосі (47-F0g), але не у наземного контролю (47-G1g). Тварини на стадіях DS65 і DS66 були включені в схему, щоб звернути увагу на розміри тварин на цих стадіях, які були значно меншими, ніж у хвостатих тварин, які побували в космосі (Horn & Gabriel, 2014).

Вплив гіпергравітації на розвиток амфібій. Для встановлення можливого впливу умов гіпергравітації на яйця і ембріони, які розвиваються, Kashiwagi A. з колегами (2003) вирощували запліднені яйця жаб *Rana rugosa* і *Xenopus laevis* і їх ранні ембріони в умовах високого рівня гравітації (2Г, 5Г, 7Г і 10Г) до стадії вилуплення пуголовків.

В результаті проведених експериментів було встановлено, що гіпергравітація значно затримувала розвиток яєць і ембріонів жаб, за умови початку впливу на ембріони до стадії бластули, і викликала різні аномалії розвитку, включаючи формування двох голів і мікроцефалію (зменшення розмірів головного мозку при нормальних розмірах інших частин тіла).

Отримані дані свідчать про те, що високий рівень гравітації здатний порушити формування анімально-вегетативної вісі ембріону. З іншого боку, у ембріонів, які піддавалися впливу гіпергравітації після стадії гастрюли, спостерігалось, на подив, збільшення кількості появи нормальних пуголовків.

Подальше анатомічне дослідження показало, що розвиток і диференціація тканин мозку, хорди і м'язів були редуковані у ембріонів і пуголовків, які формувалися в умовах гіпергравітації (Kashiwagi et al., 2003).

Умови космічного польоту призводять до редукції соматичного ембріогенезу в культурі клітин листя *in vitro* у рослин *Dactylis glomerata* L. Відомо, що нестатеві, соматичні клітини рослин в культурі *in vitro* здатні формувати зародки. Conger B.V. з колегами (1998) вивчали вплив умов мікрогравітації космічного польоту на соматичний ембріогенез культивованих сегментів листя рослин *Dactylis glomerata* L.

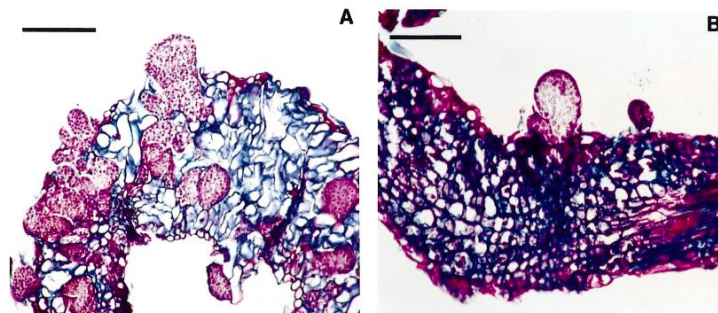


Рис. 2. Гістологічні зрізи культивованих сегментів листя для наземного контролю (А) і умов космічного польоту (В). Матеріал контрольний і польотний фіксували через 14 днів після посадки (26 днів загального періоду культивування). Зверніть увагу на набагато більш високу ембріогенну активність в контролі (А), ніж в умовах космічного польоту (В). 1 бар = 200 мкм (Conger et al., 1998).

Проведені дослідження показали, що в польотних зразках рівень соматичного ембріогенезу був на 70% знижений в порівнянні з контрольними наземними умовами. Крім того, в умовах космічного польоту було виявлено більш високе співвідношення антиклінальних:периклінальних первинних клітинних поділів, в порівнянні з наземним контролем.

Отримані дані вказують на те, що мікрогравітація впливає на визначення вісі і полярності ембріонів на дуже ранній стадії їх розвитку (Conger et al., 1998).

*NB! Антиклінальні поділи клітин - площина поділу клітин орієнтована перпендикулярно поверхні тканини або органу; периклінальні поділи клітин - поділ клітин відбувається в площині, паралельній поверхні тканини або органу.

Загосння ран і невагомість

Вплив мікрогравітації і гіпергравітації на регенерацію у планарій. Планарії - це плоскі черви, які мають дивовижну здатність до регенерації втрачених частин організму

завдяки наявності у дорослих тварин тотипотентних стовбурових клітин. *NB! Тотипотентні стовбурові клітини спроможні диференціюватися у будь-який тип клітин організму.

Adell T. з колегами (2014) вивчали вплив умов симульованої мікрогравітації і гіпергравітації на ембріогенез і на регенерацію частин тіла у планарій. Було показано, що умови симульованої мікрогравітації, створені за допомогою машини для випадкового позиціонування (the random positioning machine, RPM) встановленої на швидкості 60 °/с призводили до смерті планарій. Тоді як планарії, що знаходилися в умовах мікрогравітації, які створюються на швидкості 10 °/с, нормально регенерували втрачені частини тіла.



Рис. 3. Час, необхідний для регенерації планарій. Коли планарій розрізають окремо на голову, тулуб і хвіст, то вони продукують бластему (непігментовану область на 2-й день) і потім здійснюють регенерацію всіх відсутніх тканин через 10-15 днів. Жовтою зірочкою позначена глотка планарії (Adell et al., 2014).

В умовах гіпергравітації 3Г і 4Г, створюваних в центрифугі великого діаметра, планарії були здатні відрощувати втрачені тканини, хоча спостерігалось зниження швидкості проліферації (поділу клітин). При гіпергравітації в 8Г невеликі фрагменти тіла планарій втрачали здатність до регенерації.

Більш того, автори роботи виявили вплив зміни рівня гравітації на швидкість поділу планарій, який для планарій є безстатевим способом розмноження. При цьому на ембріональний розвиток планарій зміни в рівні гравітації не вплинули.

Таким чином, при певних порогових рівнях мікрогравітації (60 °/с) та гіпергравітації (8Г) планарії не здатні до регенерації (Adell et al., 2014).

Атрофія м'язів

Перебування протягом 30 днів в умовах невагомості в космосі викликає атрофію м'язів і порушує їх регенерацію. Відомо, що механічне розвантаження в умовах мікрогравітації під час космічного польоту викликає атрофію м'язів, зміни в складі м'язових волокон, в роботі генів і призводить до зниження регенеративного росту м'язів.

Radugina E.A. з колегами (2018) вивчали вплив тривалого (30-денного) механічного розвантаження в умовах мікрогравітації космічного польоту на чотириглавий м'яз стегна мишей.

Гістоморфологічний аналіз м'язів мишей, які перебували протягом 30 днів у космосі, показав ознаки значної атрофії і регенеративної гіпоплазії в порівнянні з м'язами мишей наземного контролю. *NB! Гіпоплазія - термін, що означає недорозвинення тканини, органу або цілого організму, обумовлене порушеннями в процесі ембріогенезу (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Незважаючи на очевидну атрофію, регенерація м'язів тривала навіть після 30 днів перебування мишей в умовах мікрогравітації, про що свідчать тонкі і короткі новостворені міофібрили. Однак, багато м'язових клітин показали ознаки апоптозу (програмованої смерті) і деградації міофібрил. Це дозволяє припустити, що тривале розвантаження в умовах мікрогравітації може вплинути на пізні стадії диференціації міофібрил.

Таким чином, тривалий космічний політ в умовах мікрогравітації викликав значну атрофію і дегенерацію чотириголового м'яза стегна, при цьому умови мікрогравітації

впливали на процеси регенерації м'язів, викликаючи програмовану загибель новостворених міофібрил під час їх спеціалізації (Radugina et al., 2018).

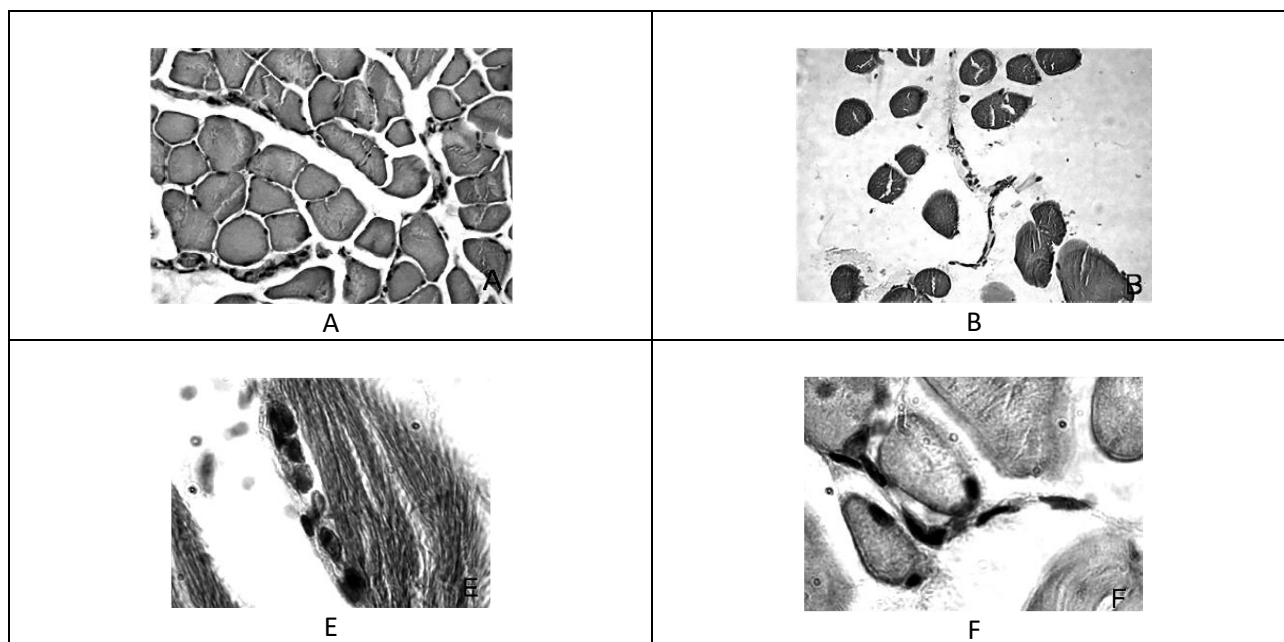


Рис. 4. Загальний вигляд м'язової тканини чотириголового м'яза у мишей наземного контролю (А) і після 30-денного космічного польоту (Б) при збільшенні 200х. Нормальні регенеруючі м'язові волокна в наземному контролі (Е) в порівнянні з нетиповими регенеруючими м'язовими волокнами в польотній групі (F) при збільшенні 1000× (Radugina et al., 2018).

Атрофія кісткової тканини в умовах мікрогравітації

В умовах мікрогравітації відбувається пригнічення диференціації (спеціалізації) остеобластів через механізм, в якому задіяне активування специфічних мікроРНК.

Нещодавні дослідження показали, що молекули мікроРНК приймають важливу участь в диференціації остеобластів і в формуванні кісток. *NB! Остеобласти – це молоді клітини, здатні до розмноження, які створюють кісткову тканину. Поступово остеобласти диференціюються в остецити. Міжклітинна речовина, яка утворюється остеобластами, замурує клітину з усіх боків і просочується солями кальцію (<https://uk.wikipedia.org/wiki/>).

Ну Z. з колегами (2015) вивчали вплив умов симульованої мікрогравітації в моделі «розвантаження задніх кінцівок» у щурів на синтез молекул мікроРНК в тканинах стегнової кістки щурів і в первинних остеобластах щурів, які зазнали впливу симульованої мікрогравітації.

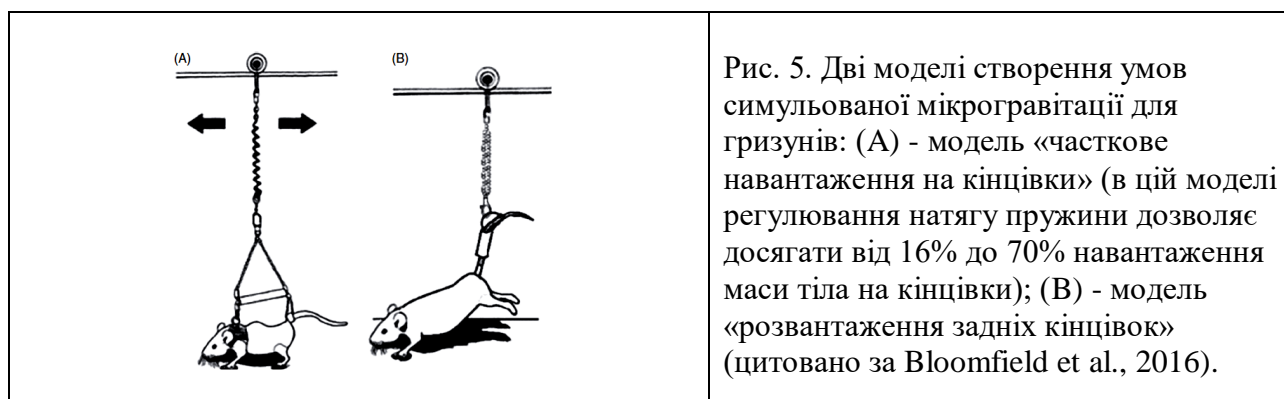


Рис. 5. Дві моделі створення умов симульованої мікрогравітації для гризунів: (А) - модель «часткове навантаження на кінцівки» (в цій моделі регулювання натягу пружини дозволяє досягати від 16% до 70% навантаження маси тіла на кінцівки); (В) - модель «розвантаження задніх кінцівок» (цитовано за Bloomfield et al., 2016).

Зокрема, в умовах мікрогравітації було виявлено активування молекул мікроРНК miR-132-3р, які інгібували диференціацію первинних остеобластів щурів. Таким чином, отримані дані свідчать про те, що мікроРНК miR-132-3р пригнічують диференціацію остеобластів і

беруть участь в регуляції втрати кісткової тканини, викликані умовами симульованої мікрогравітації. Цей результат дозволив виявити потенційну молекулярну мішень для протидії зменшенню кісткової тканини в умовах тривалих космічних польотів (Hu et al., 2015).

Мікрогравітація в умовах космічного польоту активує у риб клітини остеокласти, які відповідають за розсмоктування кісткової тканини. Chatani M. з колегами (2015) було встановлено, що під час 56-денного космічного польоту мінеральна щільність кісток глотки і району зубів у риб японських оризій (*Oryzias latipes*) знижувалася і відбувалося активування остеокластів - клітин кісткової тканини, які відповідають за розсмоктування кістки (Chatani et al., 2015).

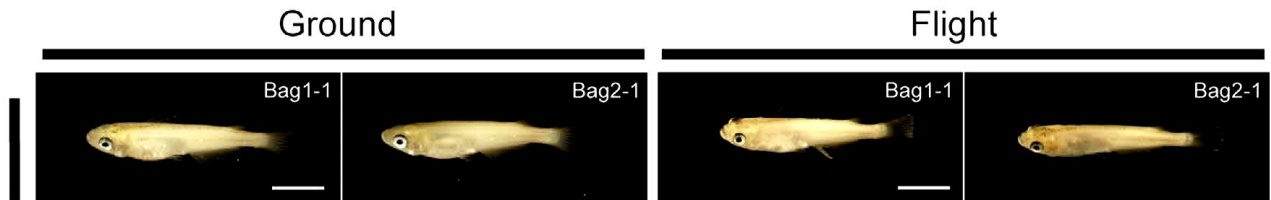


Рис. 6. Риби японські оризії (*Oryzias latipes*) на 14 день польоту в порівнянні з наземним гравітаційним контролем. Де: Ground - риби, які перебували в умовах наземного гравітаційного контролю (1Г); Flight - риби, які перебували на борту космічного корабля в умовах невагомості. 1 бар = 5 мм (Chatani et al., 2015).

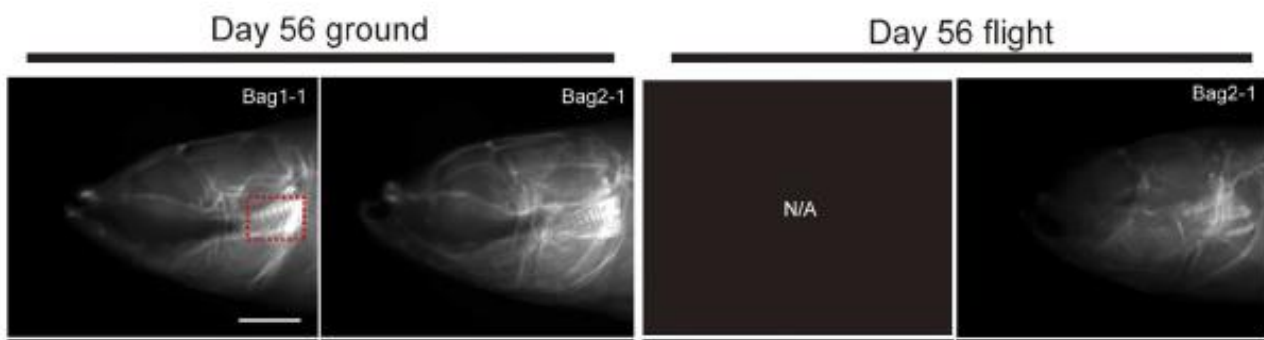


Рис. 7. Рентгівенський знімок показав, що на 56 день польоту у риб японських оризій редукуються кістки черепа і щелепного апарату. Де: Day 56 ground - 56-й день перебування в умовах наземного гравітаційного контролю (1Г); Day 56 flight - 56-й день перебування на борту космічного корабля в умовах невагомості. 1 бар = 1 мм. Прямокутник, виділений червоним пунктиром - вказує область глоткової кістки (Chatani et al., 2015).

Вплив рівня гравітації на склад клітинних стінок рослин

Відомо, що в умовах невагомості в організмі людини і тварин через відсутність гравітаційного навантаження відбувається атрофія м'язової і кісткової систем. А що відбувається з опорною системою рослин?

Реакція клітинних стінок рослин на стрес. Клітинна стінка рослин розташовується з зовнішньої сторони плазматичної мембрани і сформована високополімерними вуглеводами. Структурний каркас клітинної стінки утворюють молекули целюлози, зібрані в складні пучки (фібрили). Цей каркас занурений в матрикс клітинної стінки, що складається з геміцелюлози і пектинів. Залежно від типу тканини, в клітинній оболонці можуть бути присутні й інші речовини: лігнін, кутин, суберин, віск, білок, солі кальцію, кремнезем і т.н. («Біологічний енциклопедичний словник»).

При зміні умов навколишнього середовища - клітини здатні перебудовувати свої вже сформовані клітинні стінки за рахунок зміни в роботі генів і активування білків, які розташовані в клітинній стінці. Проведені дослідження показали, що в умовах абіотичного

стресу рослини чітко контролюють жорсткість своїх клітинних стінок, їх пористість, стан гідратації пектинового матриксу і т.н.

Зокрема, в умовах стресу клітина активує синтез специфічних білків, які сприяють критичним змінам в архітектурі клітинної стінки. Наприклад, було встановлено, що пектини, які входять до складу клітинних стінок рослин, є ключовими елементами реакції рослин на температурний стрес (на спеку і холод). Модифікації пектину каталізуються великою родиною білків РМЕ, які знаходяться в клітинній стінці і які, у відповідь на стресові умови навколишнього середовища, модулюють як формування, так і розбирання пектинової мережі.

Наприклад, пектини контролюють пористість клітинної стінки. Проведені дослідження показали, що в умовах теплового стресу в клітинних стінках рослин підвищується вміст геміцелюлоз і знижується вміст пектинів. В умовах нестачі вологи в ґрунті - в клітинних стінках рослин починається розщеплення компонентів матриксу (зокрема, пектинових речовин і лігнінів). Це призводить до розрихлення матриксу клітинної стінки (Pattathil et al., 2016). Таким чином, модулювання будови клітинних стінок рослин, є важливою стратегією реагування рослин на стрес.

Кожна клітина рослини здатна сприймати зміни рівня гравітації і реагувати на них. Незважаючи на відсутність статолітів - кожна клітина рослини здатна сприймати зміни рівня гравітації і реагувати на них. Chebli Y. з колегами (2013) було встановлено, що у відповідь на дію умов гіпергравітації, створених за допомогою центрифуги, пилкова трубка рослин *Camellia japonica* змінює склад своєї клітинної стінки, що забезпечує її адаптацію до збільшення рівня механічного навантаження. Більше того, цей ефект був зворотним протягом всього декількох хвилин. Це свідчить про те, що пилкова трубка здатна швидко адаптуватися до змін характеру стресових умов (Chebli et al., 2013).



Рис. 8. Камелія японська (*Camellia japonica*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

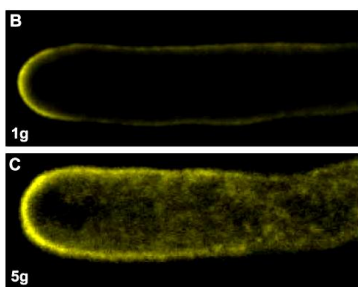


Рис. 9. В умовах гіпергравітації (5Г) в клітинній стінці пилкової трубки рослин камелії японської посилюється накопичення етерифікованих пектинів (жовта флуоресценція). В - контрольний рівень гравітації, 1Г; С - умови гіпергравітації, 5Г (Chebli et al., 2013).

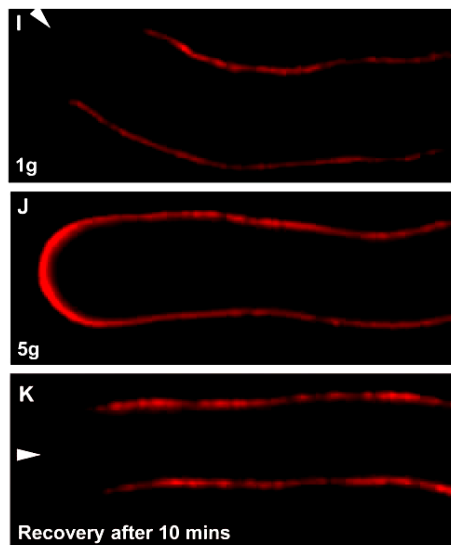


Рис. 10. У рослин камелії японської в умовах гіпергравітації (5Г) посилюється накопичення целюлози в клітинній стінці кінчика пилкової трубки, який росте. Де: I - контрольний рівень гравітації, 1Г; J - умови гіпергравітації, 5Г; К - відновлення рівня целюлози в пилковій трубці вже через 10 хв після зняття дії гіпергравітації. Стрілкою вказано кінчик пилкової трубки в випадках, коли його не видно. 1 бар = 10 мм (Chebli et al., 2013).

Вплив умов космічного польоту на склад клітинних стінок рослин. Проведені Cowles J.R. з колегами (1984) дослідження, показали, що проростки бобів мунг (*Vigna radiata*), які вирощувалися в умовах космічного польоту, показали значне зменшення вмісту лігніну в клітинних стінках, порівняно з проростками, які вирощувалися в наземних умовах гравітації. Отримані результати, в цілому, підтверджують постулат, згідно з яким синтез лігніну знижується в умовах мікрогравітації (Cowles et al., 1984). *NB! Лігнін – це складна полімерна речовина, яка поряд з мікрофібрилами целюлози є найважливішою основою здерев'янілих клітинних стінок рослин. Лігніфікація (одеревеніння) клітинних стінок рослин надає їм значну міцність (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

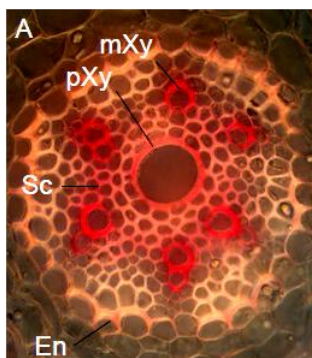


Рис. 11. Поперечний зріз кореня *Brachypodium distachyon*, забарвлений флороглюцінол-соляною кислотою для виявлення лігніфікованих тканин. Одеревенілі (лігніфіковані) тканини мають червоне забарвлення. Де: mXy, metaxylem - метаксилема; pXy, secondary metaxylem - вторинна метаксилема; En, endodermis - ендодерміс; Sc, sclerenchyma - склеренхіма (Harrington et al., 2012).

Johnson C.M. з колегами (2017) було встановлено, що у рослин арабідопсису (*Arabidopsis thaliana*) під час космічного польоту в умовах невагомості змінюється синтез білка AGP31 - інтегрального білка, який поводить себе як каркас, що зміцнює клітинну стінку. Крім того, в клітинних стінках зменшується кількість геміцелюлози і пектинових речовин, а також - активується синтез білків, які беруть участь в розщепленні ксилоглюканів (різновид геміцелюлоз) (Johnson et al., 2017).

В умовах космічного польоту посилюється робота генів, які відповідають за перебудову клітинних стінок рослин. В умовах космічного польоту в клітинах рослин було виявлено посилений синтез білка At4g30500, який пов'язаний з процесом біосинтезу целюлози, і білка субтилази, який є ендопептидазою і який впливає на білки-попередники ферментів, що модифікують пектини клітинної стінки.

Крім того, в умовах космічного польоту було виявлено посилення роботи і інших генів, які кодують білки, задіяні в модифікації клітинної стінки, включаючи пектинметилестеразу-1 (PME1), NAD(P)-зв'язуючий білок суперродини Rossmann-fold, який задіяний в процесі біосинтезу лігніну, і ранній нодулін-подібний білок-17, пов'язаний з метаболізмом пектинів клітинної стінки.

У багатьох дослідженнях було показано, що рослини в космосі активують гени, які беруть участь у відповіді на атаку патогенів, незважаючи на відсутність будь-яких патогенів. Ця помилкова відповідь пов'язана з тим, що в умовах зниження гравітаційного навантаження відбуваються зміни в клітинній стінці, які загрожують її цілісності, аналогічно фізичному пошкодженню, яке клітинна стінка отримує під час нападу патогена або обгризання трав'янистими тваринами.

Зокрема, в умовах мікрогравітації клітини активували синтез білка PEN2, який викликає відкладення калози в клітинній стінці, активували синтез глікозинолатів (токсичних речовин, які захищають рослини від патогенів та рослиноїдних тварин), стимулювали роботу двох інших генів (At3g43250, AT5G38980), які задіяні в раньовій і в захисній відповідях рослин.

В невагомості клітини також посилили експресію куркулін-подібного білка родини лектинів (AT1G78860), який раніше, під час нападу на рослини патогенів, був виявлений серед секреторних білків матриксу клітинної стінки, і присутність якого пов'язана зі

структурними змінами клітинної стінки і передачею сигналів про біологічну атаку на рослину (Zupanska et al., 2019). *NB! Калоза - це рослинний полісахарид, який синтезується у відповідь на раньове пошкодження клітин і основна функція якого є закриття плазмодесм (цитоплазматичних містків між сусідніми клітинами) для запобігання поширенню патогенів в інші клітини рослини.

Порушення роботи імунної системи при зміні умов гравітації

В умовах мікрогравітації космосу, але не кліноротації, знижується вірулентність патогенів в порівнянні з наземними умовами. Для оцінки впливу мікрогравітації на вірулентність патогенів, Hammond T.G. з колегами (2013) вивчали здатність чотирьох клінічних патогенів – бактерій лістерій (*Listeria monocytogenes*), бактерій золотистого стафілококу, резистентних до метициліну (*Staphylococcus aureus*, лінія MRSA), бактерій ентерококів (*Enterococcus faecalis*) і дріжджового патогенного гриба кандиди (*Candida albicans*) - призводити до загибелі заражених ними круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans*, що знаходяться на личинкових і дорослих стадіях розвитку.

Дослідження проводилися одночасно в умовах мікрогравітації космічного польоту, в умовах мікрогравітації, симульованої за допомогою кліноротації, і в умовах статичного наземного контролю. У всіх експериментах в якості негативного контролю використовували годування черв'яків вбитою кишковою паличкою. Інкубацію круглих черв'яків разом з патогенами здійснювали протягом 48 годин. Потім хід експерименту зупиняли шляхом фіксації матеріалу в параформальдегіді.

Отримані дані свідчать про те, що в умовах космічного польоту відбувалося зниження вірулентності всіх досліджених патогенів як для личинок, так і для дорослих черв'яків *Caenorhabditis elegans*. Симульована мікрогравітація в умовах кліноротації - відтворила ефекти космічного польоту для деяких, але не для всіх проаналізованих патогенів: *Candida* і *Enterococcus* були менш вірулентними для личинкових стадій черв'яків, але не для дорослих черв'яків, тоді як вірулентність MRSA і *Listeria* не порушувалася умовами кліноротації - як в тестах з дорослими черв'яками, так і з личинковими стадіями черв'яків (Hammond et al., 2013).

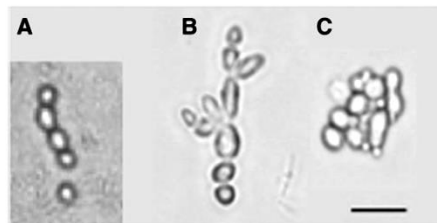


Рис. 12. Зміни в морфології колоній дріжджового гриба кандиди (*Candida albicans*) в різних гравітаційних умовах вирощування. Де: (А) - гриб кандида в наземних умовах вирощування, контроль, 1Г; (В) - гриб кандида, який вирощувався в умовах мікрогравітації космічного польоту, 0Г; (С) - гриб кандида, який вирощувався в умовах мікрогравітації (0Г), створеної за допомогою кліноротації. 1 бар = 10 мкм (Hammond et al., 2013).

*NB! Цілком можливо, що відмінності в результатах, отриманих в експериментах з кліноротацією і в космосі, пов'язані з додатковими стресовими факторами, присутніми в космосі (космічне випромінювання і т.н.).

Відповіді імунної системи мушок дрозофіл на умови невагомості і гіпергравітації - протилежні. Відомо, що імунна відповідь організму людини в умовах космічного польоту - послаблюється. Це підвищує сприйнятливості космонавтів до інфекцій. Крім того, мікроорганізми спроможні ставати більш вірулентними в умовах космічного польоту, що також становить загрозу для здоров'я космонавтів.

Taylor K. з колегами (2014) використовували модель вродженого імунітету у мушок дрозофіл *Drosophila* для вивчення імунних реакцій організму тварини в умовах

мікрогравітації космічного польоту і в умовах гіпергравітації, створених за допомогою центрифуги. Дослідники зосередили свою увагу на інфекціях, опосередкованих консервативними сигнальними шляхами Toll і Imd, і виявили, що гіпергравітація підвищує стійкість до грибкових інфекцій, опосередкованих Toll-сигнальними шляхами, за винятком відомого гравітаксичного мутанта за геном *yuri gagarin*.

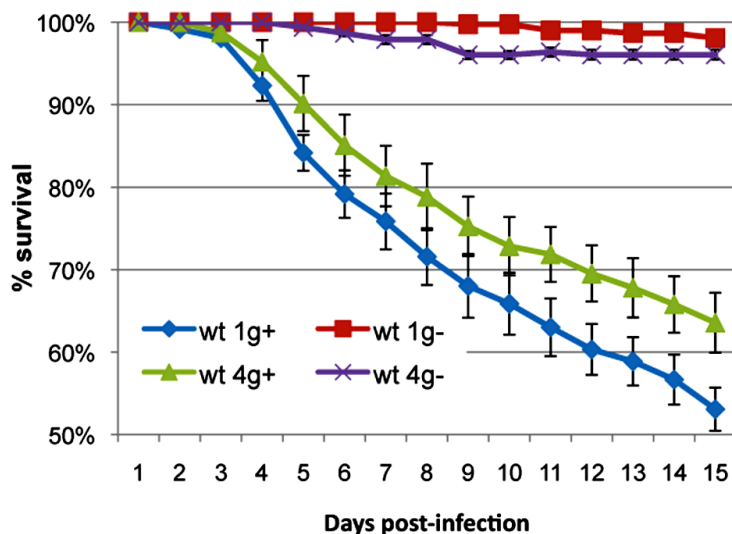


Рис. 13. Вплив умов гіпергравітації (4Г) на виживання мушок дрозофіл після їх інфікування ентомопатогенним грибом *B. bassiana* (який активує у мушок Toll-залежну імунну відповідь). Де: «+» - інфіковані мушки; «-» - неінфіковані мушки; wt - дика лінія мушок дрозофіл; 1g - наземні умови гравітації; 4g - умови гіпергравітації, 4Г; % Survival - відсоток тих мушок дрозофіл, що вижили після інфікування; Days post-infection - дні після інфікування. В умовах гіпергравітації (4Г) виживання інфікованих мушок дрозофіл було більшим, ніж в умовах звичайного наземного рівня гравітації (1Г) (Taylor et al., 2014).

Тоді як умови мікрогравітації – зменшують стійкість до грибкових патогенів: мухи, які побували в космосі, і згодом були заражені грибом, не змогли активувати Toll-залежний імунний шлях захисту організму. Навпаки, бактеріальна інфекція викликала нормальну активацію захисного імунного сигнального шляху Imd.

Крім того, умови космічного польоту змінили у мушок дрозофіл роботу генів і викликали активацію стресової системи теплового шоку. Автори роботи припустили існування можливого зв'язку між функціональною передачею сигналів в Toll-імунній системі і шаперонною системою білків теплового шоку.

В цілому, отримані дані свідчать про те, що: а) умови мікрогравітації космічного польоту і умови гіпергравітації мають протилежні ефекти на функціонування імунної системи мушок дрозофіл, і що б) умови космічного польоту активують пов'язані зі стресом транскрипційні реакції, що призводить до специфічної нездатності викликати Toll-опосередковану відповідь на інфекцію (Taylor et al., 2014).

В умовах мікрогравітації космічного польоту у мушок дрозофіл порушується вроджена клітинна і гуморальна імунна відповідь. Вроджений імунітет мушок дрозофіл на молекулярному рівні має багато спільного з вродженим імунітетом людини. Виходячи з цього, Марсу О. з колегами (2011) вивчали вплив умов космічного польоту на імунні процеси у дрозофіл.

П'ять контейнерів, кожен з яких містив десять самок і п'ять самців плодових мушок, перебували на космічній орбіті протягом 12 днів. При цьому в умовах мікрогравітації було вирощено нове покоління мушок.

Отримані дані свідчать про те, що після космічного польоту послаблялася здатність плазматочитів личинок фагоцитувати кишкову паличку в культурі. При цьому також пригнічувалася робота генів, які беруть участь в дозріванні цих імунних клітин.

Крім того, у личинок був знижений рівень конститутивної експресії (роботи) генів рецепторів, які специфічно розпізнають патогени, а також - генів білків, задіяних в гуморальному імунитеті (лізоциму і т.н.). Таким чином, отримані авторами роботи дані свідчать про те, що умови космічного польоту змінили як клітинну, так і гуморальну імунну відповіді у мушок дрозофіл (Marcu et al., 2011).

В умовах симульованої невагомості у бактерій *Klebsiella pneumoniae* посилюється здатність формувати біоплівки. Відомо, що окремі бактерії в стресових умовах навколишнього середовища спроможні об'єднуватися одна з одною за допомогою відростків пілій і формувати біоплівки. У складі біоплівки бактерії стають дуже стійкими до будь яких пошкоджуючих факторів, оскільки стійкість, яка з'являється у однієї бактерії, стає надбанням усього надорганізму завдяки перенесенню інформації між окремими бактеріями у вигляді молекул РНК.

Формування біоплівок тісно пов'язане з процесом патогенезу у більшості бактерій і, зокрема, у бактерій *Klebsiella pneumoniae*, присутність яких було виявлено на орбітальних космічних кораблях, і які часто викликають інфекції у людей з ослабленим імунитетом. Відомо, що робота імунної системи космонавтів порушується в умовах космічного польоту. Таким чином, присутність цих бактерій на борту космічних кораблів становить небезпеку для здоров'я космонавтів.

Під час космічного польоту одним з ключових факторів навколишнього середовища є умови мікрогравітації. Тому, Wang Н. з колегами (2016) досліджували вплив умов симульованої мікрогравітації на формування біоплівки бактеріями *Klebsiella pneumoniae*.

Отримані результати свідчать про те, що бактерії *Klebsiella pneumoniae*, яких вирощували протягом 2-х тижнів в умовах симульованої мікрогравітації (0Г), формували більш товсті біоплівки в порівнянні з контрольними умовами наземного рівня гравітації (1Г) (Wang et al., 2016).

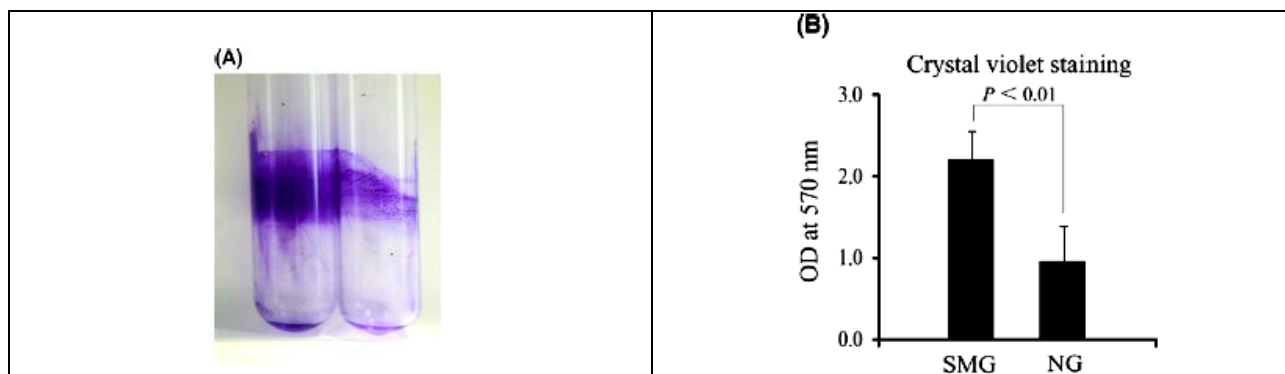


Рис. 14. Кількісна оцінка утворення біоплівок бактеріями *Klebsiella pneumoniae*, вирощених в умовах симульованої мікрогравітації (SMG) і в контрольних наземних умовах гравітації (NG). Формування бактеріальних біоплівок в скляних пробірках контролювали забарвленням кристалічним фіолетовим (Crystal violet staining) (A) і кількісно оцінювали шляхом приладового вимірювання значень OD570 (B) (Wang et al., 2016).

В умовах мікрогравітації у рослин підвищується сприйнятливість до патогенів.

Ryba-White M. з колегами (2001) вивчали вплив умов мікрогравітації, які виникають під час космічного польоту, на сприйнятливість коренів сої (*Glycine max*) до грибного патогену фітофтори (*Phytophthora sojae*).

Проростки сої, які вирощувалися на космічній станції і в умовах наземного рівня гравітації, заражали патогенним грибом *Phytophthora sojae*, який викликає розвиток соєвої гнилі. Через 3, 6 і 7 днів після зараження в умовах космічного польоту проростки фотографували і фіксували для подальшого мікроскопічного вивчення на Землі.

Проведені дослідження показали, що на 7-й день експерименту у коренів проростків сої, вирощених в умовах космічного польоту і інфікованих *Phytophthora sojae*, було виявлено більше симптомів захворювання (відсоток коричневих і мацерованих ділянок), і тканини

кореня були більш інтенсивно колонізовані патогенним грибом відносно наземних рослин, які також зазнали впливу гриба.



Рис. 15. Пошкодження проростків сої грибом фітофторою (<https://www.google.com.ua/search>).



Рис. 16. Спорангій гриба соєвої фітофтори (*Phytophthora sojae*) (<http://hpc.ilri.cgiar.org/beca/training/>).

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що проростки сої, вирощені в умовах мікрогравітації, є більш сприйнятливими до колонізації грибним патогеном в порівнянні з наземними рослинами (Ryba-White et al., 2001).

Гравітація і біологічний годинник

Ендогенний циркадіанний (добовий) період є гравітаційно-залежним параметром. Під впливом невагомості циркадіанний період подовжується. Алпатовим А.М. (2000) було показано, що процес адаптації до невагомості і до гравітаційних переважань включає глибокі зміни в циркадіанній системі організму, які зачіпають її найважливіший параметр: ендогенний (т.т. внутрішній) період циркадіанного годинника. Зокрема, у мавп в космічному польоті було виявлено незначне подовження ендогенного періоду циркадіанного ритму. У жуків чорнотілок *Trigonoscelis gigas* Reitter ендогенний циркадіанний період в умовах тривалої мікро- і гіпергравітації також стає довшим (в середньому на 10-30 хв), ніж в наземному контролі.

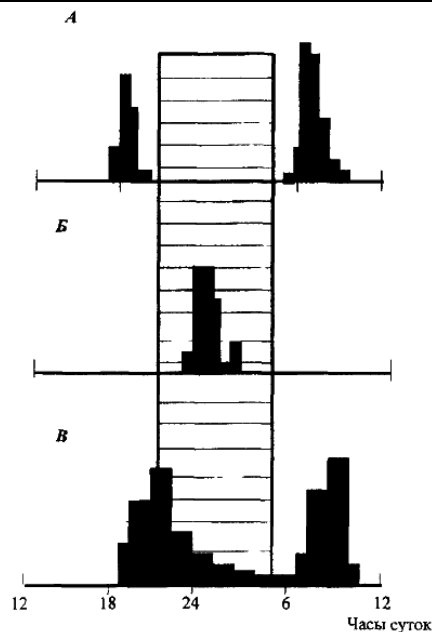


Рис. 17. Типи добової активності у пустельних жуків-чорнотілок еврисезонних видів. Де: А - строго ранішньо-вечірній тип; Б - строго нічний тип; В - тривалий присмерково-світанковий тип добової активності. Штрихуванням позначено нічний час доби (Зотов, 2001).



Рис. 18. Жук-чорнотілка *Trigonoscelis gigas* - мешканець Туркменської піщаної пустелі (за <https://www.biolib.cz/en/image/id/269519/>).

Гравітація впливає на роботу добового (циркадіанного) біологічного годинника у щурів. Проведені в ряді лабораторій дослідження показали, що умови гіпергравітації (2Г) через вплив на вестибулярний апарат порушують у мишей і щурів добову регуляцію температури тіла і рухової активності на період близько 7 днів. Вчених зацікавило питання, чи задіяний вестибулярний апарат також і у регуляції добового (циркадіанного) ритму в умовах звичайної наземної гравітації (1Г).

Для відповіді на це питання, Martin T. з колегами (2015) вивчали вплив двостороннього порушення роботи вестибулярного апарату (за рахунок селективного пошкодження периферичних волоскових клітин, викликаного транстімпанічною ін'єкцією арсанілата) на добові ритми температури тіла і рухової активності у щурів.

Отримані результати свідчать про те, що у щурів з пошкодженим вестибулярним апаратом, в порівнянні з щурами контрольної групи, спостерігалось порушення добових ритмів температури тіла і рухової активності, які протягом 2-7 діб після пошкодження вестибулярного апарату були замінені ультрадіанним (т.т. меншим, ніж добовий) періодом ($\tau < 20$ год).

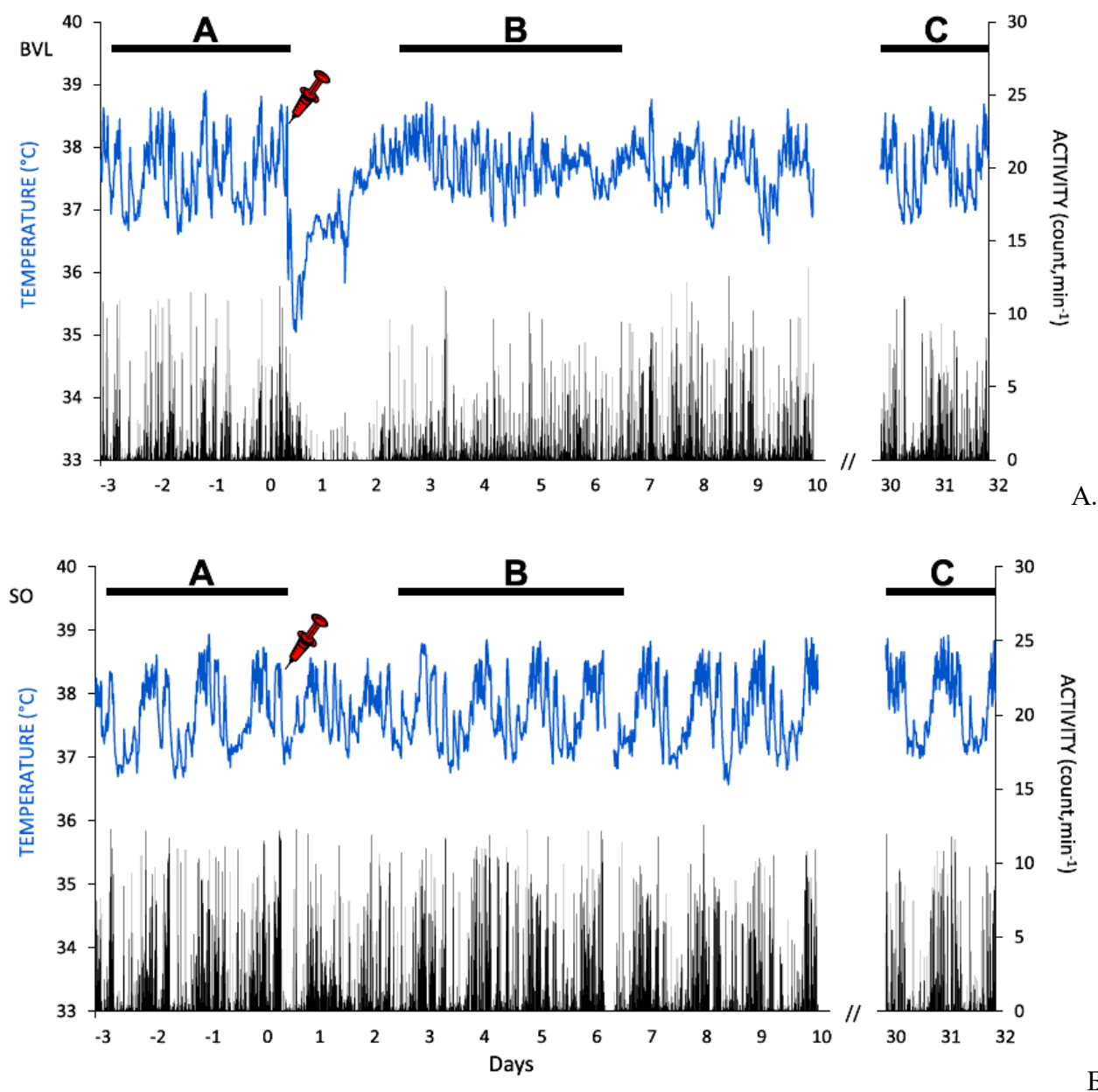


Рис. 19. Добові зміни температури тіла (блакитна крива) і локомоторної активності (стовпчики гістограм) для одного щура з пошкодженим вестибулярним апаратом (рис. А) і для одного щура з нормальним вестибулярним апаратом (Б). Перед транстімпанічною ін'єкцією, яка пошкодила вестибулярний апарат у експериментальних щурів, - щури обох груп демонстрували схожий добовий ритм температури тіла і рухової активності (на

графіках дні: -3, -2 -1, 0). Відразу після ін'єкції арсанілата (день 0, на графіку - символ шприца) у щурів з пошкодженою вестибулярною системою спостерігалось значне зниження температури тіла і рухової активності з подальшим поступовим відновленням. *NB! Контрольній групі щурів замість арсанілата вводили фізрозчин. Аналіз періодограм показав, що майже до 7 дня після ін'єкції - у щурів з пошкодженою вестибулярною системою були інгібовані або змінені добові ритми температури тіла і рухової активності. У щурів з пошкодженою вестибулярною системою добові ритми як температури тіла, так і рухової активності були повністю відновлені тільки на 30 день після ін'єкції арсанілата (Martin et al., 2015).

Подальші дослідження показали, що добові ритми температури тіла і рухової активності у щурів з пошкодженим вестибулярним апаратом починають відновлюватися наприкінці 1 тижня експерименту, вочевидь, за рахунок світлових і несвітлових сигналів часу. Слід зазначити, що у щурів після пошкодження вестибулярного апарату не було виявлено кореляції між добовими ритмами температури тіла і рухової активності, що свідчить про прямий вплив вестибулярного сигналу на супрахіазмені ядра гіпоталамуса мозку. Отримані авторами роботи дані підтверджують гіпотезу про те, що вестибулярна система впливає на добові ритми у щурів на Землі (Martin et al., 2015).

Гравірецепція

Роль цитоскелету в сприйнятті гравітації неспеціалізованими клітинами організмів. Зміни в рівні гравітаційного впливу призводять до змін в роботі генів, до змін в клітинній проліферації, диференціації, передачі сигналів і т.н.

На перший погляд гравітаційні сили здаються занадто малими, щоб впливати на окремі клітини. Однак, результати проведених експериментів свідчать про те, що окремі клітини *in vitro* реагують на зміни сили тяжіння і що ця відповідь може відігравати важливу роль у фізіологічних змінах на рівні організму під час космічного польоту.

У ряді досліджень було показано, що первинним сенсором, який сприймає зміни рівня гравітації в навколишньому середовищі, є цитоскелет клітин. Зокрема, було встановлено, що у відповідь на умови мікрогравітації відбуваються істотні перебудови всіх цитоскелетних структур клітин. Крім того, для формування просторово впорядкованих пучків кортикальних мікротрубочок необхідна присутність вектора гравітації: в умовах невагомості такі структури не формуються.

Але, з іншого боку, слід звернути увагу на той факт, що багато досліджень ролі цитоскелету в сприйнятті гравітаційного сигналу базуються на змінах, які ресструються після кількох годин перебування клітин і організмів в умовах мікрогравітації. Таким чином, виявлені зміни цитоскелету, цілком можуть бути вторинним, а не первинним ефектом зміни рівня гравітації.

Зокрема, було встановлено, що зміни в роботі генів відбуваються вже через 6 хвилин після впливу умов мікрогравітації. Більше того, нещодавно в параболічних польотах було показано, що після 22-секундного впливу мікрогравітації, але не після аналогічного впливу гіпергравітації, вже відбуваються достовірні зміни в роботі генів. У зв'язку з цими даними, питання про первинний клітинний сенсор змін рівня гравітації - поки залишається відкритим (цитовано за Vorselen et al., 2014).

*NB! Однак, з іншого боку, відомо, що клітинні мікротрубочки сформовані димерами, які складаються з білків альфа- і бета-тубулінів. Ці димери тубуліна володіють дипольним моментом і при механічних впливах на клітини, завдяки п'єзоелектричному ефекту, в мікротрубочках виникає електромагнітний сигнал, який практично миттєво передається в ядро клітини, таким чином, дозволяючи клітині вже через 22 секунди відповісти зміною в роботі генів на зміни умов навколишнього середовища.

*NB! П'єзоелектричний ефект (від греч. *Piézo* - стискаю) - ефект виникнення поляризації діелектрика під дією механічного напруження (прямий п'єзоелектричний ефект). При прямому п'єзоєфекті деформація п'єзоелектричного зразка призводить до виникнення

електричної напруги між поверхнями деформованого твердого тіла (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Слід зазначити, що п'єзоелектричні властивості мають не тільки мікротрубочки, але також і молекули РНК, ДНК, міозину, колагену. Так що, по суті, первинним сенсором змін рівня гравітації в клітинах - спроможні бути і самі молекули ДНК.

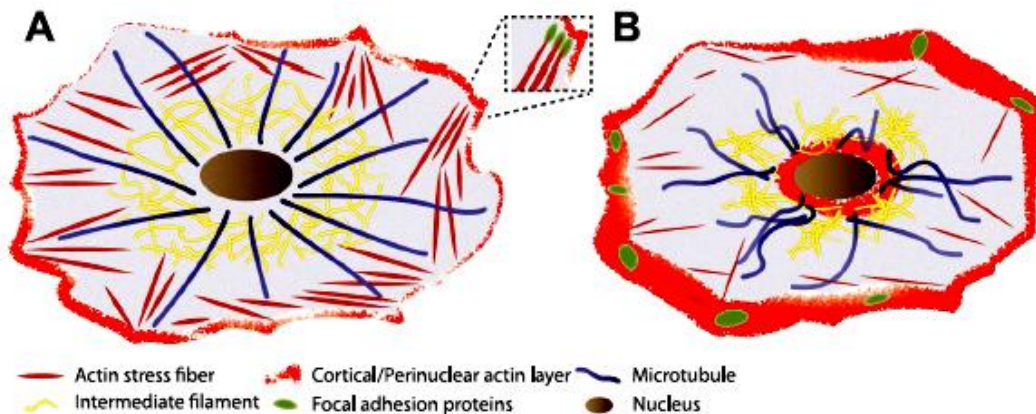


Рис. 20. Схема, яка показує зміни в цитоскелеті, що відбуваються в клітині в умовах мікрогравітації в порівнянні з умовами наземного рівня гравітації (Vorselen et al., 2014):

(А) – в умовах наземного рівня гравітації в клітині, прикріпленій до субстрату або до інших клітин, мікротрубочки часто мають радіальну організацію; стресові волокна, що складаються з безлічі актинових філаментів, закріплюються на клітинній мембрані, в цих місцях клітини спроможні прикріплятися до свого позаклітинного оточення через комплекси фокальної адгезії (вставка на схемі); актин також локалізується на периферії клітини; проміжні філаменти цитоскелету утворюють рихлу мережу;

(Б) – в умовах мікрогравітації в будові цитоскелетних структур клітини відбуваються істотні зміни: мікротрубочки, в порівнянні з клітинами, що знаходяться в звичайних наземних умовах гравітації, втрачають свою радіальну організацію, можуть бути вкороченими і більш вигнутими, і розташовуються навколо ядра клітини; зменшується кількість, довжина і товщина актинових стресових волокон; актин часто перерозподіляється і має або більш колоядерне, або більш кортикальне, приповерхневе розташування в клітині; білки фокальної адгезії перестають бути пов'язаними зі стресовими фібрилами, і виглядають як більш крупні кластери без радіальної орієнтації в кортикальному шарі, що призводить до зменшення розпластування клітин; проміжні філаменти утворюють кластери, при цьому локалізація цих філаментів стає більш колоядерною (цитовано за Vorselen et al., 2014).

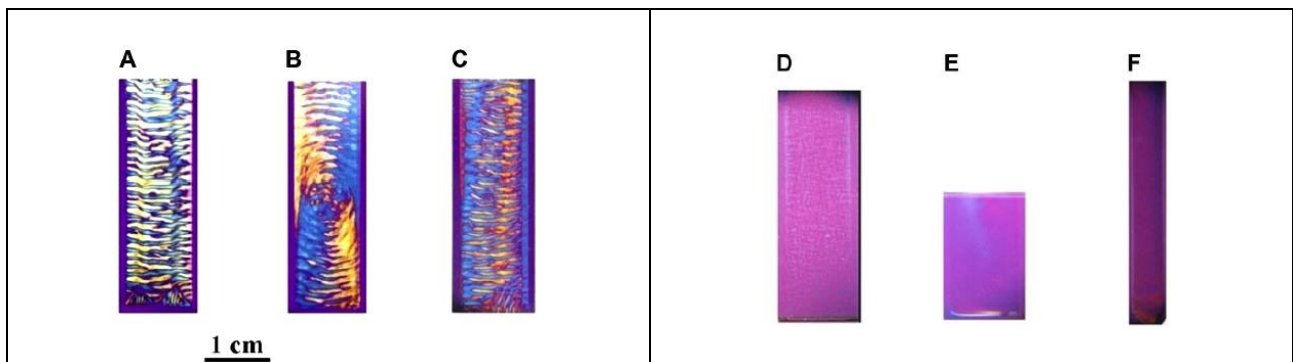
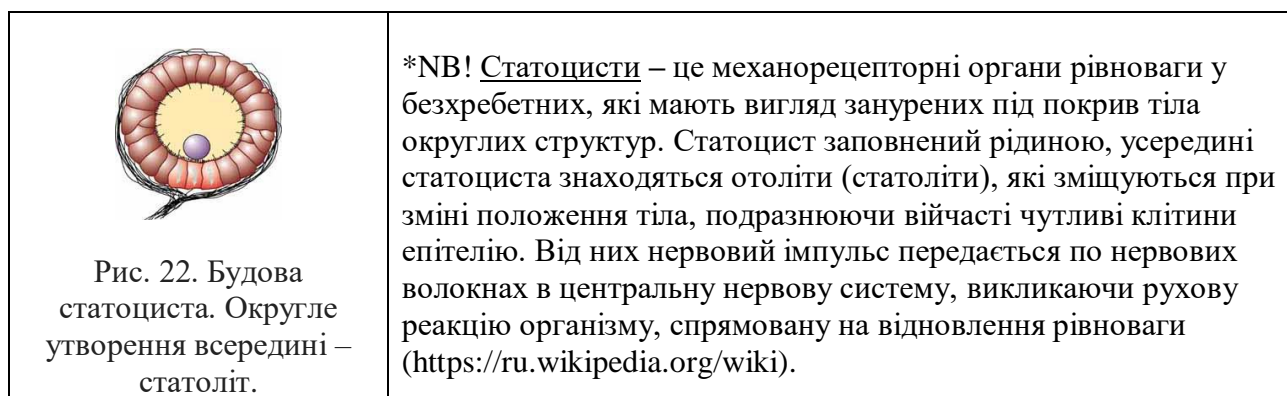


Рис. 21. Вплив вектора гравітації на самоорганізацію мікротрубочок *in vitro*. (А) Контейнер для зразка знаходився в вертикальному положенні протягом перших 20 хвилин після збирання мікротрубочок; на фотографії чітко видно впорядковану організацію пучків мікротрубочок перпендикулярно вектору гравітації; (Б) контейнер для зразків лежав

протягом того ж періоду і потім був перевернутий, що зруйнувало впорядковану організацію мікротрубочок; (С) зразок лежав, як і в попередньому варіанті, потім був перевернутий, проте його піддали дії слабкої відцентрової сили 0,14 Г уздовж довгої осі зразка, що призвело до відновлення впорядкованої організації мікротрубочок. (D - F) Вплив умов невагомості, створених різними методами, на організацію мікротрубочок: (D) - вплив невагомості в умовах космічного польоту; (E) - вплив невагомості в умовах, близьких до магнітної левітації; (F) - вплив невагомості в умовах, викликаних клінотацією. В умовах невагомості за відсутності вектора гравітації - не відбувається самозбирання впорядкованих пучків мікротрубочок (цитовано за Vorselen et al., 2014).

У равликів, що побували в космосі, відбувається активація функцій статоцистів.

Статоцист молюсків є механосенсорним органом, який визначає орієнтацію тіла тварини відносно сили тяжіння.



Balaban P.M. з колегами (2011) вивчали вплив 12-денного і 16-денного космічного польотів на наземних черевоногих молюсків *Helix lucorum* L. Експерименти проводилися через 13-42 години після повернення на Землю.

В результаті проведених досліджень було показано, що після космічного польоту равлики більш швидко реагували переорієнтацією тіла на раптовий нахил голови вниз на 90° порівняно з наземною (контрольною) групою равликів.

Отримані дані свідчать про підвищену чутливість постпольотних равликів до прискорення. При цьому, у постпольотних равликів в статорецепторах спостерігалось значне збільшення активності гена, який кодує пептид НРер, пов'язаний з рухами (биттям) війок.

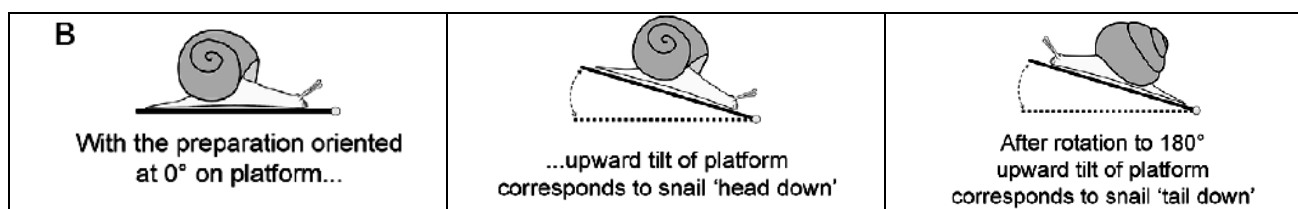


Рис. 23. Схема проведення поведінкового тесту з равликами *Helix lucorum* L. Нахил равликів головою вниз або вгору отримували з використанням спеціальної платформи (Balaban et al., 2011).

В цілому, отримані дані свідчать про те, що у равликів, які побували в космосі, відбувається активація функцій статоцистів. Цей результат збігається з аналогічним ефектом, виявленим раніше для хребетних тварин.

Таким чином, в основі гравічутливості і здатності організму адаптуватися до змін сили тяжіння і у хребетних тварин, і у безхребетних тварин лежать однакові фундаментальні принципи (Balaban et al., 2011).

Гравітаксис

Гравіорієнтація у найпростіших і рослин. Гравітаксис, гравікінез і гравітропізм - це різні типи гравітаційної відповіді, виявлені у найпростіших і рослин. Ці явища інтенсивно вивчалися при різних рівнях гравітаційного впливу на організми - від мікрогравітації до гіпергравітації.

З'являється все більше доказів того, що чисто фізичний механізм може бути виключений для орієнтації найпростіших в гравітаційному полі. Точно так само і для рослин - під час гравітаційної відповіді цих організмів був виявлений фізіологічний ланцюг передачі сигналу.

Значна частина досліджень тривалий час була зосереджена на питанні про те, що саме активує внутрішньоклітинні гравірецептори – специфічні органели /структури (наприклад, органели Мюллера у війкових *Loxodes*, кристали сульфату барію в вакуолях ризоїдів харових водоростей або статоліти крохмалю у вищих рослин) або ж увесь вміст клітини діє як подразник, який створює тиск на нижню мембрану.

Поведінкові експерименти в середовищах з регульованою щільністю, ефекти інгібіторів механочутливих іонних каналів, маніпуляції з передбачуваними гравірецепторними структурами - всі ці дослідження дозволили встановити, що у найпростіших і рослин існують обидва ці механізми.

Оцінка порогових значень для гравітаційної відповіді показала, що організми спроможні виявляти відмінності навіть в 10% нормального гравітаційного поля, а це - вимагає системи фокусування і посилення сигналу, що може бути забезпечено цитоскелетом клітини і системою сигнальних молекул - вторинних месенджерів (посередників) (цитовано за Hemmersbach et al., 1999).

Гравітаксис у війкових найпростіших. Бурсарія усічена (*Bursaria truncatella*) – це гігантська інфузорія. Її об'єм змусив би клітину швидко опускатися на дно ставка. Однак, поверхнева поведінка бурсарій (негативний гравітаксис) свідчить про існування механізмів сприйняття гравітаційної інформації і протидії вектору гравітації.

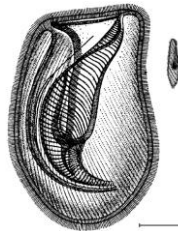


Рис. 24. Бурсарія усічена (*Bursaria truncatella*). Мембрана бурсарії повністю вкрита війками (не в масштабі). Клітина найпростішого парамеції (*Paramecium*) показана поруч для порівняння, ілюструючи великий розмір бурсарії (900 мкм). 1 бар = 200 мкм (Krause & Bräucker, 2009).

У процесі плавання бурсарії орієнтуються проти вектора сили тяжіння, демонструючи негативний гравітаксис. В умовах гіпергравітації - гравітаксис у бурсарій посилюється. А в умовах мікрогравітації - у бурсарій відбувається значне ослаблення гравітаційної відповіді протягом 4 секунд невагомості.

Дослідження, проведені Krause M. і Bräucker R. (2009), свідчать про те, що механізм гравірецепції у бурсарій відповідає спеціальній гіпотезі статоцисти, як це було продемонстровано для інших інфузорій (Krause & Bräucker, 2009). *NB! Спеціальна гіпотеза статоцисти для найпростіших, як механізму сприйняття гравітаційного сигналу, передбачає стимуляцію механочутливих іонних каналів силами цитоплазматичної маси, що діє на нижню мембрану.

*NB! Спеціальна гіпотеза статоцисти для найпростіших: (1) рухливість війок - і, отже, поведінка клітин найпростіших - знаходиться під жорстким контролем мембранного потенціалу; (2) в плазматичній мембрані клітини найпростішого присутні механочутливі

іонні канали. У найпростіших парамедій (*Paramecium*) було продемонстровано полярний розподіл таких каналів. При цьому механочутливі калієві канали були виявлені в задній частині клітини, а механочутливі кальцієві канали - в передній частині клітини найпростішого. Різниця в щільності між цитоплазмою клітини найпростішого і навколишнім середовищем генерує вектор зовнішньої сили, який проходить через нижню клітинну мембрану. І вплив цієї сили є достатнім для активації механочутливих іонних каналів.

У найпростіших, які пливають до поверхні водойми, відбувається активація калієвих механосенсорних каналів, що призводить до гіперполяризації мембрани клітини найпростішого, збільшує частоту биття війок і, як наслідок, швидкість пересування найпростішого.

У найпростіших, які пливають на дно водойми, відбувається активація механосенсорних кальцієвих каналів в передній частині клітини найпростішого. Це призводить до деполяризації мембранного потенціалу і знижує швидкість руху найпростішого вперед.

У горизонтально плаваючих найпростіших *Paramecium* - активуються обидва типи механосенсорних каналів, залишаючи мембранний потенціал в основному незмінним (цитовано за Krause & Bräucker, 2009).

Гравітаксис у найпростіших фотосинтезуючих джгутикових (евгленові).

Гравітація - є одним з важливих чинників вибору екологічної ніші існування багатьма організмами. Позитивний гравітаксис веде організм в товщу води/грунту, а негативний гравітаксис виводить його на поверхню.

У найпростіших фотосинтезуючих джгутикових евгленових (*Euglena*) гравітактичні реакції регулюються внутрішнім ритмом, який підлаштовується добовим циклом світло/темрява. Гравітаксис і фототаксис спільно забезпечують оптимальне розташування цих фотосинтезуючих найпростіших в товщі води.



Рис. 25. Найпростіші евглени граціозні (*Euglena gracilis*) (<http://eukaryoticmicrobe.blogspot.com/2012/12/euglena-gracilis>).

У більш ранніх дослідженнях для *Euglena gracilis* була запропонована модель пасивної гравітаційної орієнтації, заснована на механізмі бую. Однак, сьогодні встановлено, що це найпростіше володіє фізіологічним гравірецептором і здатне активно орієнтуватися в гравітаційному полі Землі.

Вивчення гравітаксису у евгленових проводили як в космосі, так і в умовах симульованої мікрогравітації. В результаті проведених досліджень було визначено поріг сприйняття сили тяжіння даними найпростішими і встановлені фізіологічні, біохімічні та молекулярні компоненти ланцюга передачі сигналу.

На відміну від вищих рослин, деяких водоростей і деяких інфузорій, *Euglena* не володіє статолітами, здатними до осідання, для визначення напрямку вектора гравітації Землі. Для евгленових було показано, що їх гравірецептори є механо-сенсорними кальцієвими каналами, які розташовані на передньому кінці клітини під жгутиком.

Під дією сили тяжіння відбувається осадження компонентів клітини джгутикового на нижньому боці його клітини. Цей механічний вплив активує механосенсорний кальцієвий канал, відкриття якого призводить до пасивного притоку кальцію вздовж раніше встановленого градієнта іонів.

Кальцій, який надходить в клітину, зв'язується зі специфічним білком кальмодуліном (CaM.2). Активованій таким чином кальмодулін - в свою чергу активує аденілатциклазу, яка синтезує цАМФ з молекул АТФ. Цей цАМФ активує специфічну протеїнкіназу А (РК.4), яка фосфорилує білки усередині джгутика, що призводить до вигину і, таким чином, до корекції курсу руху найпростішого в воді відповідно до напрямку вектора сили тяжіння.

Елементи ланцюга передачі сигналу були виявлені завдяки використанню специфічних інгібіторів і молекул RNAi, які дозволили довести участь цих молекул в гравітаксисі евгленових (Häder & Hemmersbach, 2017).

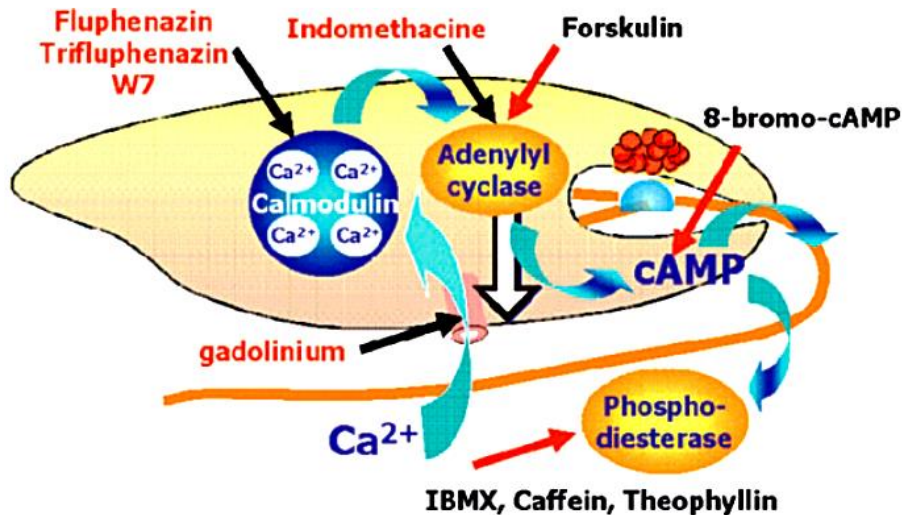


Рис. 26. Модель, яка ілюструє виявлений ланцюг передачі гравітаційного сигналу в клітині евглени. На схемі вказані задіяні компоненти сигнального шляху, а також інгібітори і активатори. Де: Ca^{2+} -Calmodulin – білок кальцій кальмодулін; Adenylcyclase - аденілатциклаза; cAMP - цАМФ, циклічний аденозинмонофосфат; Phosphodiesterase - фосфодіестераза, фермент, який розщеплює cAMP; Fluphenazin, Trifluphenasin, W7 (N-(6-Amino-hexyl)-5-chlor-1-naphthalinsulfonamid) - препарати, що блокують зв'язування іонів кальцію з білком кальмодуліном (флуфеназин, трифлуфеназин, W7); Indomethacine - індометацин, блокує активацію аденілатциклази; Forskulin - форсколін, підсилює активування аденілатциклази; 8-bromo-cAMP-8-бром-цАМФ, здатний в клітині виконувати функції цАМФ, проте - він не розщеплюється ферментом фосфодіестеразою; IBMX, Caffein, Theophyllin - IBMX, кофеїн, тефілін, інгібітори фосфодіестерази; gadolinium - гадоліній, блокує роботу кальцієвого механосенсорного каналу (Häder & Hemmersbach, 2017).

Циркадіанний (добовий) ритм гравітаксиса у фотосинтезуючого джгутикового евглени. *Euglena gracilis* - фотосинтезуюче джгутикове найпростіше, для якого характерний яскраво виражений гравітаксис, тобто орієнтація в просторі відповідно до напрямку дії вектора сили тяжіння. В синхронізованих клітинних культурах *Euglena gracilis* Lebert M. з колегами (1999) спостерігали чіткий циркадіанний ритм негативного гравітаксиса (тобто добовий ритм руху найпростішого проти напрямку вектора сили тяжіння).

Основний максимум чутливості був виявлений через 5 годин після початку суб'єктивного дня, основний мінімум - за 5 годин до початку суб'єктивного дня. Завдяки циркадіанному ритму негативної гравітропічної реакції - евглени починають рухатися до поверхні води посеред ночі. При швидкості від 50 до 100 мкм/сек відстань до 1-2 м найпростіші здатні подолати до сходу Сонця.

Переведення синхронізованих культур евглени в умови безперервного освітлення призвело до майже миттєвої втрати ритмічності. Навпаки, після переведення культури евглен в умови постійної темряви - евглени проявляли циркадіанний ритм з прогресуючим вкороченням періоду протягом більше 5 днів.

Ці результати контрастують з циркадіанним ритмом фототаксису у *Euglena*: в умовах постійної темряви у найпростіших встановлюється ендогенний ритм, який коливається в межах 23,6 - 24,3 години. Отримані дані свідчать про те, що циркадіанний ритм негативного

гравітаксиса потребує постійного підстроювання циклами світло-темрява, в той час як фототаксис є більш незалежним від підстроювання зовнішніми ритмами світла і темряви (Lebert et al., 1999).

Гравітропізм у рослин і грибів

Співвідношення між гравітропізмом і фототропізмом у спорангіофор гриба *Phycomyces blakesleeanus*. В умовах яскравого освітлення - спорангіофори гриба *Phycomyces blakesleeanus* ростуть вертикально вгору, проявляючи негативний гравітропізм. При слабкому освітленні - спорангіофори гриба ростуть у напрямку до джерела освітлення, для можливості винесення спорангіофор на поверхню і подальшого поширення спор. Чим нижче рівень освітленості - тим більше кут фототропічного вигину спорангіофор гриба у напрямку до джерела освітлення.

*NB! Спорангіофори - це органи спороношення, які складаються з ніжки та розташованого на її верхівці спорангію, нерідко ніжка закінчується щитковидим розширенням, на нижній поверхні якого розташовані спорангії (https://dic.academic.ru/dic.nsf/enc_geolog/).

Мукорові гриби отримали від бактерій ген білка ОСТІН, який у грибів виконує функцію статолітів в процесі гравірецепції. Відомо, що мукорові гриби сприймають гравітаційну інформацію через осадження білкових кристалів усередині їх вакуолей. Nguyen T.A. з колегами (2018) ідентифікували октаедричний протеїн, який формує матрикс внутрішньовакуолярних кристалів гриба - т.зв. білок ОСТІН. Проведення філогенетичного аналізу показало, що ген білка ОСТІН був отриманий грибами від бактерій в процесі т.зв. горизонтального перенесення генів.

В периплазмі бактерій білок ОСТІН утворює олігомери, які здатні з'єднуватися один з одним за допомогою дисульфідних зв'язків. Це дозволило припустити, що в клітинах бактерій, як і в клітинах гриба, білки ОСТІН виконують функції статолітів в процесі гравірецепції. Але, розрахунки швидкості осадження агрегатів білка ОСТІН показали, що в клітинах бактерій розміри цих агрегатів є не достатніми для здійснення ними гравічутливої функції.

*NB! Периплазма - це простір, який утворюється між плазматичною і зовнішньою мембранами грамнегативних бактерій. Вміст периплазматичного простору називається периплазмою (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

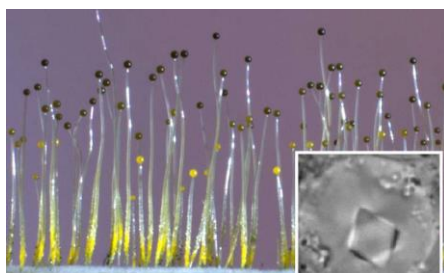


Рис. 27. Спорангіофори мукорового гриба *Phycomyces blakesleeanus*. На врізці - мікрофотографія кристала, сформованого білками ОСТІН (цитовано за <https://phys.org/news/2018-04-fungus-gravity-gene-bacteria.html>).

Після горизонтального перенесення гена від бактерій в клітини мукорових грибів - відбулися зміни в рівні полімеризації білків ОСТІН, що дозволило значно збільшити масштаб збірки полімерів і призвело до виникнення у цих білків гравітаційно-чутливої функції. Таким чином, автори роботи встановили, що горизонтальне перенесення гена може призвести до появи еволюційних нововведень у організма - нового господаря гена, в залежності від фізіологічного і клітинного контексту збірки відповідного білка (Nguyen et al., 2018).

*NB! Авторами роботи було показано, що в клітинах гриба в процесі еволюції білка ОСТІН - в його структурі змінилося розташування амінокислотних залишків цистеїну, які

відповідають за формування молекулярних зв'язків всередині білка і між білками. Ці зміни сприяли формуванню високополімерної кристалічної структури грибних білків ОСТІН (на відміну від білків ОСТІН в клітинах бактерій).

Але, цікаво відзначити, що крім змін в первинній структурі білка ОСТІН, в клітинах грибів присутні ще якісь фактори, які сприяють формуванню кристалічної структури даного білка - оскільки перенесення грибного гена білка ОСТІН в клітини ссавців призвело до синтезу білка, який кристали не формує (Nguyen et al., 2018).

Перехід до споруляції у грибів залежить від наявності гравітації. Експерименти, виконані на орбітальній космічній станції, показали, що під час відсутності світлового стимулу - присутність гравітації є необхідною умовою для початку плодоношення у грибів *Polyporus brumalis*.

Аномальний ріст стебла спостерігався в кліностабільній культурі грибів *Lentinus tigrinus* і *Polyporus brumalis*, але морфогенетичною стадією, яка найбільш залежала від сили тяжіння, була споруляція (в широкому сенсі).

Культури *Polyporus brumalis* на орбітальному космічному кораблі були не здатні продукувати пороїдний гіменофор і в експериментах з кліностабом на Землі навіть каріогамія була рідкісною в подібних культурах.



Рис. 28. Трутовик зимовий (*Polyporus brumalis*) (https://en.wikipedia.org/wiki/Polyporus_brumalis).



Рис. 29. Гриб гнойовик звичайний (*Coprinus cinereus*) (http://vlukoshke.ru/Coprinus_cinereus.php).

Вирощений в умовах симульованої в кліностабілі мікрогравітації гриб *Coprinus cinereus* був здатний продукувати зародки (примордії, зачатки) плодових тіл, які, однак, не давали спори, а потім їх розвиток переривався з утворенням нових примордіїв (зародкових тканин) на старих примордіях.

Таким чином, аналіз експериментальних даних свідчить про те, що проходження процесів мейозу і споруляції у грибів вимагає наявності вектора гравітації і пов'язане з ростом плодового тіла гриба (Moore, 1991).

Умови мікрогравітації призводять до зміни характеру роботи генів і до порушення негативної гравітропічної реакції у грибів глив (*Pleurotus ostreatus*). В наземних умовах плодове тіла грибів ростуть вгору, проявляючи негативний гравітропізм. В ряді досліджень вченими було показано, що в умовах невагомості порушується негативний гравітропізм плодових тіл грибів, а також - їх здатність формувати плодове тіла і спори.

Міузакі У. з колегами (2010) було встановлено, що в умовах симульованої в кліностабілі мікрогравітації у плодових тіл грибів глив (*Pleurotus ostreatus*) порушується негативний гравітропізм.

Щоб зрозуміти механізм формування і порушення гравітропізму у грибів, автори роботи провели дослідження генів, які змінили свою роботу у грибів глив в умовах мікрогравітації в порівнянні з наземним контролем (1Г).

В результаті проведених досліджень авторами роботи були виділені 36 індивідуальних генів: 17 з підвищеним рівнем активності і 19 зі зниженим рівнем активності в умовах кліностабілі. Було встановлено, що серед генів, робота яких змінилася в умовах мікрогравітації, були гени, які кодують білки, залучені в процес формування плодового тіла

грибів. Наприклад, в умовах мікрогравітації було показано зниження активності генів егеролізину і остреолізину. Відомо, що егеролізін і остреолізін в грибах *Agrocybe* і *Pleurotus* експресуються при формуванні плодового тіла цих грибів. А нещодавнє дослідження *P. ostreatus* показало, що остреолізін індукує початок формування плодових тіл і стимулює їх подальший розвиток.

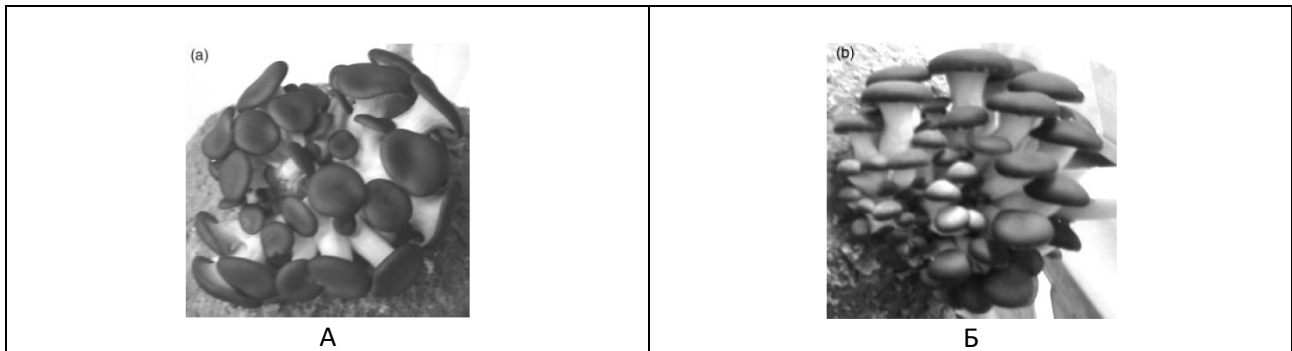


Рис. 30. Плодові тіла грибів глив (*Pleurotus ostreatus*), які розвивалися протягом 14 днів: (А) - в умовах модельованої за допомогою кліноштату мікрогравітації (0Г); (Б) - в звичайних гравітаційних умовах (1Г), контроль (Miyazaki et al., 2010).

Крім того, в умовах симульованої мікрогравітації авторами роботи було виявлено зниження активності гена аргінази. Аргіназа бере участь в орнітиновому біохімічному циклі, в ході якого в плодових тілах грибів накопичується сечовина і це накопичення є необхідним для дозрівання спор грибів. Таким чином, зниження активності цього гена в умовах симульованої мікрогравітації може пояснити порушення в спороношенні грибів в умовах невагомості, раніше показане в багатьох роботах.

В цілому, отримані авторами роботи дані свідчать про те, що в умовах невагомості порушується негативний гравітропізм плодових тіл грибів глив (*Pleurotus ostreatus*) і змінюється робота генів, які відповідають за клітинні механізми, задіяні у формуванні їх плодових тіл (Miyazaki et al., 2010).

Гравітропізм коренів. Важливою особливістю рослин є їх здатність адаптувати свій ріст в залежності від зовнішніх впливів, таких як світло, вода, температура і гравітація. Ці зміни в напрямку росту рослин називаються тропізмами, і вони сприяють виживанню і розмноженню рослин.

Корені модулюють свій ріст в напрямку сили тяжіння, щоб використовувати ґрунт для поглинання води і поживних речовин, а також для закріплення. Фізіологічний процес кореневого гравітропізма включає в себе сприйняття сили тяжіння, передачу сигналу, відповідну реакцію росту і відновлення нормального росту.

Сприйняття гравітаційного сигналу забезпечує крохмаль-статолітна система: в клітинах осьової частини кореневого чохла (т.зв. колумели) знаходяться щільні заповнені крохмалем амілопласти або статоліти, які осідають в напрямку сили тяжіння, що призводить до генерації сигналу, який викликає асиметричний ріст частин кореня.

*NB! Завдяки сприйняттю гравітаційного сигналу, в клітинах кореня відбувається асиметричний розподіл білків - транспортерів ауксину. А це сприяє асиметричному розподілу ауксину на верхній і нижній стороні кореня і до асиметричного росту різних частин кореня в зоні елонгації.

*NB! Гравітропічна відповідь коренів починається протягом декількох хвилин після гравітаційного стимулу і викликає при цьому геномну і негеномну відповіді рослини.

*NB! Гравітропічна відповідь коренів рослин складається з двох фаз: негеномної і геномної. Зміни рН і деякі речовини, такі як Ca^{2+} , реактивні форми кисню (ROS), оксид азоту (NO) і інозитол-1,4,5-трифосфат (InsP3), служать сигнальними молекулами в негеномній фазі гравітропічного вигину кореня; після цієї початкової фази - протягом 15 хвилин спостерігається зміна роботи генів, які регулюються ауксином (цитовано за Sato et al., 2015).

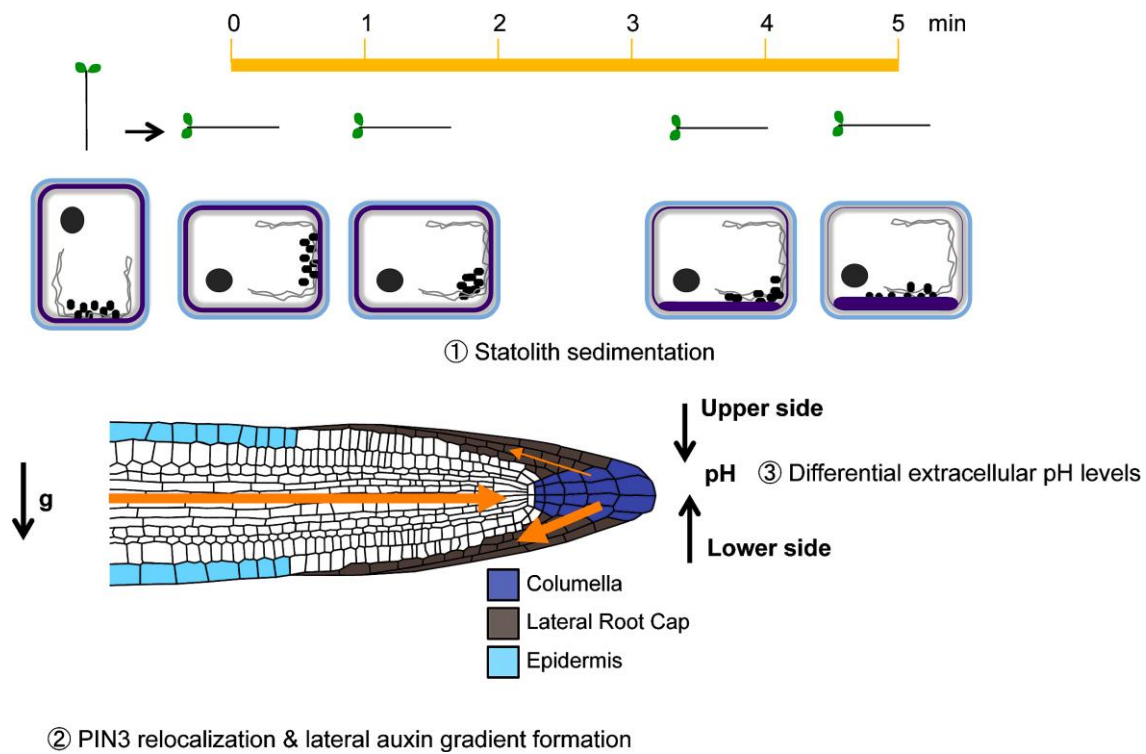


Рис. 31. Схема, яка відображає сприйняття гравітаційного сигналу коренями рослин арабідопсису (*Arabidopsis thaliana*). В момент часу 0 корені ростуть вертикально. Після повороту проростка на 90° градусів відбувається наступна серія подій: (1) Через 10 сек статоліти все ще знаходяться на попередньому місці, яке було нижньою стороною клітини кореневого чохла. Через 2 хвилини статоліти рухаються до нової нижньої сторони клітини і рівномірно по ній розподіляються вже через 5 хвилин. (2) Переміщення транспортерів ауксину PIN3 і PIN7 відбувається через 2 хвилини після гравітаційного стимулу, і, як наслідок, створюється градієнт ауксину між верхньою і нижньою сторонами кореня (тонкі і товсті помаранчеві стрілки, відповідно). Висока концентрація ауксину на нижній стороні кореня - гальмує ріст клітин, тоді як низька концентрація ауксину на верхній стороні кореня - стимулює ріст клітин, що в підсумку призводить до зміни напрямку росту кореня. (3) Під впливом ауксину формується різний позаклітинний рівень рН між верхньою (кислою) і нижньою (лужною) сторонами гравістимульованого кореня; при цьому в кислих умовах - ріст клітин кореня активується, а в лужних - значно уповільнюється (за Sato et al., 2015).

Класична крохмаль-статолітна теорія сприйняття гравітаційного сигналу рослинами - підтверджена на рослинах, мутантних по синтезу крохмалю. Відповідно до класичної теорії, сприйняття гравітаційного сигналу рослинами відбувається завдяки осіданню пластид, наповнених крохмалем на нижньому боці клітин, що призводить до подразнення механорецепторів і до запуску каскаду сигнальних реакцій, що забезпечують формування гравітропічного вигину органів рослини.

Kiss J.Z. з колегами (1998) вивчали формування гравітропізму у проростків арабідопсиса дикого типу і трьох крохмаль-дефіцитних мутантів, вирощуваних в темряві. І підтвердили класичну крохмаль-статолітну теорію гравітропізму: корені і гіпокотилі проростків дикого типу були набагато більш чутливими до гравітації, ніж відповідні органи мутантної лінії без крохмалю, а проміжні крохмальні мутанти демонстрували знижений гравітропізм, але мали реакції, близькі до реакції проростків дикого типу.

Отримані дані свідчать про те, що ступінь гравітаційної чутливості проростків пропорційна загальній масі пластид в клітині. Аналіз мутантних ліній арабідопсису з різним вмістом крохмалю в клітинах показав, що в коренях 51-60% вміст крохмалю в порівнянні з рівнем крохмалю у диких ліній є близьким до граничної кількості крохмалю, необхідної для повного гравітропізму, і що, таким чином, гравітаційна сенсорна система рослин є "надлишковою" (Kiss et al., 1998).

Світло сприяє підвищенню гравітропічної чутливості проростків тютюну, дефіцитних за крохмалем за рахунок збільшення розмірів пластид. Vitha S. з колегами (1998) вирощували в темряві рослини тютюну (*Nicotiana sylvestris*), дефіцитні за вмістом крохмалю, і вивчали їх здатність до гравітропічної реакції.

Гіпокотилі мутантних рослин були позбавлені амілопластів і показали сильно редуковану гравітропічну реакцію. Але, гравітропізм мутантних рослин значно покращився, при вирощуванні проростків в умовах освітлення. Проте, все одно був слабкішим за гравітропічну чутливість проростків дикого типу.

Дослідження показали, що вплив світла збільшив розміри пластид, це сприяло їх осадженню і покращило гравітропічні реакції проростків мутантної лінії рослин. Отримані дані підтверджують роль маси пластид в ефективності їх осадження, необхідної для сприйняття гравітаційного сигналу рослиною (Vitha et al., 1998).

Конкуренція між гравітропізмом і фототропізмом у рослин

Зазвичай, пагони ростуть в напрямку до джерела світла для забезпечення процесу фотосинтезу енергією. Якщо джерело світла розташоване таким чином, що пагон повинен рости в сторону - то сигнали фоторецепторів скасовують гравітропічні сигнали і пагон росте не вгору, а в сторону.

Червоне і дальнє червоне світло інгібують негативний гравітропізм гіпокотилів проростків. Фітохроми - це фоторецептори рослин на червоне і дальнє червоне світло, які регулюють різні аспекти розвитку рослин.

Однією з менш зрозумілих ролей фітохромів є інгібування ними негативного гравітропізма у гіпокотилі, що призводить до втрати гіпокотилем здатності формувати негативний гравітропізм і, як наслідок, до випадкового напрямку росту рослин в червоному або далекому червоному світлі. Ця світлова відповідь дозволяє проросткам згинатися до синього світла після їх появи з ґрунту.

Фітохроми інгібують негативний гравітропізм гіпокотилі, через інгібування чотирьох білкових факторів (PIF1, PIF3, PIF4, PIF5), які взаємодіють з фітохромом, про що свідчить агравітропізм гіпокотилів чотирикратних мутантів *pif1 pif3 pif4 pif5*, вирощуваних в темряві.

Kim K. з колегами (2011) було показано, що в червоному або далекому червоному світлі - фітохроми пригнічують негативний гравітропізм гіпокотилі шляхом перетворення наповнених крохмалем ендодермальних амілопластів, чутливих до гравітації, в інші пластиди (хлоропласти або етіопласти), тоді як в темряві - фактори PIFs стимулюють розвиток негативного гравітропізма, через інгібування перетворення ендодермальних амілопластів в етіопласти.

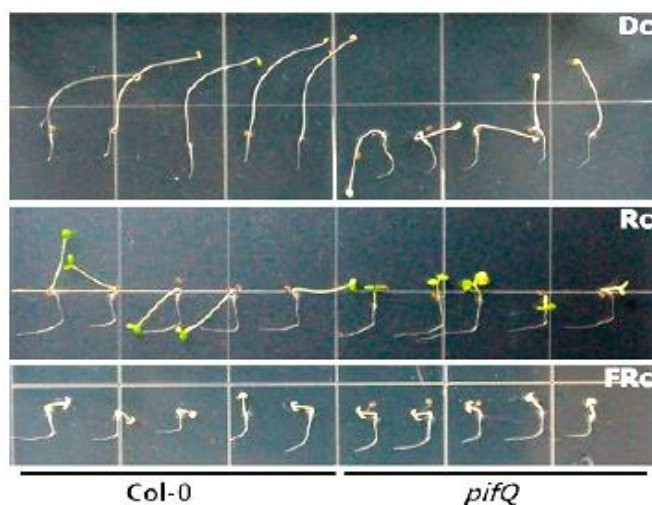
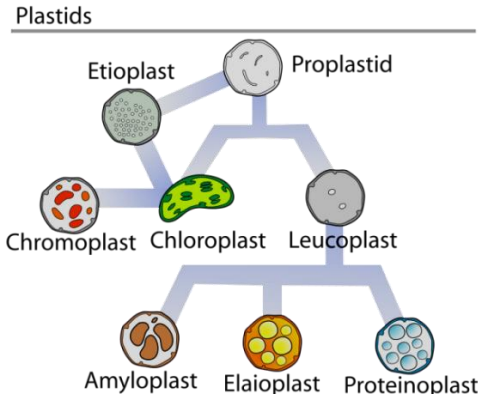


Рис. 32. Гіпокотилі проростків, мутантних по чотирьом факторам *pifQ*, не реагують на зміни в напрямку сили тяжіння. В експерименті напрямок сили тяжіння було змінено шляхом повороту планшетів на 90° після того, як дикий тип (Col-0) і чотириразовий мутант *pif* (*pifQ*)

вирощувалися протягом 2 днів або в темряві, або в умовах впливу безперервного червоного / далекого червоного світла на вертикальних пластинах (планшетах), покритих агаром. Потім, планшети інкубували протягом ще 2 днів при тих же умовах освітлення. Де: Dc - постійна темрява; Rc - безперервне червоне освітлення ($20 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) і FRc - безперервне дальнє червоне освітлення ($2,4 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) (Kim et al., 2011).

Аналіз трансгенних рослин, які експресують PIF1, дозволив авторам роботи показати, що робота білкового фактора PIF1 в клітинах ендодерми: а) є достатньою для пригнічення перетворення ендодермальних амілопластів в етіопласти і б) здатна відновити негативний гравітропізм гіпокотилів у чотириразового мутанта *rif* в темряві.

Хоча функції фітохромів при інгібуванні гравітропізма і розвитку хлоропластів зазвичай вважаються різними, результати, отримані Kim К. з колегами (2011), показують, що ці дві функції тісно взаємопов'язані (Kim et al., 2011).

 <p>Рис. 33. Різні типи пластид в рослинних клітинах (https://en.wikipedia.org/wiki/Etioplast).</p>	<p>*NB! <u>Етіопласти</u> – це хлоропласти, які не піддавалися впливу сонячного світла. Вони зазвичай є у квіткових рослин (покритонасінних), які вирощуються в темряві. Якщо рослина була повністю позбавлена світла протягом декількох днів – її хлоропласти перетворюються в етіопласти. У етіопластів відсутні активні пігменти, через це їх можна віднести до лейкопластів. Етіопласти спроможні перетворюватися в хлоропласти і посилено синтезувати хлорофіл під впливом рослинного гормону цитокініну і світла (https://ru.wikipedia.org/wiki/).</p>
---	---

Взаємодія між позитивним гравітропізмом і негативним фототропізмом у коренів проростків арабідопсису. Відомо, що корені рослин проявляють позитивний гравітропізм, т.т. ростуть вниз, у напрямку вектора тяжіння, і негативний фототропізм, т.т. ростуть у напрямку від джерела освітлення. Vitha S. з колегами (2000) вивчали вплив світла на розвиток гравітропізма коренів у проростків *Arabidopsis* дикого типу і у двох безкрахмальних мутантів, *pgm1-1* і *adg1-1*.

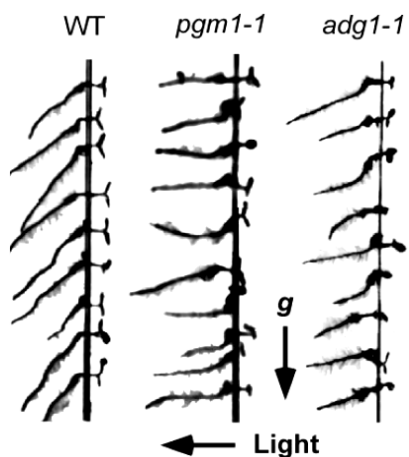


Рис. 34. Негативний фототропізм коренів проростків арабідопсису. Проростки вирощувалися протягом 3 днів в умовах дії одностороннього джерела білого світла. Корені безкрахмальних мутантів проявили дуже сильний негативний фототропізм (*pgm1-1*, *adg1-1*) в порівнянні з

коренями проростків дикого типу (WT), для яких був більше характерним позитивний гравітропізм. Де: Light - напрямом джерела світла; g - напрямом вектора гравітації (Vitha et al., 2000).

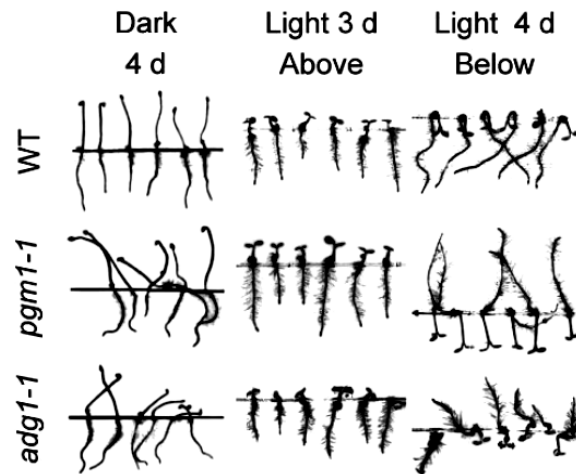


Рис. 35. Ріст диких (WT) і безкрахмальних мутантних ліній (adg1-1, pgm1-1) проростків арабідосиса в умовах постійної темряви (Dark), а також в умовах впливу на проростки джерела світла зверху (Above) або знизу (Below). При напрямку джерела освітлення на проростки зверху - корені всіх трьох генотипів арабідосиса, росли вниз. Однак, при спрямуванні джерела світла знизу - корені мутантних ліній почали рости вгору, демонструючи негативний фототропізм і практично повну відсутність позитивного гравітропізму, зокрема, для лінії pgm1-1. При цьому ріст коренів дикого типу був частково спрямований від світла, але все ж був нижче горизонталі. Зверніть увагу на позитивний фототропізм гіпокотилів для всіх тестованих ліній арабідосиса. Де: WT - проростки дикої лінії арабідосиса; adg1-1, pgm1-1 - два безкрахмальних мутанта арабідосиса; умови вирощування проростків: Dark, 4d - постійна темрява протягом 4 днів; Light 3d Above - напрям джерела освітлення зверху протягом 3 днів; Light 4d, Below - напрям джерела освітлення знизу протягом 4 днів (Vitha et al., 2000).

Проведені дослідження показали, що у коренів проростків дикого типу позитивний гравітропізм був сильнішим, ніж негативний фототропізм в деяких, але не у всіх варіантах розташування джерела світла відносно коренів. Було встановлено, що кореневий фототропізм може мати значний вплив на розвиток гравітропічної реакції коренів.

Корені безкрахмальних мутантів були значно менш чутливими до гравітаційного стимулу, ніж корені проростків дикого типу. При цьому для безкрахмальних мутантів було показано домінування негативного фототропізму над позитивним гравітропізмом (Vitha et al., 2000).

Гідротропізм є сильнішим за гравітропізм: при нестачі вологи корені ростуть до води проти вектора гравітації. При цьому вони знижують рівень сприйняття гравітропного сигналу в своїх клітинах. У відповідь на градієнт зволоження в навколишньому середовищі - корені здатні виявляти гідротропізм, тобто спрямований ріст до джерела вологи. Однак для прояву гідротропізму, корені повинні подолати вплив гравітропізму, домінуючого на Землі.

Takahashi N. з колегами (2003) було показано, що градієнт зволоження або водний стрес викликали негайну деградацію крохмалю в амілопластах в клітинах осьової частини кореневого чохла (т.зв. колумели) у рослин арабідосиса (*Arabidopsis*) і редиски (*Raphanus sativus*). Таким чином, розвиток гідротропної відповіді у коренів супроводжувався зниженням вмісту крохмалю в клітинах осьової частини кореневого чохла (колумели) і, відповідно, гальмуванням гравітропізму коренів.

В умовах штучного водного стресу, спровокованого впливом сорбіту або маніту, - також була відзначена швидка деградація амілопластів в клітинах колумели. При цьому як штучно гідротропно-стимульовані корені, так і корені, які знаходилися в стані водного

стресу через посуху, - в обох випадках в умовах водного стресу корені показали знижену чутливість до гравітації. Корені безкрахмального мутанта *pgm1-1* показали підвищений рівень гідротропізму в порівнянні з таким у дикого типу.

В цілому, отримані результати свідчать про те, що зменшення чутливості коренів до гравітації, пов'язано з деградацією амілопластів в клітинах колумели. Таким чином, зниження коренями своєї здатності сприймати гравітропічні сигнали дозволяє їм проявляти гідротропізм (Takahashi et al., 2003).

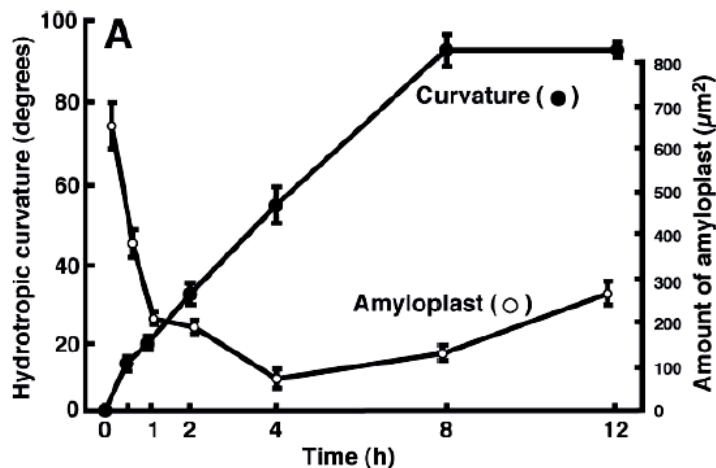


Рис. 36. Гідротропна відповідь коренів арабідопсиса і зменшення кількості амілопластів в кореновому чохлаку. А - Корені піддавали впливу градієнта вологості, щоб викликати гідротропізм; потім вимірювали кривизну гідротропічного вигину і підраховували кількість амілопластів в коренях з урахуванням часу розвитку гідротропічної реакції. Де: Hydrotropic curvature, degrees - величина гідротропічного вигину коренів, градуси; Amount of amyloplast, μkm^2 - кількість амілопластів на μkm^2 ; Amyloplast - графік для кількості амілопластів; Curvature - графік для величини гідротропічного вигину коренів (Takahashi et al., 2003).

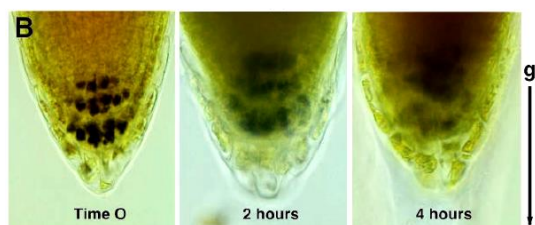


Рис. 37. Зменшення кількості амілопластів в клітинах осової частини коренового чохлака (колумели) коренів арабідопсису після гідротропної стимуляції градієнтом вологості. Зліва: до впливу градієнта вологості - амілопласти осідають в клітинах колумели (зліва). У центрі - клітини колумели коренового чохлака через 2 години після початку впливу градієнта вологості. Справа: клітини колумели коренового чохлака через 4 години після початку впливу градієнта вологості. Крохмаль амілопластів забарвлювали розчином I2-KI і спостерігали під світловим мікроскопом. Стрілка (g) вказує напрямок сили тяжіння (Takahashi et al., 2003).

Вплив умов мікрогравітації на формування негативного гравітропізму у протонемі мохів. Кожна апикальна (верхівкова) клітина моху *Ceratodon purpureus* відчуває гравітаційний вектор і регулює полярність свого росту, створюючи цілі культури прямостоячих протонем (негативний гравітропізм).

Kern V.D. з колегами (2005) вивчали вплив умов мікрогравітації космічного польоту і мікрогравітації, симульованої за допомогою кліностату, на формування гравітропічної реакції у мохів.

Культури мохів, вирощені в умовах мікрогравітації космічного польоту, демонстрували дві послідовні фази росту і формування ростового малюнка: радіальний ріст з подальшим спіральним ростом з обертанням протонем за годинниковою стрілкою.

В умовах мікрогравітації, симульованої за допомогою кліноштату, також спостерігався невідповідний ріст культури мохів, включаючи спіральний ріст за годинниковою стрілкою.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що існують моделі росту, які розгортаються в умовах мікрогравітації. І ця ростова відповідь, як правило, маскується в присутності постійного гравітаційного поля Землі (Kern et al., 2005).

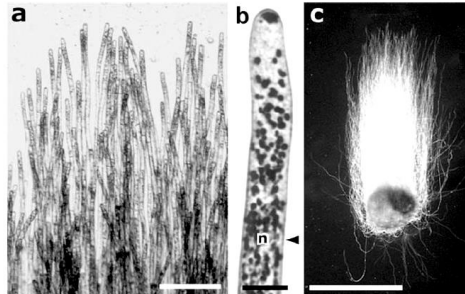


Рис. 38 (а–с). Негативний гравітропізм апікальних клітин в протонемах моху *Ceratodon* в умовах наземного рівня гравітації 1Г. Для кожної фотографії - вектор гравітації спрямований вниз. (а) - Культура моху, яка вирощувалася в умовах темряви; (б) - частина кінчика однієї з апікальних клітин, забарвлених на крохмаль, показує велику кількість пластид (вказано стрілками) і розташування ядра (вказано "n"); (с) - 14-денний наземний контроль культури моху; темна пляма внизу - це місце, де мох був щеплений на поживне середовище (Kern et al., 2005).

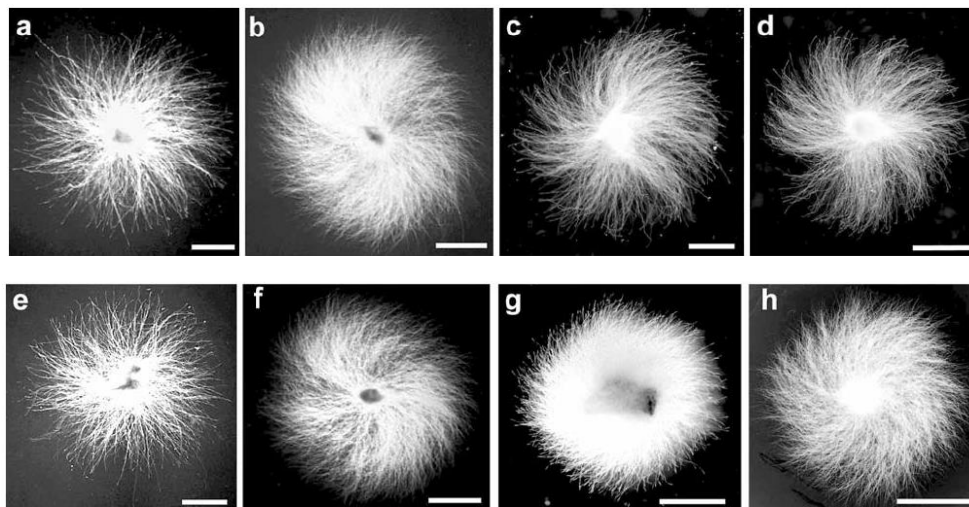


Рис. 39 (а–h). Спіральний ріст протонем моху за годинниковою стрілкою відбувається, коли постійний гравітаційний стимул знімається в умовах мікрогравітації космічного польоту або в умовах кліноротації. Ступінь вираженості спірального росту протонем моху за годинниковою стрілкою в культурах, що підлягали дії мікрогравітації, варіювала від явно видимої до нульової. Всі культури вирощували в темряві і потім хімічно фіксували. Де: (а-d) - протонемами моху, вирощені під час космічного польоту; (е-h) - протонемами моху, вирощені на Землі в умовах обертання на кліноштані (симульована мікрогравітація). (а) - Семиденна культура моху в умовах космічного польоту і (е) наземна група, яку вирощували в кліноштані (мікрогравітація) - показують радіальний ріст; (б) - чотириденна культура моху в умовах космічного польоту і (ф) група, що піддавалася впливу симульованої мікрогравітації в кліноштані - демонструють спіральний ріст за годинниковою стрілкою; (с, d) - семиденні культури моху в умовах космічного польоту, що показують спіральний характер росту протонем; (g) – семиденна ротація культури моху в кліноштані; (h) - чотириденна ротація культури моху в кліноштані. 1 бар = 2 мм для с, d, g; 1 бар = 5 мм для а, b, e, f і h (Kern et al., 2005).

Гравітація і старіння організмів

В умовах невагомості виявлено зниження активності роботи генів, які зменшують тривалість життя круглих черв'яків в умовах наземного рівня гравітації.

Як умови мікрогравітації космічного польоту впливають на старіння організмів, поки не встановлено. Honda Y. з колегами (2012) було показано, що у круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans* в умовах космічного польоту відбувалося пригнічення формування трансгенно експресуємих агрегатів поліглутаміну, які зазвичай накопичуються з віком.

Подальші дослідження дозволили виявити у круглих черв'яків в умовах космічного польоту інгібування активності семи генів. При цьому відключення кожного з цих семи генів, робота яких була пригнічена в космосі, продовжувало тривалість життя черв'яків на Землі.

Ці гени кодують білки, які, пов'язані з нейрональною або ендокринною передачею сигналів: ацетилхоліновий рецептор, переносник ацетилхоліну, холінацетилтрансфераза, родопсиноподібний рецептор, глутамат-керуємих хлоридний канал, шейкерна родина калієвих каналів і інсуліноподібний пептид.

Більшість з цих генів опосередковують контроль тривалості життя круглих черв'яків: а) за допомогою ключових факторів транскрипції, що регулюють тривалість життя, DAF-16 і / або SKN-1, б) за допомогою сигналів обмеження харчування - окремо або в комбінації.

Отримані результати свідчать про те, що старіння у круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans* сповільнюється за рахунок нейрональної і ендокринної відповіді на сигнали космічного середовища (Honda et al., 2012).

Вплив умов гіпергравітації на тривалість життя круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans*.

Saldanha J.N. з колегами (2016) припустили, що вплив умов гіпергравітації може завдати шкоди круглим черв'якам *Caenorhabditis elegans*, яка не буде настільки очевидною, як, наприклад, зміна швидкості руху або репродуктивної здатності, але яка призведе до зменшення тривалості їх життя.

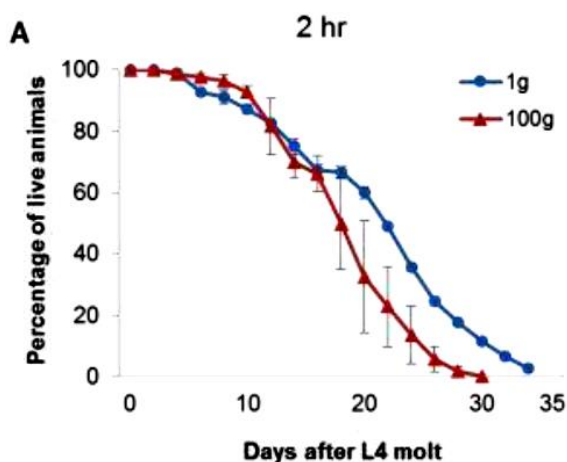


Рис. 40. Вплив умов гіпергравітації в 100 Г протягом 2-х годин на L4 личинок круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans* редукує середню тривалість життя дорослих черв'яків на 13% (на 4-5 днів). Де: Days after L4 molt - дні після линьки L4 личинок черв'яків; Percentage of live animals - відсоток живих черв'яків; 1g - контроль, наземний рівень гравітації (на графіку - блакитні кола), 1Г; 100g - умови гіпергравітації, 100 Г (на графіку - червоні трикутники); 2 hr - 2 години (Saldanha et al., 2016).

Для вивчення впливу гіпергравітації на тривалість життя круглих черв'яків, L4 личинок піддавали дії гіпергравітації і потім аналізували тривалість життя експериментальних і контрольних дорослих черв'яків.

В результаті проведених досліджень було показано, що вплив гіпергравітації в 100Г протягом 2-х годин на L4 личинок знизив середню тривалість життя дорослих круглих

черв'яків, які сформувалися з цих личинок, на 13% в порівнянні з контрольними черв'яками (1Г) (Saldanha et al., 2016).

Контрольні питання:

1. Закон Всесвітнього тяжіння.
2. Експериментальне створення умов мікрогравітації і гіпергравітації.
3. Вплив мікрогравітації (невагомості) на живі організми.
4. Вплив гіпергравітації на живі організми.
5. Гравірецептори тварин і рослин.
6. Позитивний і негативний гравітропізм.

Література:

- Алпатов А.М. Циркадианне ритми в условиях изменённой силы тяжести. 14.00.17 – нормальная физиология. Автореферат диссертации на соискание учёной степени д.б.н. – М. 2000.
- Зотов В.А. Циркадианный ритм активности насекомых: хронобиологические и экологические аспекты. 03.00.09 - энтомология. Автореферат диссертации на соискание учёной степени д.б.н. -М., 2001.
- Adell T., Salo E., van Loon J.J., Auletta G. Planarians sense simulated microgravity and hypergravity // *Biomed. Res. Int.* - 2014:679672. doi: 10.1155/2014/679672.
- Balaban P.M., Malyshev A.Y., Ierusalimsky V.N., Aseyev N., Korshunova T.A., et al. Functional changes in the snail statocyst system elicited by microgravity // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6(3):e17710. doi: 10.1371/journal.pone.0017710.
- Blaber E., Sato K., Almeida E.A. Stem cell health and tissue regeneration in microgravity // *Stem Cells Dev.* - 2014. – Vol. 23, Suppl. 1. – P. 73 - 78. doi: 10.1089/scd.2014.0408.
- Bloomfield S.A., Martinez D.A., Boudreaux R.D., Mantri A.V. Microgravity Stress: Bone and Connective Tissue // *Compr. Physiol.* – 2016. – Vol. 6(2). – P. 645 - 686. doi: 10.1002/cphy.c130027.
- Casey T., Patel O.V., Plaut K. Transcriptomes reveal alterations in gravity impact circadian clocks and activate mechanotransduction pathways with adaptation through epigenetic change // *Physiol Genomics.* – 2015. – Vol. 47(4). – P. 113 - 128. doi: 10.1152/physiolgenomics.00117.2014.
- Chatani M., Mantoku A., Takeyama K., Abduweli D., Sugamori Y., et al. Microgravity promotes osteoclast activity in medaka fish reared at the international space station // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5:14172. doi: 10.1038/srep14172.
- Chebli Y., Pujol L., Shojaeifard A., Brouwer I., van Loon J.J., Geitmann A. Cell wall assembly and intracellular trafficking in plant cells are directly affected by changes in the magnitude of gravitational acceleration // *PLoS One.* - 2013. – Vol. 8(3):e58246. doi: 10.1371/journal.pone.0058246.
- Conger B.V., Tomaszewski Z.Jr., McDaniel J.K., Vasilenko A. Spaceflight reduces somatic embryogenesis in orchardgrass (*Poaceae*) // *Plant Cell Environ.* – 1998. – Vol. 21(11). – P. 1197 - 1203.
- Cowles J.R., Scheld H.W., Lemay R., Peterson C. Growth and lignification in seedlings exposed to eight days of microgravity // *Ann Bot.* – 1984. – Vol. 54 (Suppl 3). – P. 33 - 48.
- Gao Y., Xu D., Zhao L., Zhang M., Sun Y. Effects of microgravity on DNA damage response in *Caenorhabditis elegans* during Shenzhou-8 spaceflight // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2015. – Vol. 91(7). – P. 531 - 539. doi: 10.3109/09553002.2015.1043754.
- Häder D.P., Hemmersbach R. Gravitaxis in *Euglena* // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 979. – P. 237 - 266. doi: 10.1007/978-3-319-54910-1_12.
- Hammond T.G., Stodieck L., Birdsall H.H., Becker J.L., Koenig P., Hammond J.S., Gunter M.A., Allen P.L. Effects of microgravity on the virulence of *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Astrobiology.* – 2013. – Vol. 13(11). – P. 1081 - 1090. doi: 10.1089/ast.2013.0986.
- Harrington M.J., Mutwil M., Barriere Y., Sibout, R. Molecular Biology of Lignification in Grasses. *Advances in Botanical Research*, - 2012. – Vol. 61. – P. 77 – 112.
- Hemmersbach R., Volkmann D., Hader D.P. Graviorientation in protists and plants // *J. Plant Physiol.* – 1999. – Vol. 154(1). – P. 1 - 15.
- Honda Y., Higashibata A., Matsunaga Y., Yonezawa Y., Kawano T., et al. Genes down-regulated in spaceflight are involved in the control of longevity in *Caenorhabditis elegans* // *Sci. Rep.* – 2012. – Vol. 2:487. doi: 10.1038/srep00487.
- Horn E.R., Gabriel M. Gender-related sensitivity of development and growth to real microgravity in *Xenopus laevis* // *J. Exp. Zool. A Ecol. Genet. Physiol.* – 2014. – Vol. 321(1). – P. 1 - 12. doi: 10.1002/jez.1831.

- Hu Z., Wang Y., Sun Z., Wang H., Zhou H., et al. miRNA-132-3p inhibits osteoblast differentiation by targeting Ep300 in simulated microgravity // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5:18655. doi: 10.1038/srep18655.
- Johnson C.M., Subramanian A., Pattathil S., Correll M.J., Kiss J.Z. Comparative transcriptomics indicate changes in cell wall organization and stress response in seedlings during spaceflight // *Am. J. Bot.* – 2017. – Vol. 104(8). – P. 1219 - 1231. doi: 10.3732/ajb.1700079.
- Kamal K.Y., Herranz R., van Loon J.J.W.A., Medina F.J. Simulated microgravity, Mars gravity, and 2g hypergravity affect cell cycle regulation, ribosome biogenesis, and epigenetics in *Arabidopsis* cell cultures // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8(1):6424. doi: 10.1038/s41598-018-24942-7.
- Kashiwagi A., Hanada H., Kawakami S., Kubo H., Shinkai T., Fujii H., Kashiwagi K. Effects of high gravity on amphibian development // *Biol. Sci. Space.* – 2003. – Vol. 17(3). - P. 215 - 216.
- Kern V.D., Schwuchow J.M., Reed D.W., Nadeau J.A., Lucas J., Skripnikov A., Sack F.D. Gravitropic moss cells default to spiral growth on the clinostat and in microgravity during spaceflight // *Planta.* – 2005. – Vol. 221(1). – P. 149 - 157.
- Kim K., Shin J., Lee S.H., Kweon H.S., Maloof J.N., Choi G. Phytochromes inhibit hypocotyl negative gravitropism by regulating the development of endodermal amyloplasts through phytochrome-interacting factors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2011. – Vol. 108(4). – P. 1729 - 1734. doi: 10.1073/pnas.1011066108.
- Kiss J.Z., Guisinger M.M., Miller A.J. What is the threshold amount of starch necessary for full gravitropic sensitivity? // *Adv. Space Res.* – 1998. – Vol. 21(8-9). – P. 1197 - 1202.
- Krause M., Bräucker R. Gravitaxis of *Bursaria truncatella*: electrophysiological and behavioural analyses of a large ciliate cell // *Eur. J. Protistol.* – 2009. – Vol. 45(2). – P. 98-111. doi: 10.1016/j.ejop.2008.09.001.
- Lebert M., Porst M., Hader D.P. Circadian rhythm of gravitaxis in *Euglena gracilis* // *J. Plant Physiol.* – 1999. – Vol. 155(3). – P. 344 - 349.
- Li N., An L., Hang H. Increased sensitivity of DNA damage response-deficient cells to stimulated microgravity-induced DNA lesions // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10(4):e0125236. doi: 10.1371/journal.pone.0125236.
- Marcu O., Lera M.P., Sanchez M.E., Levic E., Higgins L.A., et al. Innate immune responses of *Drosophila melanogaster* are altered by spaceflight // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6(1):e15361. doi: 10.1371/journal.pone.0015361.
- Martin T., Mauvieux B., Bulla J., Quarck G., Davenne D., et al. Vestibular loss disrupts daily rhythm in rats // *J. Appl. Physiol* (1985). – 2015. – Vol. 118(3). - P. 310 - 318. doi: 10.1152/japplphysiol.00811.2014.
- Miyazaki Y., Sunagawa M., Higashibata A., Ishioka N., Babasaki K., Yamazaki T. Differentially expressed genes under simulated microgravity in fruiting bodies of the fungus *Pleurotus ostreatus* // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2010. – Vol. 307(1):72 - 79. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.01966.x.
- Moore D. Perception and response to gravity in higher fungi—a critical appraisal // *New Phytol.* – 1991. – Vol. 117. – P. 3 - 23.
- Nevzgodina V., Gaubin Y., Kovalev E.E., Planel H., Clegg J., Gasset G, Maximova E.N., Pianezzi B. Changes in developmental capacity of artemia cyst and chromosomal aberrations in lettuce seeds flown aboard Salyut-7 (Biobloc III experiment) // *Adv. Space Res.* – 1984. – Vol.4(10). – P. 71 - 76.
- Nguyen T.A., Greig J., Khan A., Goh C., Jedd G. Evolutionary novelty in gravity sensing through horizontal gene transfer and high-order protein assembly // *PLoS Biol.* – 2018. – Vol. 16(4):e2004920. doi: 10.1371/journal.pbio.2004920.
- Pattathil S., Ingwers M.W., Victoriano O.L., Kandemkavil S., McGuire M.A., Teskey R.O., Aubrey D.P. Cell wall ultrastructure of stem wood, roots, and needles of a conifer varies in response to moisture availability // *Frontiers Plant Science.* – 2016. – Vol. 7:882.
- Radugina E.A., Almeida E.A.C., Blaber E., Poplinskaya V.A., Markitantova Y.V., Grigoryan E.N. Exposure to microgravity for 30 days onboard Bion M1 caused muscle atrophy and impaired regeneration in murine femoral Quadriceps // *Life Sci. Space Res. (Amst).* – 2018. – Vol. 16. – P. 18 - 25. doi: 10.1016/j.lssr.2017.08.005.
- Ryba-White M., Nedukha O., Hilaire E., Guikema J.A., Kordyum E., Leach J.E. Growth in microgravity increases susceptibility of soybean to a fungal pathogen // *Plant Cell Physiol.* – 2001. – Vol. 42(6). – P. 657 - 664.
- Saldanha J.N., Pandey S., Powell-Coffman J.A. The effects of short-term hypergravity on *Caenorhabditis elegans* // *Life Sci. Space Res. (Amst).* – 2016. – Vol. 10. – P. 38 - 46. doi: 10.1016/j.lssr.2016.06.003.
- Sato E.M., Hijazi H., Bennett M.J., Vissenberg K., Swarup R. New insights into root gravitropic signaling // *J. Exp. Bot.* – 2015. – Vol. 66(8). – P. 2155 - 2165. doi: 10.1093/jxb/eru515.

- Takahashi N., Yamazaki Y., Kobayashi A., Higashitani A., Takahashi H. Hydrotropism interacts with gravitropism by degrading amyloplasts in seedling roots of *Arabidopsis* and radish // *Plant Physiol.* – 2003. – Vol. 132(2). – P. 805 - 810.
- Taylor K., Kleinhesselink K., George M.D., Morgan R., Smallwood T., et al. Toll mediated infection response is altered by gravity and spaceflight in *Drosophila* // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9(1):e86485. doi: 10.1371/journal.pone.0086485.
- Vitha S., Yang M., Kiss J.Z., Sack F.D. Light promotion of hypocotyl gravitropism of a starch-deficient tobacco mutant correlates with plastid enlargement and sedimentation // *Plant Physiol.* – 1998. – Vol. 116(2). – P. 495 - 502.
- Vitha S., Zhao L., Sack F.D. Interaction of root gravitropism and phototropism in *Arabidopsis* wild-type and starchless mutants // *Plant Physiol.* – 2000. – Vol. 122(2). – P. 453 - 462.
- Vorselen D., Roos W.H., MacKintosh F.C., Wuite G.J., van Loon J.J. The role of the cytoskeleton in sensing changes in gravity by nonspecialized cells // *FASEB J.* – 2014. – Vol. 28(2). – P. 536 - 547. doi: 10.1096/fj.13-236356.
- Wang H., Yan Y., Rong D., Wang J., Wang H., et al. Increased biofilm formation ability in *Klebsiella pneumoniae* after short-term exposure to a simulated microgravity environment // *Microbiologyopen.* – 2016. – Vol. 5(5). – P. 793 - 801. doi: 10.1002/mbo3.370.
- Zupanska A.K., LeFrois C., Ferl R.J., Paul A.L. HSF A2 Functions in the Physiological Adaptation of Undifferentiated Plant Cells to Spaceflight // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20(2). pii: E390. doi: 10.3390/ijms20020390.

Тема 7. Вплив температури навколишнього середовища на живі організми

7.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Температурні рецептори і РНК-термометри. В клітинах периферичної нервової системи рецепторами, які реагують на зміни температури навколишнього середовища, є температуро-чутливі білки-канали (TRP група). При зміні температури навколишнього середовища - білки-канали відкриваються, в цитоплазму нейрона заходять іони кальцію, що запускає потенціал дії і передачу в центральну нервову систему сигналу про зміну температури навколишнього середовища. NB! Будова хвостової ділянки білка-каналу визначає, при якій температурі навколишнього середовища відбудеться відкриття каналу.

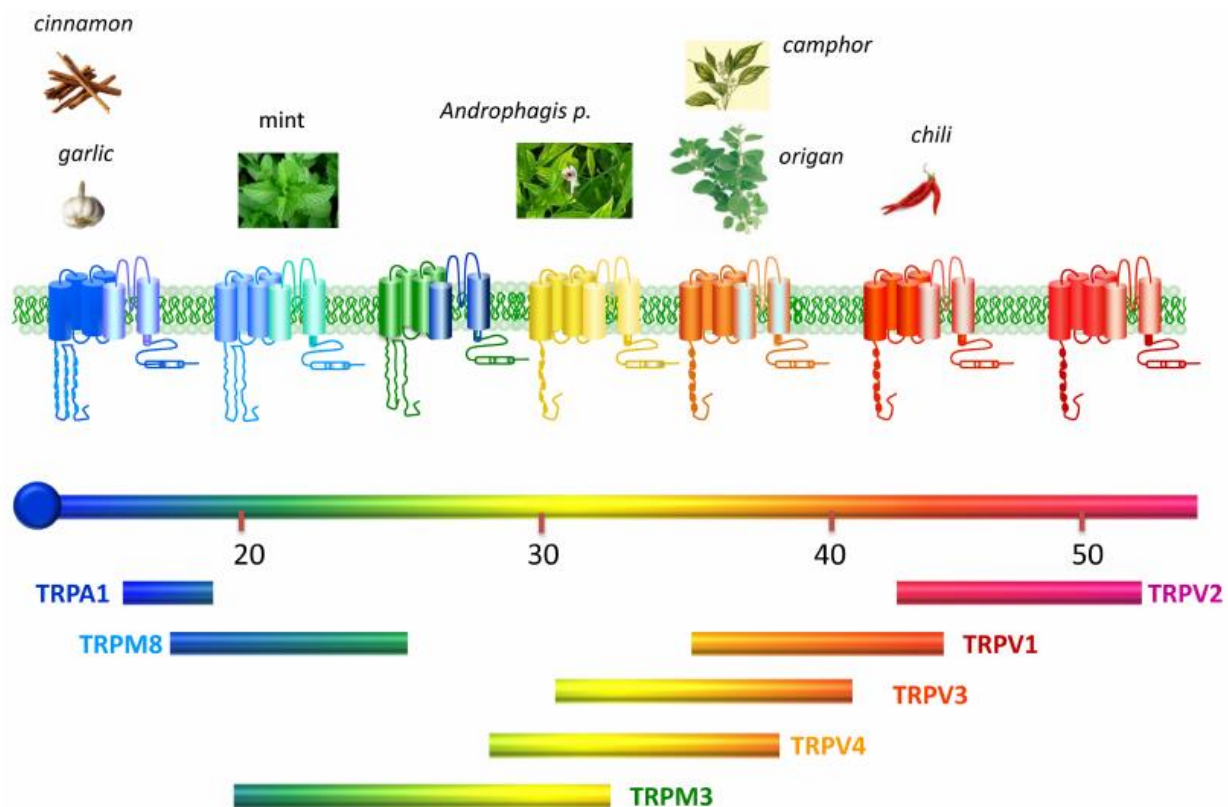
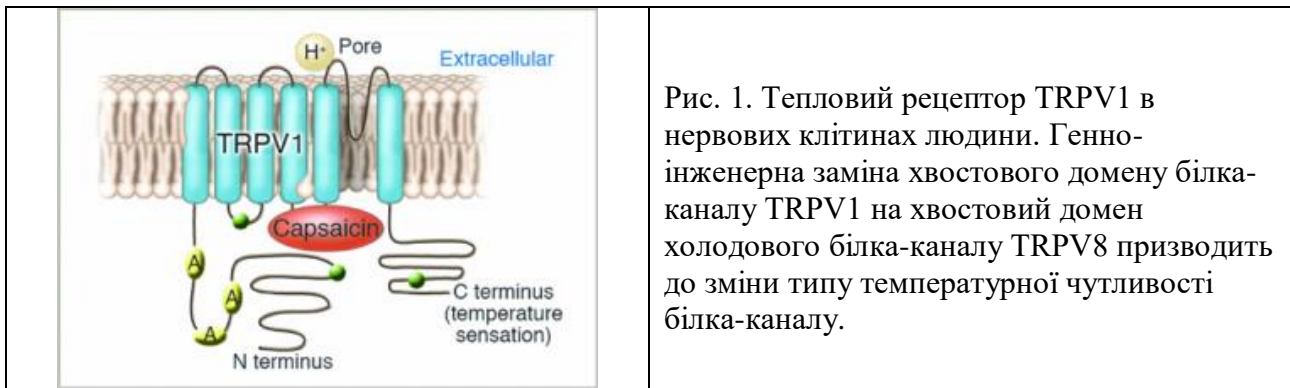


Рис. 2. Типи температуро-залежних іонних каналів у плазматичній мембрані нервових клітин. Різні температуро-чутливі білки-канали мають різний тепловий поріг активації - від дуже низьких температур (TRPA1 білок-канал) до дуже високих температур (TRPV2 білок-канал) (температура активації білка-каналу визначається будовою його хвостової ділянки). Крім того, кожен температурний TRP-білок-канал може активуватися хімічними речовинами, які входять до складу часнику, м'яти, перцю і т.н. (за <https://www.google.com.ua/search?q=temperature+receptors>).

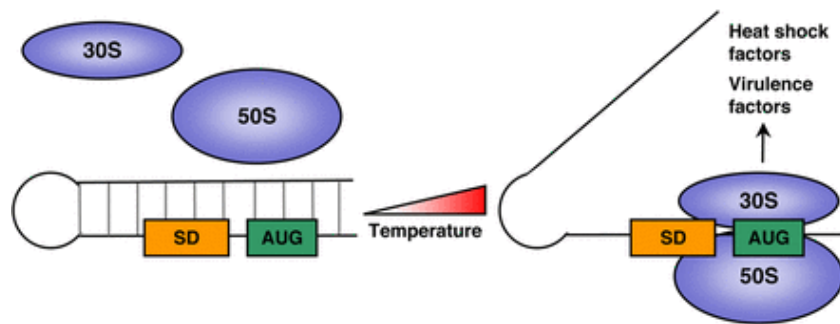


Рис. 3. У клітинах, крім білків-каналів, функцію вимірювання температури навколишнього середовища і забезпечення відповіді клітини на зміну температури виконують також т.зв. РНК-термометри. Принцип роботи РНК-термометра полягає в тому, що при низьких температурах на молекулі мРНК формується т.зв. «шпилька» - при цьому рибосома не може сісти на таку мРНК і почати трансляцію білка. При високих температурах - шпилька розкривається, звільняючи доступ рибосомі для посадки на молекулу мРНК. Таким чином, у відповідь на різні температури - в клітинах активується зчитування різних молекул мРНК. (за <https://mbio.asm.org/content/3/5/e00238-12>).

Роль білків теплового шоку в термальній стійкості організмів. Білки теплового шоку - це білки, які контролюють правильну упаковку всіх білків клітини в звичайних умовах і в умовах дії стресорів будь-якої природи. Білки теплового шоку здатні розпаковувати білки, які втратили свою правильну просторову структуру, що потім дозволяє білкам придбати правильну упаковку. При недостатній функції білків теплового шоку в клітинах накопичуються браковані молекули, надлишок яких включає в клітинах програму на самознищення.

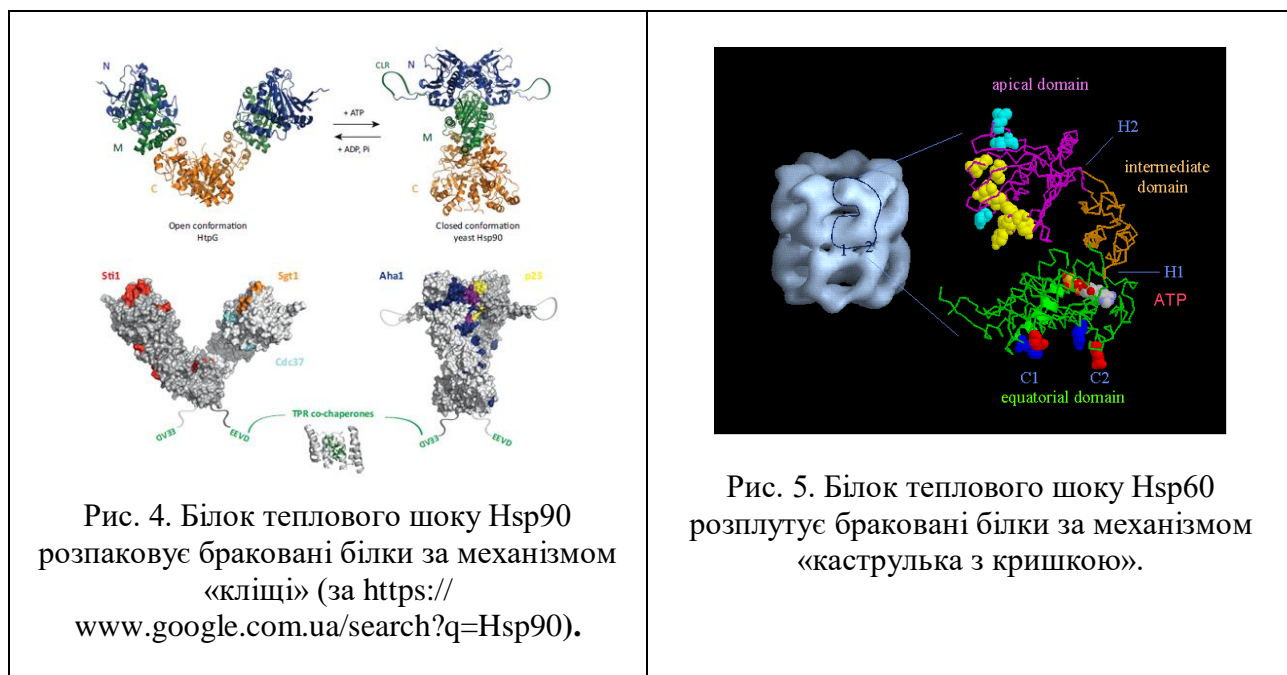


Рис. 4. Білок теплового шоку Hsp90 розпаковує браковані білки за механізмом «кліщі» (за <https://www.google.com.ua/search?q=Hsp90>).

Рис. 5. Білок теплового шоку Hsp60 розплуває браковані білки за механізмом «каструлька з кришкою».

Основою гіперстійкості організмів до теплового стресу є синтез білків теплового шоку і білків ко-шаперонів для мітохондрій. Срібні мурахи Сахари *Cataglyphis bombycina* є одними з найбільш термотолерантних тварин. Робочі мурахи займаються пошуком їжі вдень при температурах, що перевищують +50 градусів Цельсія.

Willot Q. з колегами (2018) проаналізували, робота яких генів посилюється при тепловому навантаженні в клітинах срібних мурах. В результаті проведених досліджень були виявлені 67 РНК-транскриптів, які інтенсивно зчитувалися в умовах теплового стресу. З них - 21 транскрипт кодує білки теплового шоку і молекулярні ко-шаперони (31% транскриптів), більшість з яких працює в мітохондріях. Таким чином, було встановлено, що срібні мурахи

використовують молекулярні шаперони - білки теплового шоку і білки ко-шаперони - для збереження функціональності своїх мітохондрій в умовах теплового стресу.



Рис. 6. Срібні мурахи Сахари (*Cataglyphis bombycina*) (за <https://www.pinterest.com/pin/485051822358018369/>).

Відомо, що білки теплового шоку і білки ко-шаперони забезпечують стабільність клітинних макромолекул в умовах термального стресу, що сприяє виживанню організмів в екстремальних умовах. Отримані дані свідчать про важливу роль збереження цілісності мітохондрій і продукції енергії в умовах теплового стресу у срібних мурах (Willot et al., 2018).

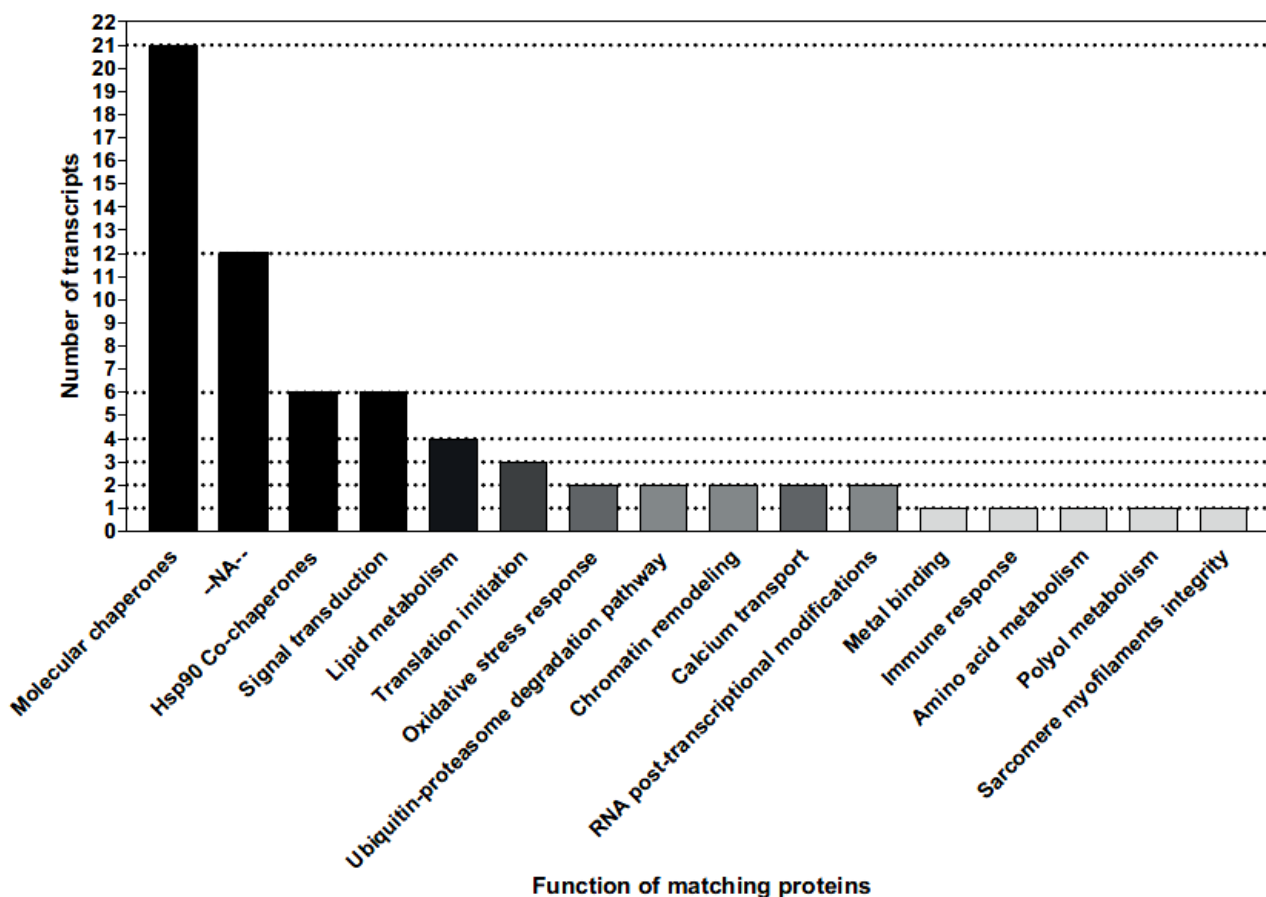


Рис. 7. Функціональна класифікація 67 РНК-транскриптів, синтез яких активується при тепловому стресі у срібних мурах Сахари *Cataglyphis bombycina*. Серед РНК-транскриптів, які активуються, 21 транскрипт кодує білки теплового шоку і молекулярні ко-шаперони (31% транскриптів) (Willot et al., 2018).

Залежність адаптації організмів до теплового стресу від ефективності дихання організму. Оскільки зростання температури води призводить до зниження концентрації кисню, розчиненого у воді, Garvin M.R. з колегами (2015) припустили, що однією з найважливіших адаптацій до підвищення температури води і супутньої нестачі кисню - має бути поліпшення дихання на рівні окисного фосфорильовання в мітохондріях.

Для перевірки висунутої гіпотези, Garvin M.R. з колегами (2015) піддавали риб райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss gairdneri*), що мешкають в природних умовах в різних екологічних нішах (в водоймах пустелі і в водоймах гір), температурному стресу і потім досліджували характер роботи 80 ядерних і мітохондріальних генів, що кодують білки, задіяні в процесі дихання.



Рис. 8. Райдужна форель (*Oncorhynchus mykiss*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Проведені дослідження показали, що у відповідь на тепловий стрес з 80 транскриптів - 7 продемонстрували більш ніж 2-х кратні відмінності в характері експресії в тканинах зябер риб з водойм пустелі, але не риб - мешканців гірських водойм. Структурний аналіз білків, що кодуються цими генами, показав, що дана відповідь, вочевидь, координує утворення суперкомплексів і олігомерів, задіяних в процесі дихання, у внутрішній мембрані мітохондрій.

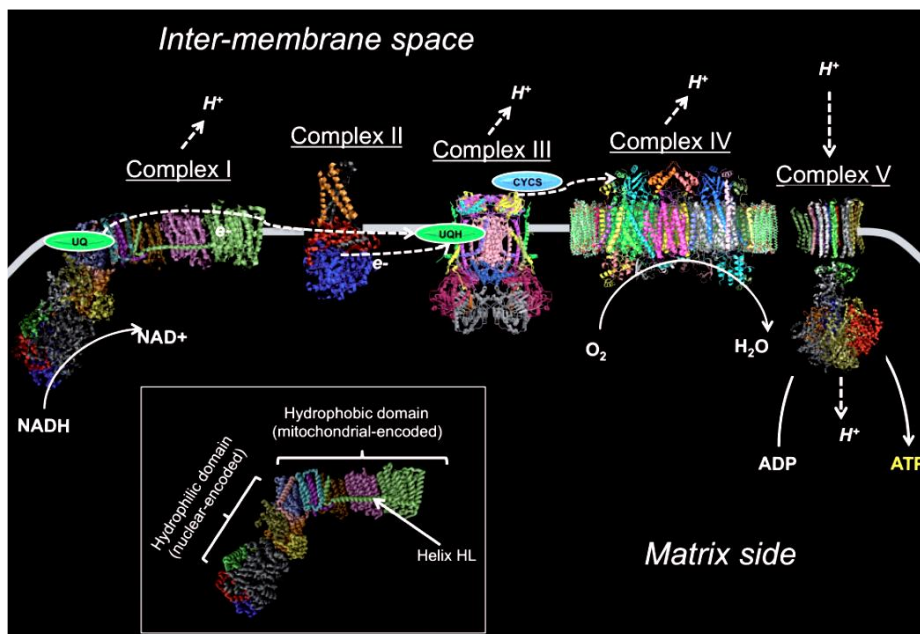


Рис. 9. Схема розташування молекулярних комплексів I, II, III, IV і V, задіяних в процесі окисного фосфорилування (дихання), у внутрішній мембрані мітохондрій. Збуджені електрони, вилучені з органічних поживних речовин, передаються по електронно-транспортному ланцюгу на молекулярні комплекси I, II, III, IV і V. При цьому надлишок енергії електронів витрачається на перекачування протонів з матриксу мітохондрій в межмембранний простір. Подальший зворотній потік протонів в матрикс через АТФ-синтазний комплекс забезпечує синтез молекул АТФ. На комплексі V заспокоєні електрони з'єднуються з киснем та іонами водню з утворенням води (власне, дихання). В умовах теплового стресу у популяції риб, що мешкають в пустельних водоймах, змінюється характер експресії генів, що відповідають за формування молекулярних комплексів, задіяних в процесі окисного фосфорилування (дихання) в мітохондріях. Це призводить до просторового зближення даних комплексів, що підвищує ефективність процесу дихання в клітинах зябер райдужної форелі (за Garvin et al., 2015).

Вважають, що суперкомплекс, який при цьому формується, спроможний підвищувати ефективність дихання, оскільки при цьому дихальні комплекси I, III і IV знаходяться в безпосередній близькості один до одного, а олігомеризація комплексу V змінює макроструктуру мітохондрій, що покращує процес дихання.

Виявлені Garvin M.R. з колегами (2015) значні відмінності в характері роботи генів у відповідь на тепловий стрес між рибами, мешканцями пустельних і гірських водойм, вказують на те, що ця відповідь не була обумовлена пластичністю геному, - тобто основою адаптивної відповіді були відмінності в геномах досліджених екологічних груп риб (Garvin et al., 2015).

Механізми онтогенетичної термальної пластичності у риб засновані на перепрограмуванні ДНК на ранніх стадіях ембріогенезу. Адаптація організмів до мінливих умов навколишнього середовища може відбуватися в межах їх геному за рахунок зміни (підстроювання) роботи вже наявних у організма генетичних програм. Така здатність геному підлаштовувати роботу організму до зовнішнього середовища називається пластичністю геному. По суті, онтогенетична пластичність - це здатність організму формувати різні фенотипи в межах одного генотипу. Якщо наявні програми не дозволяють підлаштуватися до нових умов середовища - тоді в клітинах організмів включаються механізми, які змінюють ці генетичні програми.

В дослідженнях, проведених на різних групах організмів, було встановлено, що розвиток ранніх ембріонів в змінених температурних умовах, сприяє формуванню дорослого організму, який має підвищену стійкість до нових температурних умов проживання. Однак, механізми, які забезпечують таку онтогенетичну пластичність ранніх ембріонів, довго залишалися не з'ясованими.

Відомо, що білки метилтрансферази забезпечують пришивання метильних хвостиків до тих ділянок ДНК, які не повинні зчитуватися в процесі життя організму. Після процесу запліднення - ця програма роботи ДНК стирається (метильні хвостики видаляються) і потім відбувається процес перепрограмування ДНК (метилтрансферази знову пришивають метильні хвостики до ділянок ДНК, з урахуванням змінених умов життя організму). У хребетних тварин до такого перепрограмування ДНК залучені метилтрансферази dnmt3.

Samros С. з колегами (2012) показали, що температура, при якій розвиваються ембріони рибок-зебр (*Danio rerio*), впливає на роботу генів родини dnmt3.



Рис. 10. Риба-зебра (*Danio rerio*) (за <https://www.google.com.ua/search?q=Danio+rerio>).

Дослідники вирощували ембріони рибок-зебр при температурах +23°C, +27°C і +31°C і аналізували роботу генів метилтрансфераз на різних етапах ембріогенезу. Авторами роботи були виявлені істотні відмінності в роботі генів dnmt3a і dnmt3b у ембріонів, які вирощувалися при різних температурах навколишнього середовища на одній і тій ж стадії онтогенетичного розвитку. Отримані дані свідчать про те, що робота генів метилтрансфераз dnmt3a і dnmt3b, які перепрограмують ДНК ембріонів, може відігравати суттєву роль в адаптації організмів до нових температурних умов навколишнього середовища.

Таким чином, онтогенетична термальна пластичність риб заснована на перепрограмуванні роботи ДНК в ранньому ембріогенезі за допомогою білків метилтрансфераз (Samros et al., 2012).

Адаптації білків до зміни температури навколишнього середовища забезпечуються змінами в амінокислотній послідовності білків.

Якщо наявний генотип не дозволяє організму адаптуватися до стресових умов середовища - тоді включається програма зміни геному. Зокрема, у організмів, які мешкають в різних температурних умовах, адаптація білків до різних температур може досягатися за рахунок точкових амінокислотних замін, які або стабілізують, або дестабілізують структуру білка, в залежності від температурних вимог середовища проживання. При цьому було встановлено, що збереження білками здатності зв'язувати ліганди і можливості працювати з великою каталітичною швидкістю може бути досягнуто при незначних відмінностях в амінокислотній послідовності.

Наприклад, відомо, що при підвищенні температури навколишнього середовища - білок повинен зберігати свою структуру і не денатуруватися. Це забезпечується зміцненням внутрішньо-молекулярних зв'язків. Але це ж - і ускладнює зміни форми білка при зв'язуванні з лігандом. Таким чином, чим тепліше умови - тим повинна бути міцнішою структура білка і, відповідно, тим повільніше буде протікати каталітична реакція, яка супроводжується зміною форми білка (див. рис).

Somero G.N. (2003) було показано, що для білка лактатдегідрогенази температурні адаптації можуть включати всього одну амінокислотну заміну. Наприклад, рибка *Chromis punctipinnis*, мешканець вод помірної кліматичної зони, має амінокислоту треонін в позиції 219, а мешканці тропічних вод рибки *Chromis caudalis* і *Chromis xanthochira* - мають амінокислоту аланін в цьому положенні. Ця амінокислотна заміна у білка лактатдегідрогенази тропічних рибок забезпечує в теплих тропічних водах рухливість тих областей молекули білка, які повинні змінювати свою форму під час зв'язування ліганда; саме рухливість цієї зони білка і обмежує швидкість протікання каталітичної реакції в жарких кліматичних умовах (Somero, 2003).

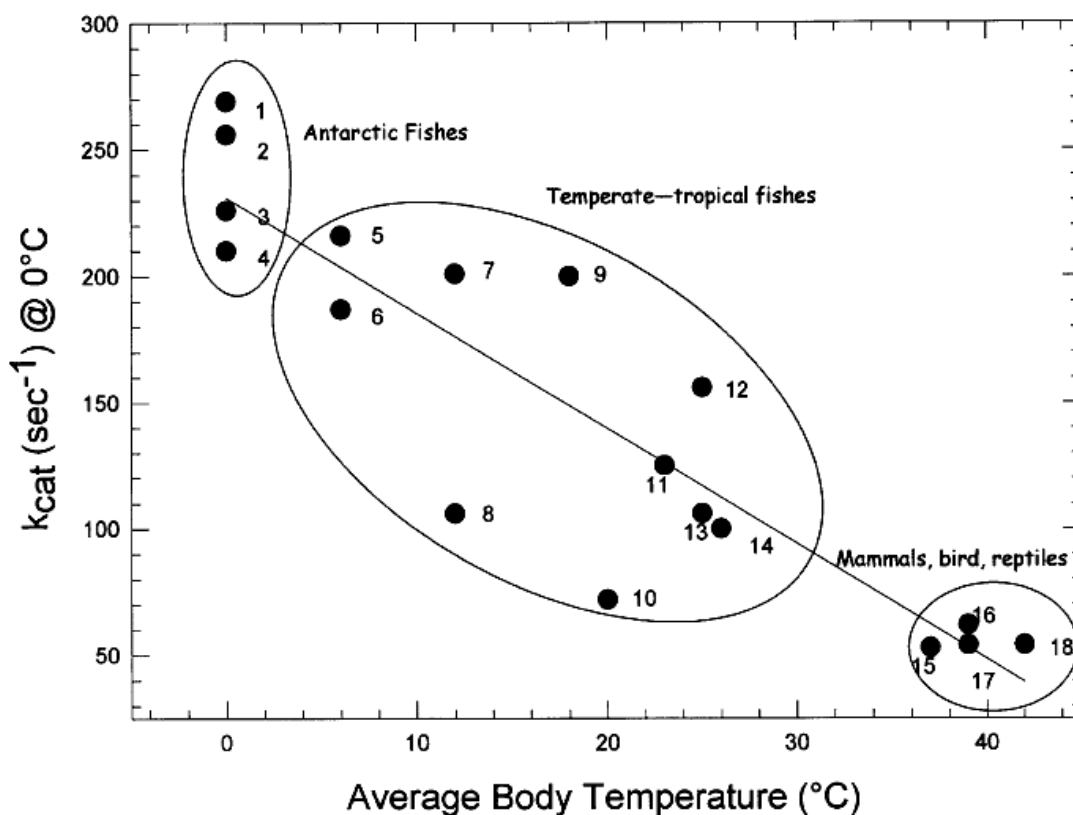


Рис. 11. Відмінності в константі швидкості каталітичної реакції, що каталізується білком лактатдегідрогеназою, у хребетних тварин з різною температурою тіла. Де: по осі ОУ - константа швидкості каталітичної реакції для білка лактатдегідрогенази, (кількість каталітичних реакцій за секунду) (kcat/sec); по осі ОХ - температура тіла хребетної тварини,

°C, (Average Body Temperature, °C); досліджені види тварин: (1) *P. charcoti* (антарктична риба), (2) *Lepidonotothen nudifrons* (антарктична риба), (3) *Champscephalus gunnari* (антарктична риба), (4) *Harpagifer antarcticus* (антарктична риба), (5) *Patagonotothen tessellate* (Південно-Американська нототенієва риба), (6) *Eleginops maclovinus* (Південно-Американська нототенієва риба), (7) *Sebastes mystinus* (окунь), (8) *Hippoglossus stenolepis* (палтус), (9) *Sphyræna argentea* (баракуда помірних широт), (10) *Squalus acanthias* (морський собака або катран звичайний), (11) *Sphyræna lucasana* (субтропічна баракуда), (12) *G. mirabilis* (бичок помірної зони), (13) *Thunnus thynnus* (тунець), (14) *Sphyræna ensis* (тропічна баракуда), (15) *Bos taurus* (корова), (16) *Gallus gallus* (курка), (17) *Meleagris gallopavo* (індичка), (18) *D. dorsalis* (пустельна ігуана) (Somero, 2003).

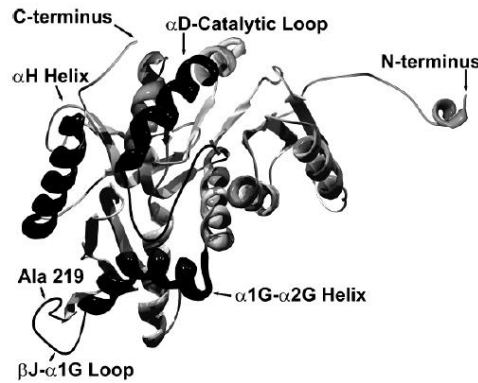


Рис. 12. Стрічкова структура білка лактатдегідрогенази-А. На схемі вказані ділянки ферменту, які зазнають найбільші конформаційні зміни під час проходження каталітичної реакції (темні ділянки). Активний сайт на цій діаграмі знаходиться поблизу центру молекули, під aD-каталітичною петлею (aD-catalytic loop), яка руйнується під час зв'язування ліганда і містить залишки, які беруть участь у зв'язуванні ліганда і в каталізі. Показана структура заснована на аналізі білка тропічної рибки *S. caudalis*. Зазначено положення мутації - тобто ділянки заміни амінокислоти треоніну на аланін в положенні 219 амінокислотної послідовності (Somero, 2003).

Білки холодового шоку (за <http://knowledge.su/b/belki-kholodovogo-shoka>). Білки холодового шоку - це білки, вміст яких в клітинах зростає при зниженні температури навколишнього середовища. Найбільш вивчені - білки, що об'єднуються в родини CSP (Cold Shock Proteins), RBP (RNA-Binding Proteins - РНК-зв'язуючі білки) і антифризні білки. Білки з родин CSP і RBP перешкоджають злипанню ланцюгів молекул РНК при низьких температурах, що дозволяє клітинам проводити зчитування таких РНК в умовах холодового стресу. Антифризні білки перешкоджають утворенню великих кристалів льоду, запобігаючи, таким чином, руйнуванню клітинних структур при промерзанні тканин.

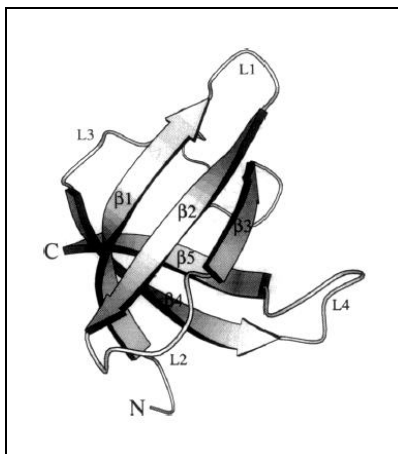


Рис. 13. Структура головного білка холодового шоку (CspA) кишкової палички. При низьких температурах навколишнього середовища відбувається «склеювання» лінійних ділянок молекул РНК і ДНК, що зупиняє синтез білка в клітинах. Білки холодового шоку зв'язуються з молекулами РНК і ДНК, розправляючи ділянки, в яких відбулося злипання ланцюгів, і відкриваючи їх доступність для зчитування ферментами (за <https://www.pnas.org/content/pnas/91/11/5119.full.pdf>).

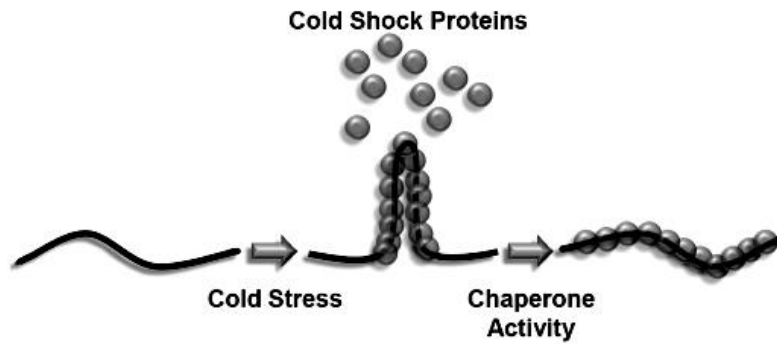


Рис. 14. Схема, яка відображає механізм роботи білків холодового шоку, які виконують функції шаперонів, в клітинах бактерій. В умовах низьких температур сусідні ділянки молекули РНК здатні склеюватися одна з одною, що не дозволяє рибосоми зчитувати таку РНК. Білки холодового шоку сідають на РНК, розпрямляють ділянки, які злиплися, що дозволяє молекулам РНК нормально працювати при низьких температурах навколишнього середовища (Chaikam & Karlson, 2010). Аналогічно працюють білки теплового шоку і в клітинах еукаріот.

До числа білків холодового шоку відносяться також ферменти - десатурази жирних кислот, які забезпечують утворення подвійних зв'язків в жирних кислотах клітинних мембран, збільшуючи «плинність», рухливість мембран при низьких температурах. Синтез більшості десатураз бактерій, рослин і тварин індукується низькими температурами на рівні транскрипції. У різних груп організмів описано понад 200 генів, робота яких активується при зниженні температури навколишнього середовища. Функції деяких з них - відомі, проте функції більшості з них поки не встановлені (за <http://knowledge.su/b/belki-kholodovogo-shoka>).

Білки антифризи в холодний сезон року захищають клітини від формування великих кристалів льоду, а в жаркий сезон - від втрати води. Деякі організми здатні виживати в умовах низьких негативних температур навколишнього середовища. Одним з механізмів, що забезпечують виживання в таких умовах, є синтез клітинами білків-антифризів, які запобігають формуванню в клітинах великих кристалів льоду, здатних пошкодити клітинні мембрани і інші структури.

Qiu L. с колегами (2013) було встановлено, що антифризні білки у пустельних жуків *Microdera punctipennis* синтезуються протягом усього року - і в холодних, і в жарких сезонних умовах. Вважають, що білки-антифризи пустельних жуків можуть бути задіяні в холодну пору року - в захисті клітин від формування великих кристалів льоду, а в жарку пору року - в захисті від термального стресу і від втрати води клітинами (Qiu et al., 2013).

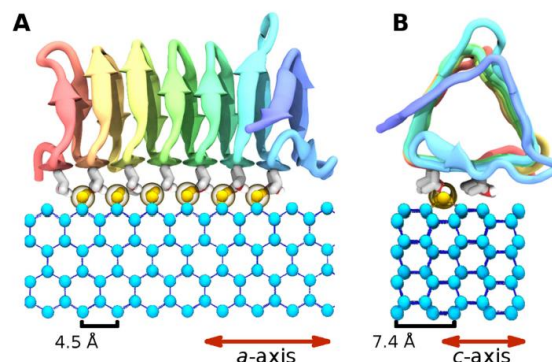


Рис. 15. Білки-антифризи запобігають росту в клітинах гострих крупних кристалів льоду, що захищає клітини від пошкодження і загибелі (за Kuiper et al., 2015) .

Ма J. з колегами (2012) було показано, що в клітинах пустельних жуків *Anatolica polita* (Coleoptera: Tenebrionidae) працюють два гени білків антифризів, які мають 61,3% подібності амінокислотних послідовностей. Робота обох генів активується у відповідь на холодний стрес, однак, характер їх експресії дещо різниться: ген Arafp752 є більш чутливим до холодного стресу, ніж ген Arafp914; проте - він не є більш чутливим до стресу зневоднення, в порівнянні з геном Arafp914.



Рис. 16. Жук *Microdera punctipennis* (за <https://www.google.com.ua/search?q=Microdera+punctipennis>).

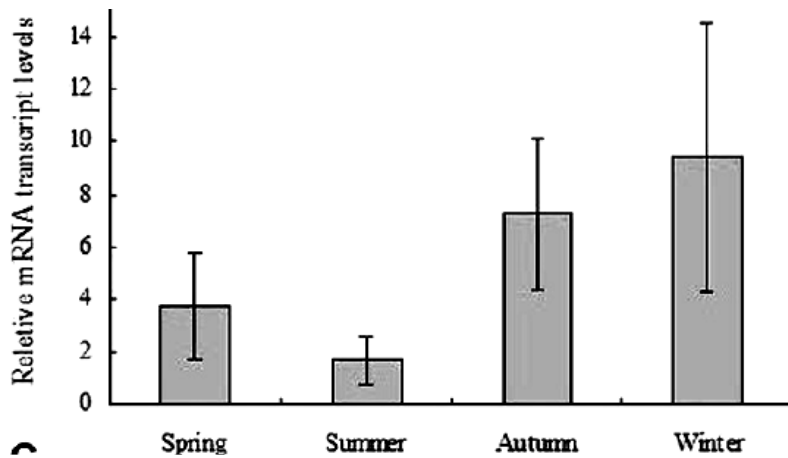


Рис. 17. Зміна рівня мРНК транскриптів білка-антифризу протягом року в клітинах жуків *Microdera punctipennis*. Де: по осі ОУ - відносна кількість мРНК транскриптів гена білка-антифризу, (Relative mRNA transcript levels); Spring - весна; Summer - літо; Autumn - осінь; Winter - зима (Qiu et al., 2013).

Влітку у дорослих особин пустельних жуків також працюють обидва гена білків антифризів. Це свідчить про те, що вони виконують в клітинах функції, пов'язані не тільки із захистом від формування крижаних кристалів. Вважають, що літні антифризи захищають клітини від зневоднення (Ma et al., 2012).

*NB! Білки-антифризи багаторазово виникали у різних ліній тварин і рослин. Як правило - в результаті дуплікації одного з генів організму + подальшої зміни однієї з копій даного гена. NB! Білок-антифриз для виконання своїх функцій обов'язково в бокових ланцюгах повинен містити треонін або аспартат (без цих молекул білок-антифриз перестав виконувати свої функції).

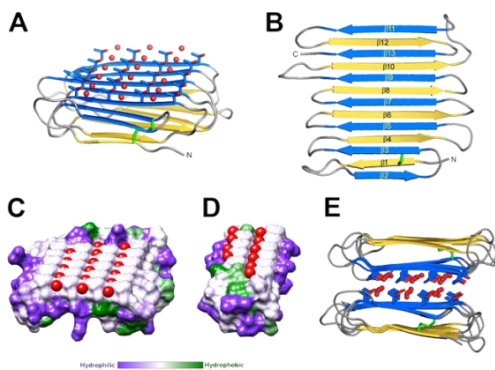


Рис. 18. Будова білків-антифризів жука *Rhagium inquisitor*, що виживає при -25°C в Сибіру.



Рис. 19. Вусач рагій смерековий (*Rhagium inquisitor*) (за <https://uk.wikipedia.org/wiki/>).

Сезонний біологічний годинник в системі контролю входу тварин в стан зимового спокою. Механізм входу тварин в стан сезонного спокою точно не встановлений. Згідно з класичною моделлю, у всіх організмів є гени біологічного годинника, робота яких забезпечує формування ендогенних ритмів - добових, сезонних і т.н. Зміна довжини світлового дня, температури навколишнього середовища, сезонні зміни рівня збурень магнітного поля Землі і зниження доступності їжі (води) - всі ці фактори підлаштовують біологічний годинник до мінливих умов навколишнього середовища. За сигналом сезонного біологічного годинника - у організмів включається програма підготовки та подальшого входу організму в стан сезонного спокою.

Ендогенна і екзогенна компоненти сезонного ритму.

Антарктичний криль (*Euphausia superba*) є ключовим видом в Південному океані будучи з одного боку, основним споживачем фітопланктону, а з іншого боку - основним джерелом їжі для китів, тюленів, птахів і риб. Ці ракоподібні уповільнюють свій метаболізм у відповідь на несприятливі умови середовища під час Антарктичної зими. Вважають, що вхід в стан гіпометаболізму може бути пов'язаний або з сезонною нестачею їжі, або - запускається ендогенним біологічним годинником, який підлаштовується світлом.



Рис. 20. Антарктичний криль (*Euphausia superba*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Piccolin F. з колегами (2018) вивчали вплив світлового режиму та ендогенної ритмічності на регуляцію сезонного метаболічного циклу у антарктичного криля. Проведені дослідження показали, що для криля характерна сезонність росту з мінімумом росту восени-взимку і з максимумом росту навесні-влітку.

Ця циклічність в інтенсивності ростових процесів встановлюється також і в умовах постійної темряви, що свідчить про ендогенну регуляцію сезонного ритму активності. Ендогенні сезонні цикли активності були виявлені для ключових метаболічних ензимів: з максимумом активності навесні-влітку і з мінімумом активності взимку-восени.

Проведені дослідження показали, що в клітинах антарктичного криля зменшення довжини світлового дня на початку осені супроводжується підвищенням активності роботи генів біологічного годинника *clk*, *cry2* і *tim1*, а також генів білків опсинів *opsins rh1a* і *trh*, пов'язаних з циркадіанними ритмами. Це свідчить про присутність сигнального каскаду, що зв'язує сезонні зміни в світловому режимі Антарктики з генами біологічного годинника антарктичного криля і з входом в метаболічний спокій в зимовий період.

Таким чином, у антарктичного криля сезонний біологічний годинник є ендогенним і він підлаштовує свою роботу за рахунок екзогенних факторів, таких, як довжина світлового дня (Piccolin et al., 2018).

Крім того, в серії досліджень на різних групах організмів було показано, що в лабораторних умовах звичайної освітленості, температури і доступності їжі - деякі тварини продовжують протягом дуже багатьох років впадати в сезонну сплячку. Тоді як у інших тварин - після декількох років життя в лабораторії сезонні ритми входу в сплячку - пропадають. Якщо доросле дерево, яке виросло в помірній кліматичній зоні - пересадити і вирощувати в умовах екваторіальної зони, то після декількох років сезонного скидання листя і входу в спокій - дерева перестають входити на екватор в сезонну сплячку.

Таким чином, центральний сезонний біологічний годинник має вроджений ритм, вроджену ендогенну компоненту. Однак, цей ритм постійно підлаштовується зовнішніми факторами середовища: довжиною світлового дня, температурою навколишнього середовища, сезонними збуреннями магнітного поля Землі і доступністю їжі (і води) для

організму. Відсутність відповідних екзогенних сигналів підстроювання - призводить до відключення сезонного біологічного годинника. Але, такого відключення не відбувається в разі поломки регуляторних механізмів сезонного біологічного годинника.

Гібернація (зимова сплячка) як механізм самозахисту організмів від сезонних несприятливих умов середовища. Глибока зимова сплячка або гібернація є складним фізіологічним процесом, який дозволяє організму вижити в екстремально несприятливих умовах навколишнього середовища. У стані глибокого сну у організму сповільнюється обмін речовин, знижується температура тіла, гальмуються всі фізіологічні процеси (дихання, серцебиття і т.н.).

Однак, проведені дослідження показали, що під час глибокого сну метаболізм періодично посилюється (приблизно, на 20 годин), а потім - знову сповільнюється. Цілком можливо, що це є адаптивним механізмом, який дозволяє організму вчасно вийти зі стану сплячки. Однак, механізми, які регулюють циклічність зимового сну, поки точно не встановлені.

Erpperson L.E. і Martin S.L. (2002) були ідентифіковані молекули РНК, активність яких змінювалася протягом п'яти гібернаційних циклів у сплячих тварин і була вищою у сплячих тварин в порівнянні з літніми активними тваринами. Це РНК: альфа-2-макроглобуліну, аполіпопротеїну А1, катепсина Н і тироксин-зв'язуючого глобуліну (Erpperson & Martin, 2002).



Рис. 21. Взимку золотистий ховрах (*Callospermophilus lateralis*) впадає в сплячку (за https://en.wikipedia.org/wiki/Golden-mantled_ground_squirrel).

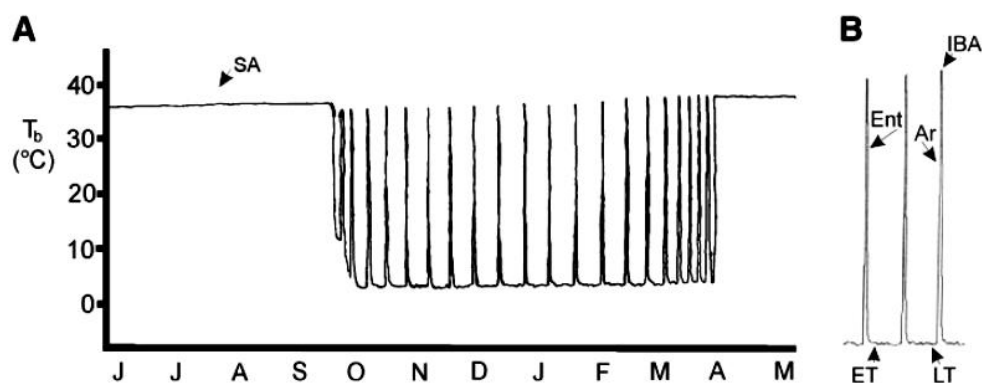


Рис. 22. Зміна температури тіла золотистого ховраха (*Callospermophilus lateralis*) протягом року. Де: по осі ОУ - температура тіла тварини, °С; по осі ОХ - пора року, місяці; J - червень; J - липень; А - серпень; S - вересень; О - жовтень; N - листопад; D - грудень; J - січень; F - лютий; М - березень; А - квітень; М - травень; SA - літня активність тварини (Erpperson & Martin, 2002). Під час зимової сплячки у золотистого ховраха виявлені короточасні циклічні підвищення температури тіла.

Тварини в стані глибокого сну (гібернації) здійснюють обігрів мозку за рахунок експресії особливих мітохондріальних білків UCP1. Відомо, що в стані глибокого сну

(гібернації) ссавці максимально знижують інтенсивність обміну речовин і температуру свого тіла (іноді до $-2,9^{\circ}\text{C}$ і нижче). Однак, дослідження, проведені Laursen W.J. з колегами (2015), показали, що в мітохондріях нейронів під час глибокого сну (гібернації) експресуються білки UCP1, які значно підвищують температуру клітин мозку. Таким чином, мозок сплячої тварини залишається активним, що дозволяє тварині контролювати зміни умов середовища (Laursen et al., 2015).

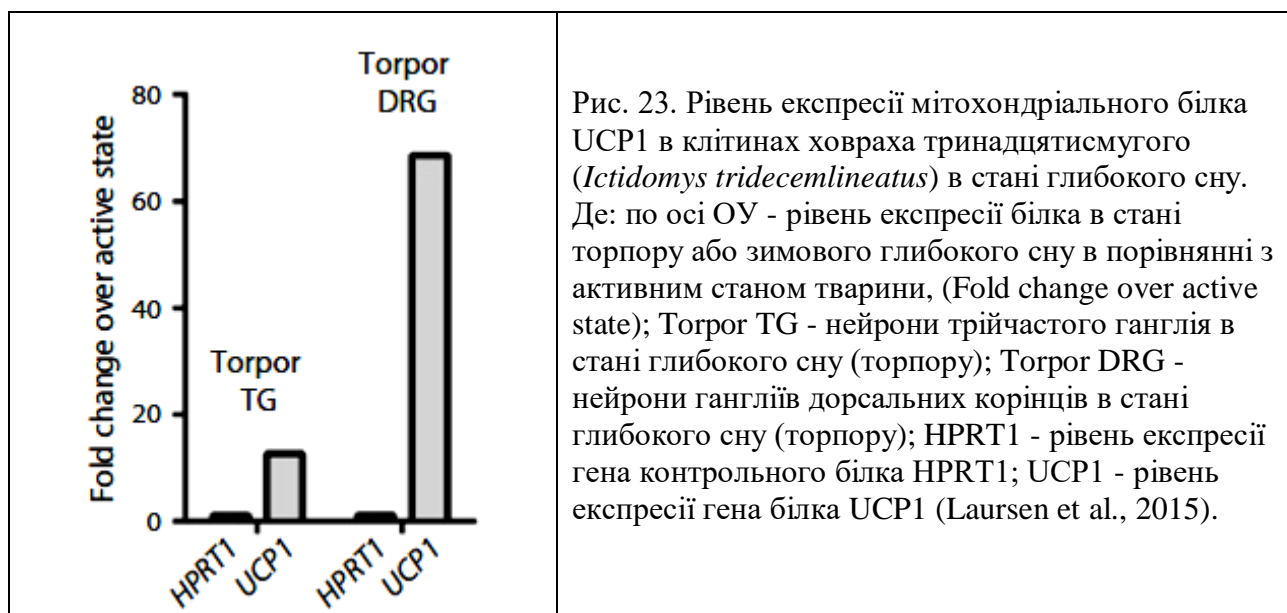


Рис. 23. Рівень експресії мітохондріального білка UCP1 в клітинах ховраха тринадцатисмугового (*Ictidomys tridecemlineatus*) в стані глибокого сну. Де: по осі ОУ - рівень експресії білка в стані торпору або зимового глибокого сну в порівнянні з активним станом тварини, (Fold change over active state); Torpor TG - нейрони трійчастого ганглія в стані глибокого сну (торпору); Torpor DRG - нейрони гангліїв дорсальних корінців в стані глибокого сну (торпору); HPRT1 - рівень експресії гена контрольного білка HPRT1; UCP1 - рівень експресії гена білка UCP1 (Laursen et al., 2015).

*NB! Відомо, що мітохондріальні білки родини UCP переносять протони з міжмембранного простору назад в матрикс мітохондрій. В результаті роботи цих білків виділяється теплова енергія, якої вистачає для підвищення температури клітин на $+2^{\circ}\text{C}$ $+3^{\circ}\text{C}$ при роботі білка UCP2 і на $+20^{\circ}\text{C}$ $+30^{\circ}\text{C}$ при роботі білка UCP1.

Білок UCP1 працює в клітинах бурого жиру дрібних ссавців і дитинчат великих ссавців, в нейронах ссавців у стані глибокої зимової сплячки, а також в термогенних клітинах вздовж судинних пучків деяких рослин. Робота цього білка дозволяє виживати дрібним ссавцям і дитинчам великих ссавців при низьких температурах навколишнього середовища, ссавцям під час зимової гібернації, розквітати рослинам під снігом і т.н.

	Lamnid Shark	Billfish	Common carp	Ground squirrel
Heating mechanism		Extra ocular muscles, Vascular heat exchange system		UCP1-mediated thermogenesis in neurons
Adaptations to		Deep dives in cold water	Cold water, dormancy	Hibernation

Рис. 24. В умовах низьких температур навколишнього середовища багато хребетних тварин підвищують температуру свого мозку. Однак, механізм цього підвищення, різний. Короп звичайний і ховрах тринадцатисмуговий - використовують білок UCP1 (Laursen et al., 2015).

*NB! У рослин в термогенезі можуть брати участь також альтернативні оксидази АОХ. Альтернативна оксидаза АОХ забирає високоенергетичні електрони з електронно-транспортного ланцюга до їх надходження в комплекси III і IV. Здійснення процесу дихання з такими електронами дає значний тепловий ефект.

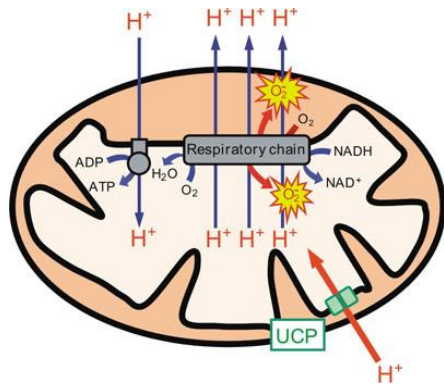


Рис. 25. Білки UCP забезпечують зворотний вхід протонів в матрикс мітохондрії. При цьому - підвищується температура клітини.

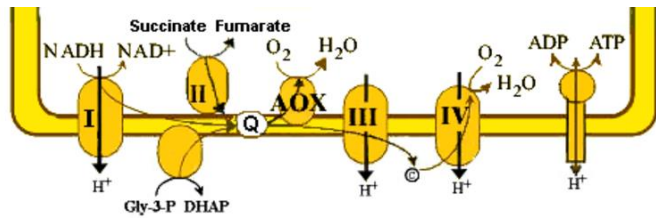


Рис. 26. Альтернативна оксидаза АОХ забирає високоенергетичні електрони з електронно-транспортного ланцюга до їх надходження в комплекси III і IV. Здійснення процесу дихання з такими електронами дає значний тепловий ефект (за <https://www.google.com.ua/search?q=%D0%90%D0%9E%D0%A5+alternative+oxidase>)

Припускають, що у рослин і UCP-транспортери, і альтернативні оксидази АОХ беруть участь в термогенезі. При цьому для кожного виду кращим є один з типів термогенезу.

7.2. Практична робота

Завдання 1. Адаптація клітинних мембран до низьких температур навколишнього середовища. Відомо, що одним з факторів, які лімітують виживання організмів при низьких температурах, є втрата пластичності клітинних мембран. Такі мембрани не здатні правильно передавати сигнали і транспортувати речовини, що порушує функціонування клітин і призводить до їх загибелі. Одним з механізмів адаптації організмів до низьких температур навколишнього середовища - є зміна будови хвостів молекул ліпідів, які формують клітинні мембрани. У всіх груп організмів - від бактерій до рослин, грибів і багатоклітинних тварин - в умовах холодового стресу було виявлено активування білків - десатураз, які змінюють структуру хвостів молекул ліпідів, створюючи в хвості додаткові подвійні зв'язки між атомами вуглецю. Такий «хвіст» не здатний вільно обертатися навколо атомів вуглецю, що зменшує «переплутування» хвостів в мембрані і підвищує пластичність мембран при низьких температурах навколишнього середовища.

Метелики *Thitarodes pui* мешкають на Тибетському плато на висоті 4100 - 5000 м. Середньорічна температура ґрунту на цій висоті нижче +5°C, а взимку личинки цього метелика здатні виживати навіть при температурі -20°C.

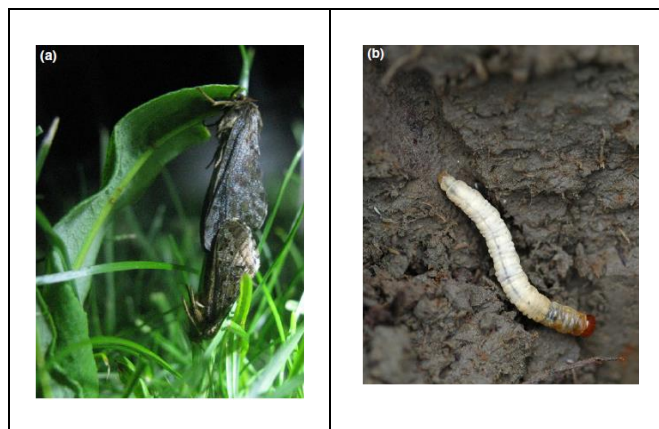


Рис. 1. Доросла особина (a) і личинка (b) метелика *Thitarodes pui* (Min et al., 2017).

Min Q. з колегами (2017) протягом року в середині кожного місяця збирали на Тибетському плато личинок метелика *Thitarodes pui* і перевіряли склад ліпідів мембран і активність генів білків десатураз. Результати проведених досліджень наведені на рисунках 1-3 (Min et al. 2017).

1) Як впливає зниження температури навколишнього середовища на здатність клітинних мембран виконувати свої функції? _____

2) Який механізм захисту своїх клітинних мембран використовують клітини при зниженні температури навколишнього середовища? _____

3) Яку функцію в клітинах виконують білки десатурази? _____

4) Використовуючи дані рисунків 2-3, вкажіть, при якій температурі ґрунту посилюється робота гена десатурази *TrdesatB* в клітинах личинок метеликів *Thitarodes pui* _____. При якій температурі ґрунту посилюється робота гена десатурази *TrdesatA* в клітинах личинок метеликів *Thitarodes pui* _____.

5) Як Ви думаєте, чому з початком холодного сезону в клітинах личинок метеликів *Thitarodes pui* спочатку активується робота генів білків десатураз *TrdesatB*, а потім - *TrdesatA*? _____

*NB! Десатураза *TrdesatA* в якості субстрату використовує насичені жирні кислоти з довжиною вуглецевого хвоста C16 і C18; тоді як десатураза *TrdesatB* переважним чином використовує насичені жирні кислоти з довжиною хвоста C18.

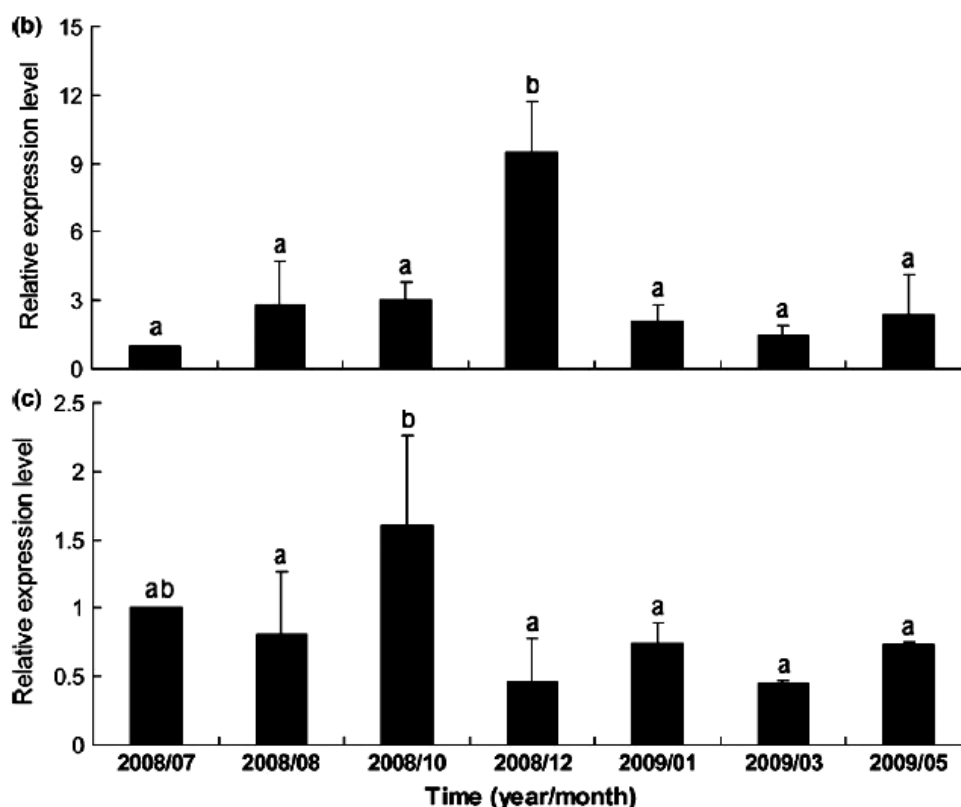


Рис. 2. Зміни відносного рівня експресії генів білків десатураз у личинок метелика *Thitarodes pui* протягом року. Де: по осі ОУ - відносний рівень експресії генів білків десатураз, (Relative expression level); по осі ОХ - місяці 2008 року (з липня по травень) (Time, year/month); (B) - десатураза *TrdesatA*; (C) - десатураза *TrdesatB* (Min et al., 2017).

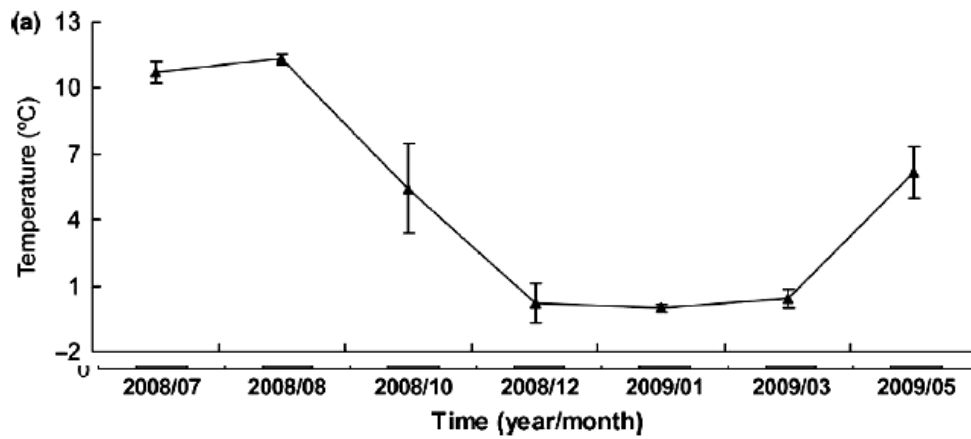


Рис. 3. Середня температура ґрунту на висотах проживання метеликів *Thitarodes pui* по місяцях року. Де: по осі ОУ - середня температура ґрунту, °С (Temperature, °С); по осі ОХ - місяці 2008 року (з липня по травень) (Time, year/month) (Min et al., 2017).

Завдання 2. Пластичність онтогенетичних механізмів, які підлаштовують організм до зміни температури навколишнього середовища. Онтогенетична пластичність - це здатність організму в процесі свого розвитку (онтогенезу) змінювати фенотип в межах наявного генотипу у відповідь на мінливі умови навколишнього середовища. Згідно з теоретичними припущеннями, підвищена здатність до онтогенетичної пластичності формується у організмів, у яких нащадки потрапляють в різні умови середовища або в результаті сезонних змін умов, або в результаті їх міграції на інші території або акваторії.

Для перевірки справедливості теоретичних висновків, Соорер В.С. з колегами (2012) вивчали клітинну пластичність під час розвитку популяцій мух дрозофіл *Drosophila melanogaster*, які в експериментальних умовах протягом трьох років піддавалися або стабільним, або мінливим температурним умовам навколишнього середовища: популяція С - вирощувалася в умовах постійної температури +16°C, популяція Н - вирощувалася в умовах постійної температури +25° С і популяція Т - вирощувалася в умовах зміни температури від +25°C до +16°C кожні чотири тижні.



Рис. 4. Муха дрозофіла (*Drosophila melanogaster*) (за https://e-insects.wageningenacademic.com/drosophila_melanogaster).

В якості показників фізіологічної пластичності (аклімації) автори роботи використовували ліпідний склад клітинних мембран: 1) зміна співвідношення фосфатидилетаноламіну (PE) до фосфатидилхоліну (PC) і (2) зміна насиченості ліпідів (число подвійних зв'язків) в холодних (+16°C) і в теплих (+25°C) умовах розвитку мух.

*NB! При зміні температури навколишнього середовища в першу чергу страждають мембрани, оскільки при зниженні температури вони втрачають свою пластичність, а при підвищенні температури - пластичність мембран стає надмірною. В обох випадках - функціонування мембран порушується. Тому, одним з найважливіших елементів адаптації організмів до зміни температури навколишнього середовища - є здатність змінювати ліпідний склад своїх мембран.

Проведені Соорер В.С. з колегами (2012) дослідження показали, що мухи, які розвивалися в температурних умовах, які змінюються, мали більшу здатність акліматизувати співвідношення PE/PC в порівнянні з мухами, що розвивалися в постійних температурних

умовах, підтверджуючи прогноз, що середовища зі значною різницею параметрів між поколіннями сприяють більшій пластичності розвитку.

Таким чином, Cooper B.S. з колегами (2012) було встановлено, що в умовах постійної температури середовища у мух *Drosophila melanogaster* зменшується пластичність механізмів, які підлаштовують організм до зміни температурних умов. Автори роботи припустили, що в мінливих умовах навколишнього середовища селективну перевагу набуває пластичність генома, підтримка якої в постійних умовах середовища проживання може бути витратною для організмів (Cooper et al., 2012).

Результати досліджень Cooper B.S. з колегами (2012) наведені на рисунках 6 А-Б.

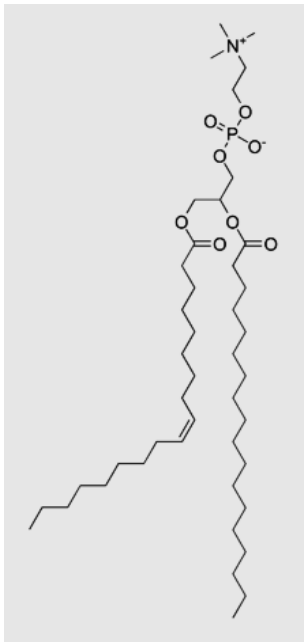
1) Використовуючи дані рисунка 6А, вкажіть величину співвідношення мембранних ліпідів PE/PC в клітинах мух при їх вирощуванні в умовах температури +16°C: _____

Вкажіть величину співвідношення мембранних ліпідів PE/PC в клітинах мух при вирощуванні в умовах температури +25°C для лінії Т _____ і для ліній С та Н _____.

2) Як змінилося співвідношення мембранних ліпідів PE/PC в клітинах мух з ростом температури: _____.

Поясніть причини цієї зміни _____

*NB! Фосфатидилхолін зменшує пластичність мембран в умовах високих температур навколишнього середовища.

	<p>Рис. 5. Структурна формула ліпіда фосфатидилхоліна (PC) (за https://ru.wikipedia.org/wiki/).</p>
	<p>Хвостова частина молекули фосфатидилхоліну має всього один подвійний зв'язок, що дозволяє решті вуглецевого скелету вільно обертатися навколо інших одинарних зв'язків. Така хімічна структура забезпечує «переплутування» хвостів в ліпідних мембранах і зменшує пластичність мембран при високих температурах навколишнього середовища.</p>
	<p>Хвостова частина молекули фосфатидилетаноламіну (PE) - має два подвійні зв'язки, що заважає обертанню вуглецевого скелета і сприяє підвищенню пластичності мембран при низьких температурах навколишнього середовища.</p>

3) Для яких варіантів температурних умов вирощування мух ця зміна в співвідношенні мембранних ліпідів PE/PC була більш різко виражена - для мух, які вирощувалися при постійних температурах (варіанти Н і С), або для мух, які вирощувалися при мінливій температурі (варіант Т)? _____.

Поясніть причини відмінностей _____

4) Що таке онтогенетична пластичність організму? _____

5) Використовуючи отримані дані, зробіть висновок про те, в яких температурних умовах вирощування мух у них проявляється висока онтогенетична пластичність по відношенню до температури навколишнього середовища _____

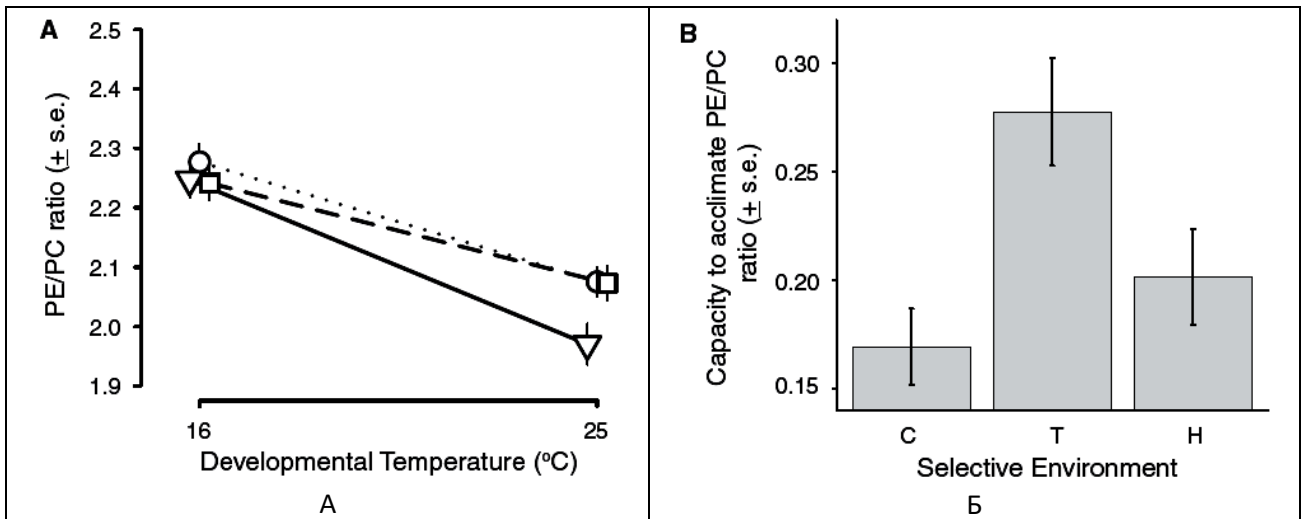


Рис. 6. А. Залежність між співвідношенням мембранних ліпідів PE/PC і температурою розвитку мух. Де: по осі ОУ - співвідношення мембранних ліпідів PE/PC, (PE/PC ratio \pm s.e.); по осі ОХ - температура, при якій відбувався розвиток мух, °C, (Developmental Temperature, °C); Δ - трикутники на схемі вказують мух, які три роки вирощувалися в умовах зі змінною температурою від +16°C до +25°C кожні 4 тижні, (T, triangles), \square - квадрати на схемі вказують мух, які три роки вирощувалися в умовах з постійною температурою +16°C, (C, squares); \circ - кола на схемі вказують мух, які три роки вирощувалися в умовах з постійною температурою + 25°C, (H, circles); T - розвиток мух в умовах зі змінною температурою; C і H - розвиток мух в умовах стабільної температури навколишнього середовища (Cooper et al., 2012).

Рис. 6. Б. Залежність між здатністю до аклімації ліпідного складу мембран і температурою вирощування мух. Де: по осі ОУ - здатність організмів до аклімації, (Capacity to acclimate PE/PC ratio \pm s.e.); по осі ОХ - селективні умови розвитку мух, (Selective Environment); T, triangles - трикутники, C, squares - квадрати і H, circles - кола на схемі; T - умови розвитку мух зі змінною температурою; C і H - умови розвитку мух зі стабільною температурою навколишнього середовища. Здатність до акліматизації розраховувалася як різниця в співвідношенні PE/PC між температурами розвитку для кожної генетичної лінії і є мірою пластичності розвитку (Cooper et al., 2012).

Завдання 3. Широтна адаптація організмів до температурного градієнту: генетична складова і пластичність. Як формується широтний градієнт видового різноманіття? Як таксони живих організмів будуть реагувати на зміни клімату? Адаптація може відбуватися за рахунок наявних внутрішніх генетичних резервів, що проявляється в фенотипічній пластичності особин в різних умовах середовища, а також - за рахунок інновацій, які з'являються *de novo* в геномі організмів. До сих пір внесок кожного з механізмів у формування термальної толерантності в межах широтного градієнта температур - залишається невстановленим.

Pereira R.J. з колегами (2017) досліджували термальну адаптацію 11 популяцій маленьких ракоподібних *Tigriopus californicus*, що мешкають в прибережних водах від Мексики (27.188°N північної широти) до Канади (50.588°N північної широти).

Результати експериментальних робіт показали, що виживання після теплового стресу суттєво відрізнялося між популяціями. Це свідчить про значний внесок генетичної компоненти в термальну адаптацію рачків на різних широтах (при стрибку температур 3,8°C).

Крім того, Pereira R.J. з колегами (2017) в ході експериментів було встановлено, що онтогенетична термальна пластичність грає важливу роль в адаптації в межах стрибка температур 1,3°C. І цей ефект різниться між популяціями. Не дивлячись на те, що генетичні відмінності в тепловій толерантності чітко корелювали з широтою і температурою проживання популяцій рачків, відмінності в пластичності онтогенезу - такої кореляції не показали.



Рис. 7. Маленьке ракоподібне *Tigriopus californicus* (за <https://alchetron.com/Tigriopus-californicus>).

Отримані дані свідчать про те, що популяції, які живуть в низьких широтах - є більш чутливими до локального вимирання внаслідок потепління клімату, оскільки рівень їх генетичних адаптацій досяг свого фізіологічного ліміту, який наближається до сучасного температурному максимуму. Крім того, отримані дані суперечать існуючим теоретичним припущенням, згідно яких, фенотипічна пластичність популяцій обмежена низькими широтами проживання (Pereira et al., 2017).

Таким чином, Pereira R.J. з колегами (2017) було показано, що екваторіальні популяції маленьких ракоподібних *Tigriopus californicus* мають меншу пластичність і ліміт до адаптації в порівнянні з особинами - мешканцями більш високих широт (т.т., проживання на екваторі охоплює температурний ліміт їх видової межі існування за максимальними температурами) (Pereira et al., 2017).

Результати експериментів, проведених Pereira R.J. з колегами (2017), наведені на рисунку 8.

- 1) Чому зростання температури навколишнього середовища може становити небезпеку для організмів? _____
- 2) Перерахуйте, які механізми здатні забезпечити виживання популяції при підвищенні температури навколишнього середовища? _____
- 3) Використовуючи дані рисунка 8, вкажіть, при якій температурі навколишнього середовища, виживання ракоподібних *Tigriopus californicus* знизилося до 50%: для популяції самих північних рачків RC _____, для популяції південних рачків SRQ _____.
- 4) Чому північні популяції виявилися більш чутливими до теплового стресу, в порівнянні з південними популяціями? _____
- 5) Норма реакції - це діапазон мінливості ознаки у відповідь на дію чинників середовища. Норма реакції контролюється генотипом організму. Мінливість ознаки може бути дуже велика, але вона ніколи не виходить за межі норми реакції. Виходячи з поняття норма реакції, поясніть, чому 50% смертність північних популяцій навіть при тепловій переадаптації - настає при + 36°C, а південних популяцій – при +38,5°C? _____
- 6) Що таке онтогенетична пластичність організмів? _____
- 7) Вкажіть, при якій температурі навколишнього середовища, виживання ракоподібних *Tigriopus californicus* з популяції найбільш північних рачків RC впало до 0%: при температурі розвитку рачків +20°C _____ і при температурі розвитку рачків +25 °C _____.

Поясніть причини виявлених відмінностей _____

8) Вкажіть, при якій температурі навколишнього середовища, виживання ракоподібних *Tigriopus californicus* з популяції південних рачків SRQ впало до 0%: при температурі розвитку рачків +20°C _____ і при температурі розвитку рачків +25°C _____.

Поясніть причини виявлених відмінностей _____

9) На підставі отриманих даних зробіть висновок про те, які популяції ракоподібних *Tigriopus californicus* - північні або південні - мають більш високий рівень онтогенетичної термальної пластичності _____.

10) До яких наслідків для виживання північних і південних популяцій ракоподібних *Tigriopus californicus* може привести очікуване потепління клімату? _____

Поясніть свою відповідь _____

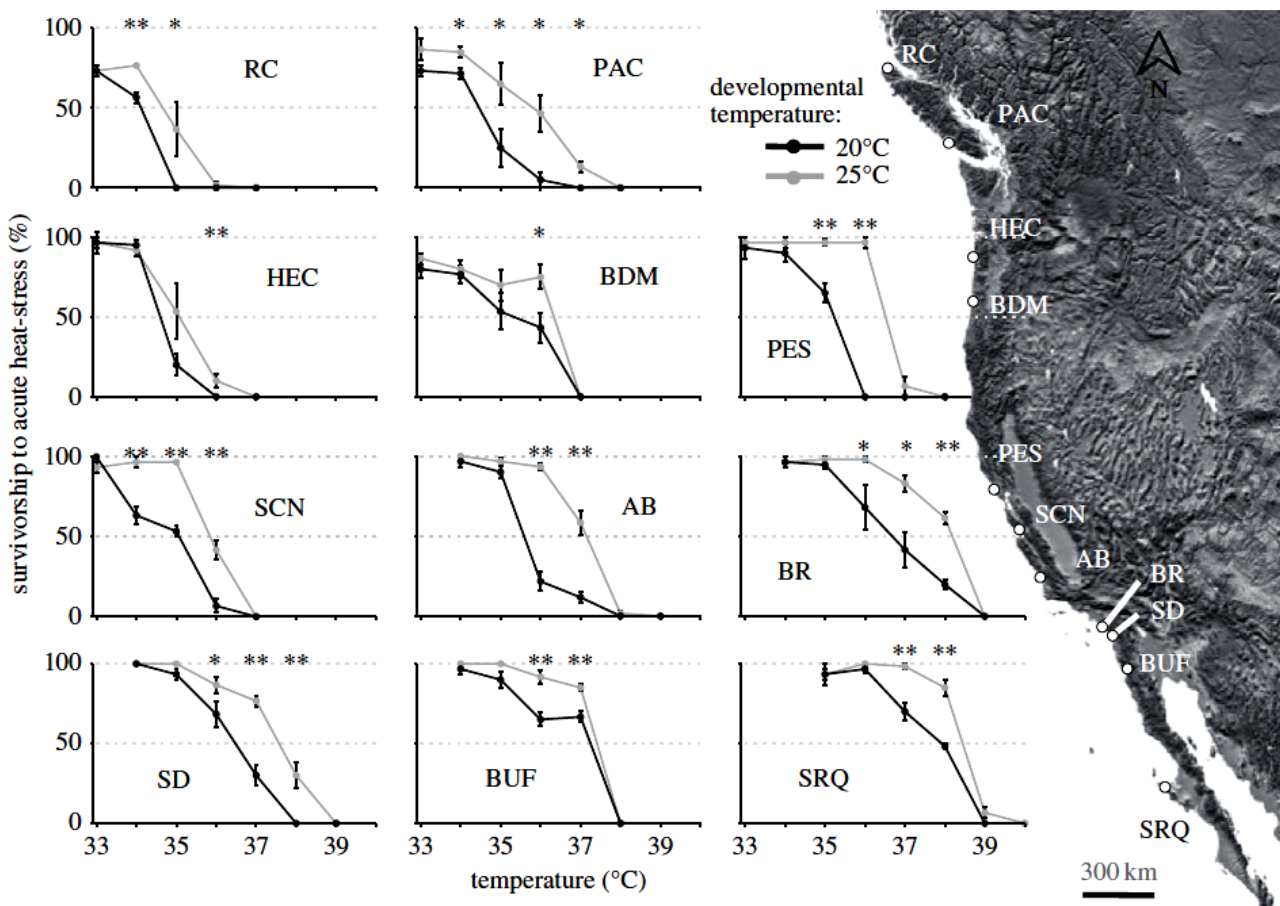


Рис. 8. Залежність між виживанням ракоподібних *Tigriopus californicus* в умовах гострого температурного стресу від широти проживання природних популяцій (від Мексики, 27.188°N до Канади, 50.588°N, див. карту праворуч) і від температурних умов розвитку особин в експерименті. Де: по осі ОУ - виживання особин в умовах гострого температурного стресу, % (survivorship to acute heat-stress, %); по осі ОХ - температура навколишнього середовища, °C, (temperature, °C); developmental temperature - температура, при якій відбувався розвиток особин в умовах експерименту; чорна крива - температура розвитку становила +20°C, світла крива - температура розвитку становила +25°C; літерні символи на графіках відповідають літерним символам на карті і відображають географічні координати природних середовищ існування відповідних популяцій; RC - найпівнічніша популяція; SRQ - найпівденніша популяція (Pereira et al., 2017).

Завдання 4. Організми екстремальні термофіли мають меншу онтогенетичу термальну пластичність у порівнянні з організмами мезотермофілами. Срібні мурахи *Cataglyphis bombycina* живуть в Сахарі і є одними з найбільш стійких до спеки організмами: вони добувають собі їжу вдень під палючим Сонцем Сахари. Мурахи *Cataglyphis mauritanica* живуть в Атласних горах і піддаються значним добовим і сезонним температурним контрастам, пов'язаним з гірськими умовами.



Рис. 9. Робочий мураха виду *Cataglyphis bombycina* (зліва на фотографії) - мешканець пустелі Сахари (екстремальний термофіл). Робочий мураха виду *Cataglyphis mauritanica* (праворуч на фотографії) - мешканець Атласних гір (мезотермофіл) (Willot et al., 2017).

Willot Q. з колегами (2017) вивчали виживання срібних мурах *Cataglyphis bombycina* Сахари і мурах *Cataglyphis mauritanica*, що живуть в Атласних горах в лабораторних умовах зростання температур. *NB! В лабораторії мурах обох видів вирощували протягом двох місяців при температурі +25°C і потім піддавали дії високих температур +37°C, +40°C або +45°C протягом 3 годин. Експерименти проводилися на робочих мурахах, які з'явилися з яєць вже в лабораторії.

- 1) Використовуючи дані рисунка 10, вкажіть рівень виживання мурах Сахари і Атласних гір при температурі +37°C протягом 3 годин: _____.
- 2) Вкажіть рівень виживання мурах при дії температури +40°C протягом 3 годин для мурах Сахари _____ і для мурах Атласних гір: _____.
- Вкажіть рівень виживання мурах при дії температури +45°C протягом 3 годин для мурах Сахари _____ і для мурах Атласних гір: _____.
- 3) Яка група виявилася більш стійкою до підвищення температури? _____.

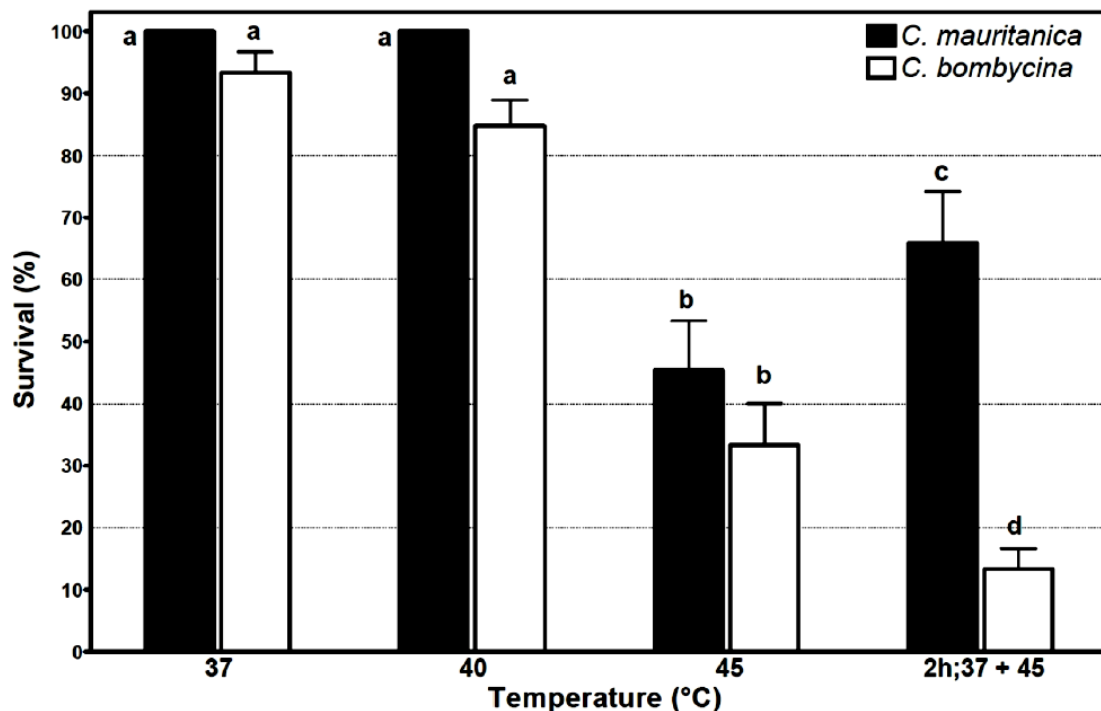


Рис. 10. Виживання мурах різних видів при зростанні температури навколишнього середовища. Де: по осі ОУ - відсоток виживання мурах, % (Survival, %); по осі ОХ - температура навколишнього середовища, °C (Temperature, °C); ■ - *Cataglyphis mauritanica* –

мешканці Атласних гір, менш термофільна група; □ - *Cataglyphis bombycina* - мешканці пустелі Сахара, дуже термофільна група (Willot et al., 2017).

4) Парадоксальність меншої стійкості мурах Сахари до зростання температур дозволили пояснити дослідження, проведені Shi N.N. з колегами (2015). Вчені встановили, що тіло мурах Сахари покрито густими мікроскопічними волосками, які відбивають сонячне світло, що захищає мурах від нагрівання під час полювання під палючими променями Сонця. Результати досліджень, проведених Shi N.N. з колегами (2015), наведені на рисунках 11,13.



Рис. 11. Голова срібного мурахи *Cataglyphis bombycina*, покрита волосками. Скануюча електронна мікроскопія (Shi et al., 2015).



Рис. 12. Волоски, які покривають тіло мурахи, відбивають сонячне світло (за <https://www.google.com.ua/search?q=Cataglyphis+bombycinus>).

5) Використовуючи дані рисунка 13, вкажіть величину оптичної відбивної здатності поверхні тіла срібних мурах для світла довжиною хвилі 0,5 мкм: а) для поверхні тіла, покритої волосками _____ і б) для поверхні тіла, не покритої волосками _____.
 б) На підставі отриманих даних поясніть, чому температура тіла мурахи з волосками на сонячному світлі на +10°C нижче, ніж у мурах, у якого волоски видалені? _____

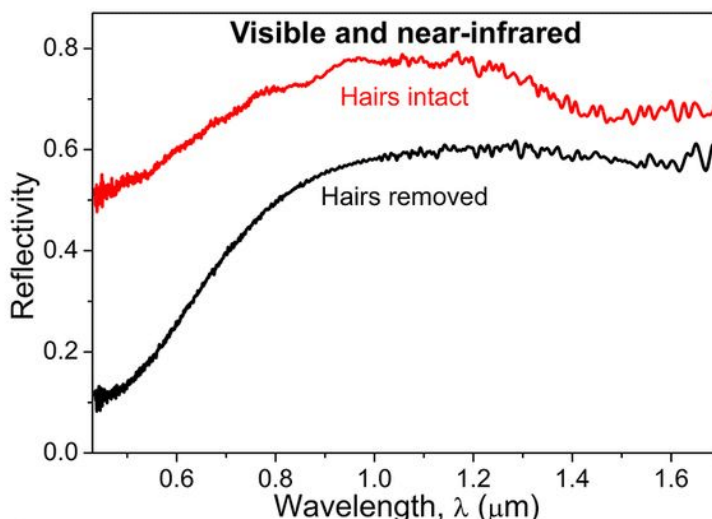


Рис. 13. Відбивна здатність поверхні тіла срібних мурах в залежності від довжини хвилі падаючого світла. Де: по осі ОУ - відбивна здатність поверхні тіла мурах (Reflectivity); по осі ОХ - довжина хвилі, мкм (Wavelength, mkm); Visible and near-infrared - видиме і ближнє інфрачервоне випромінювання; Hairs intact - поверхня тіла мурахи з інтактними волосками; Hairs removed - поверхня тіла мурахи з видаленими волосками (Shi et al., 2015).

7) Поясніть, чому в умовах лабораторного експерименту, мурахи Сахари показали меншу стійкість до теплового стресу, в порівнянні з мурахами, мешканцями Атласних гір?

*NB! В умовах лабораторного експерименту підвищення температури навколишнього середовища досягається не за рахунок сонячного випромінювання, а в результаті роботи нагрівальних приладів, що дають теплове випромінювання в середній і далекій інфрачервоній областях електромагнітного спектра.

8) У другій серії експериментів, мурах обох видів піддавали переадаптації до теплового шоку впродовж 2 годин при температурі +37°C і потім переносили в умови теплового шоку при +45°C на 3 години. Використовуючи дані рисунка 10, вкажіть відсоток виживання мурах з Атласних гір _____ і мурах, мешканців Сахари _____ в кінці цього експерименту.

9) За рахунок яких механізмів можливе підвищення стійкості організмів до високих температур? _____

10) Молекулярний аналіз показав, що в клітинах мурах з Атласних гір після теплової переадаптації - посилюється синтез білків теплового шоку, тоді як в клітинах мурах Сахари - цього не сталося. Вкажіть, які функції в клітинах виконують білки теплового шоку?

11) Виходячи з отриманих даних, поясніть, чому під час наступного теплового шоку +45°C виживання мурах Атласних гір підвищилося, а мурах Сахари - знизилось?

12) Пластичність онтогенезу - це здатність організмів підлаштовуватися до зміни умов навколишнього середовища в межах наявного у них генотипу. Який з двох видів мурах має більший рівень онтогенетичної теплової пластичності - мурахи мешканці Атласних гір або мурахи, мешканці Сахари? _____

Як Ви думаєте, чому у мурах з Атласних гір вище теплова пластичність онтогенезу в порівнянні з мурахами Сахари? _____

Завдання 5. Адаптація до низьких і високих температур навколишнього середовища обмежується доступністю кисню для організмів аеробів. Pörtner H.O. (2002)

вивчав залежність температурної адаптації організмів від доступності кисню для їх клітин. Відповідно до закону Шелфорда - як неефективна доставка кисню до клітин знижує їх життєздатність (гіпоксія), так і надлишкова доставка кисню до клітин - також знижує їх життєздатність (гіпероксія). Тому, коли при підвищенні температури навколишнього середовища - доставка кисню погіршується, а потреба в ньому збільшується - це визначає температурний поріг виживання організму. При зниженні температури навколишнього середовища - погіршується доставка кисню до клітин і знижується функціональність мітохондрій, що також обмежує вже нижню температурну межу виживання організмів. Тому, виживання організмів при підвищенні або зниженні температури навколишнього середовища за ці межі - може забезпечуватися при переході організму на анаеробний шлях отримання енергії (гліколіз) (Pörtner, 2002).

Результати дослідження впливу низьких температур на дихальну здатність і обмін речовин морських черв'яків *Sipunculus nudus* наведені на рисунках 15 А-Б.

1) Використовуючи дані рисунка 15 Б, вкажіть, при якій температурі зупиняється дихальна перистальтика морського черв'яка *Sipunculus nudus* _____.

*NB! Перистальтика - хвилеподібне скорочення стінок порожнистих трубчастих органів тварин. Перистальтичні рухи морського черв'яка сприяють циркуляції рідин, що полегшує газообмін в організмі.



Рис. 14. Морський черв'як *Sipunculus nudus* (за <https://alchetron.com/Sipunculus-nudus>).

- 2) Використовуючи дані рисунка 15 А, вкажіть, при якій температурі навколишнього середовища в м'язах морського черв'яка починають інтенсивно накопичуватися продукти анаеробного метаболізму: сукцинат, пропіонат, ацетат? _____.
- 3) Чому при 0°C організм морського черв'яка переходить на анаеробний (безкисневий) метаболізм? _____.

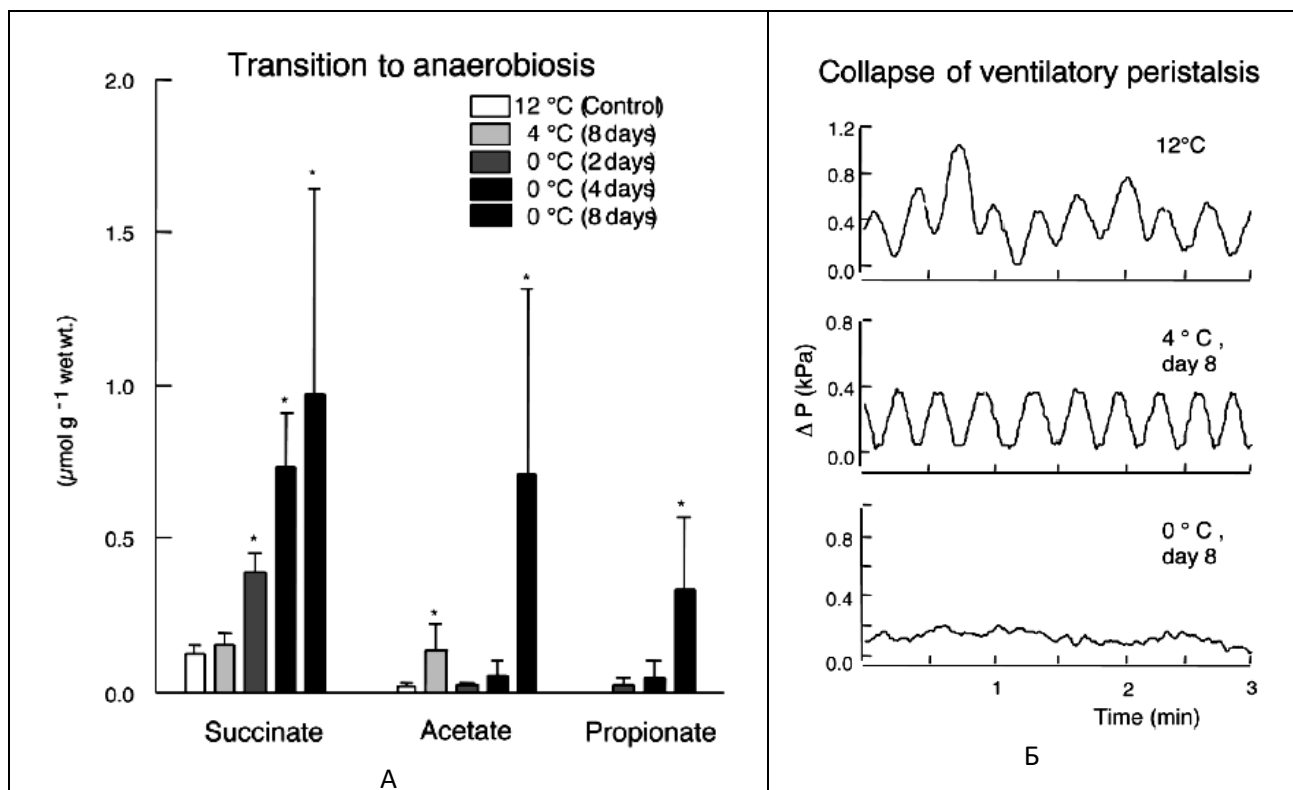


Рис. 15. А. Низькі температури сприяють переходу мітохондрій морського черв'яка *Sipunculus nudus* на анаеробний (безкисневий) тип метаболізму. Про це свідчить накопичення сукцинату, пропіонату і ацетату в клітинах мускулатури тіла цього черв'яка. Де: по осі ОУ - накопичення в м'язах черв'яка продуктів анаеробного метаболізму, мкмоль/г сирової маси тіла, ($\mu\text{mol/g wet wt}$); по осі ОХ - Transition to anaerobiosis - перехід черв'яка до анаеробіозу; Succinate - сукцинат; Acetate - ацетат; Propionate - пропіонат (цитовано за Pörtner, 2002).

Рис. 15. Б. Перехід до анаеробіозу, викликаного низькими температурами навколишнього середовища, відбувається після колапсу перистальтики дихальних шляхів черв'яка при температурах нижче +4°C. Де: по осі ОУ - інтенсивність перистальтичних рухів тіла черв'яка, ΔP (kPa); Collapse of ventilatory peristalsis - колапс вентиляторної перистальтики черв'яка (цитовано за Pörtner, 2002).

Результати вивчення впливу високих і низьких температур на концентрацію кисню в гемолімфі краба-павука *Maja squinado* і на його здатність переходити до анаеробного метаболізму в стресових температурних умовах наведені на рисунку 17.

- 4) Використовуючи дані рисунка 17, вкажіть, за яких температур навколишнього середовища парціальний тиск кисню в гемолімфі краба-павука є оптимальним (тобто, знаходиться в діапазоні 40-130 мм ртутного стовпа)? _____.
- 5) Як змінюється парціальний тиск кисню в гемолімфі краба-павука: при зниженні температури навколишнього середовища нижче оптимальної _____, при підвищенні температури навколишнього середовища вище оптимальної? _____.
- 6) Чому при зниженні температури навколишнього середовища - концентрація кисню в гемолімфі краба-павука - знижується? _____.
- 7) Чому при підвищенні температури навколишнього середовища - концентрація кисню в гемолімфі краба-павука - знижується? _____.

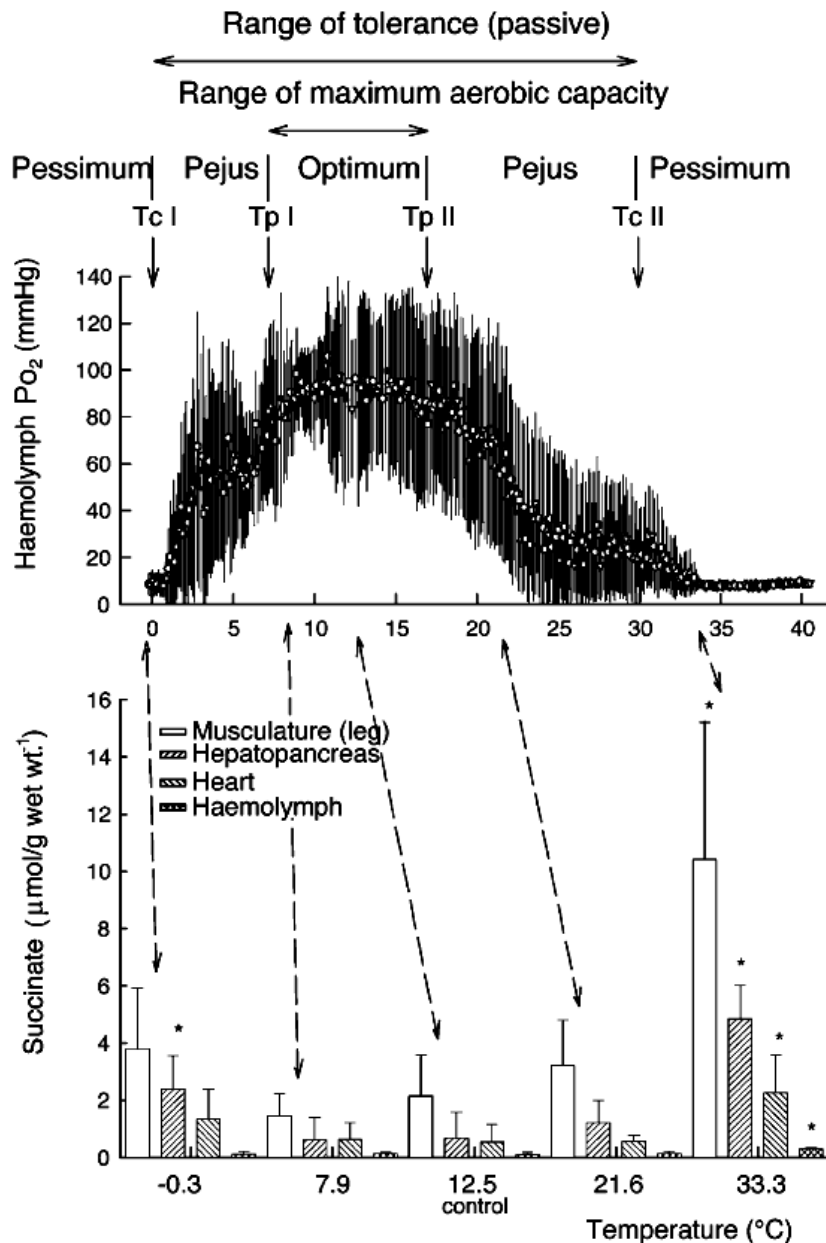


Рис. 17. Залежність між парціальним тиском кисню в гемолімфі краба-павука *Maja squinado* і температурою навколишнього середовища. Де: по осі ОУ верхній графік - парціальний тиск кисню в гемолімфі краба-павука, мм.рт.ст., (Haemolymph PO₂, mmHg); по осі ОХ - температура навколишнього середовища, °С (Temperature, °C); Range of tolerance (passive) - діапазон толерантності (пасивної); Range of maximum aerobic capacity - діапазон максимальної аеробної здатності; Optimum - оптимум (зона оптимальної аеробної здатності організму); Rejus - зона напруги (проблеми в реалізації аеробного метаболізму організму);

Pessimum - песимум (зона пригнічення аеробного метаболізму в організмі); по осі ОУ нижній графік - вміст сукцината (продукту анаеробного метаболізму) в різних органах і в гемолімфі краба-павука, мкмоль/г сирової маси тіла, (Succinate, $\mu\text{mol/g wet wt}$); Musculature (leg) - мускулатура (ноги); Hepatopancreas - гепатопанкреас (травна залоза у членистоногих і молюсків; у ссавців цю ж функцію виконують окремо печінка і підшлункова залоза); Heart - серце; Haemolymph - гемолімфа (цитовано за Pörtner, 2002).



Рис. 16. Краб-павук *Maja squinado* (за https://fr.wikipedia.org/wiki/Maja_squinado).

- 8) Вкажіть рівень сукцината (продукту анаеробного метаболізму) в клітинах мускулатури краба-павука при оптимальному парціальному тиску кисню в гемолімфі: _____, при мінімальному парціальному тиску кисню в гемолімфі при низьких температурах навколишнього середовища _____ і при високих температурах навколишнього середовища _____.
- 9) Про що свідчить зростання концентрації сукцинату в клітинах краба-павука при низьких і високих температурах навколишнього середовища? _____
- 10) Чому при високих і низьких температурах навколишнього середовища - клітини краба-павука переходять до анаеробного (безкисневого) обміну речовин? _____

Контрольні питання:

1. небезпека високих температур для живих організмів.
2. механізми адаптації організмів до високих температур навколишнього середовища.
3. небезпека низьких позитивних температур для живих організмів.
4. механізми адаптації організмів до низьких позитивних температур навколишнього середовища.
5. небезпека низьких негативних температур і адаптація до них організмів.
6. механізми самообігріву і самоохолодження організмів.

Література:

- Campos C., Valente L.M., Fernandes J.M. Molecular evolution of zebrafish dnmt3 genes and thermal plasticity of their expression during embryonic development // *Gene*. – 2012. – Vol. 500(1). – P. 93 - 100. doi: 10.1016/j.gene.2012.03.041.
- Chaikam V., Karlson D.T. Comparison of structure, function and regulation of plant cold shock domain proteins to bacterial and animal cold shock domain proteins // *BMB reports*. – 2010. – Vol. 43(1). – P. 1 – 8.
- Cooper B.S., Hammad L.A., Fisher N.P., Karty J.A., Montooth K.L. In a variable thermal environment selection favors greater plasticity of cell membranes in *Drosophila melanogaster* // *Evolution*. – 2012. – Vol. – Vol. 66(6). – P. 1976 - 1984. doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01566.x.
- Epperson L.E., Martin S.L. Quantitative assessment of ground squirrel mRNA levels in multiple stages of hibernation // *Physiol. Genomics*. – 2002. – Vol. 10(2). – P. 93 - 102.
- Garvin M.R., Thorgaard G.H., Narum S.R. Differential Expression of Genes that Control Respiration Contribute to Thermal Adaptation in Redband Trout (*Oncorhynchus mykiss gairdneri*) // *Genome Biol. Evol.* – 2015. – Vol. 7(6). – P. 1404 - 1414. doi: 10.1093/gbe/evv078.
- Kondo N. Endogenous circannual clock and HP complex in a hibernation control system // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* – 2007. – Vol. 72. – P. 607 - 613. doi: 10.1101/sqb.2007.72.028.

- Kuhn E. Toward understanding life under subzero conditions: the significance of exploring psychrophilic "cold-shock" proteins // *Astrobiology*. – 2012. – Vol. 12(11). – P. 1078 - 1086. doi: 10.1089/ast.2012.0858.
- Kuiper M.J., Morton C.J., Abraham S.E., Gray-Weale A. The biological function of an insect antifreeze protein simulated by molecular dynamics // *Elife*. – 2015. – Vol. 4. doi: 10.7554/eLife.05142.
- Laursen W.J., Mastrotto M., Pesta D., Funk O.H., Goodman J.B., Merriman D.K., Ingolia N., Shulman G.I., Bagriantsev S.N., Gracheva E.O. Neuronal UCPI expression suggests a mechanism for local thermogenesis during hibernation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2015. – Vol. 112(5). – P. 1607-1612. doi: 10.1073/pnas.1421419112.
- Ma J., Wang J., Mao X.F., Wang Y. Differential expression of two antifreeze proteins in the desert beetle *Anatolica polita* (*Coleoptera: Tenebrionidae*): seasonal variation and environmental effects // *Cryo. Letters*. – 2012. – Vol. 33(5). – P. 337 - 348.
- Min Q., Cheng S., Xi J., Xin T., Xia B., Zou Z. Differential expression patterns of two delta-9-acyl-CoA desaturases in *Thitarodes pui* (*Lepidoptera: Hepialidae*) during different seasons and cold exposure // *Ecol. Evol.* – 2017. – Vol. 7(6). – P. 1909 - 1918. doi: 10.1002/ece3.2792.
- Peck L.S., Pörtner H.O., Hardewig I. Metabolic demand, oxygen supply, and critical temperatures in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica* // *Physiol. Biochem. Zool.* – 2002. – Vol. 75(2). – P. 123 - 133.
- Pereira R.J., Sasaki M.C., Burton R.S. Adaptation to a latitudinal thermal gradient within a widespread copepod species: the contributions of genetic divergence and phenotypic plasticity // *Proc. Biol. Sci.* – 2017. – Vol. 284(1853). pii: 20170236. doi: 10.1098/rspb.2017.0236.
- Piccolin F., Suberg L., King R., Kawaguchi S., Meyer B., Teschke M. The Seasonal Metabolic Activity Cycle of Antarctic Krill (*Euphausia superba*): Evidence for a Role of Photoperiod in the Regulation of Endogenous Rhythmicity // *Front. Physiol.* – 2018. – Vol. 9:1715. doi: 10.3389/fphys.2018.01715.
- Pörtner H.O. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* – 2002. – Vol. 132(4). – P. 739 - 761.
- Qiu L., Mao X., Hou F., Ma J. A novel function - thermal protective properties of an antifreeze protein from the summer desert beetle *Microdera punctipennis* // *Cryobiology*. – 2013. – Vol. 66(1). – P. 60 - 68. doi: 10.1016/j.cryobiol.2012.11.005.
- Shi N.N., Tsai C.C., Camino F., Bernard G.D., Yu N., Wehner R. Thermal physiology. Keeping cool: Enhanced optical reflection and radiative heat dissipation in Saharan silver ants // *Science*. – 2015. – Vol. 349(6245). – P. 298 - 301. doi: 10.1126/science.aab3564.
- Somero G.N. Protein adaptations to temperature and pressure: complementary roles of adaptive changes in amino acid sequence and internal milieu // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* – 2003. – Vol. 136(4). – P. 577 - 591.
- Willot Q., Gueydan C., Aron S. Proteome stability, heat hardening and heat-shock protein expression profiles in *Cataglyphis* desert ants // *J. Exp. Biol.* – 2017. – Vol. 220(Pt 9). – P. 1721 - 1728. doi: 10.1242/jeb.154161.
- Willot Q., Mardulyn P., Defrance M., Gueydan C., Aron S. Molecular chaperoning helps safeguarding mitochondrial integrity and motor functions in the Sahara silver ant *Cataglyphis bombycina* // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8(1):9220. doi: 10.1038/s41598-018-27628-2.

Тема 8. Іонізуюче випромінювання і живі організми

8.1. Практична робота

Завдання 1. Радіотропізм грибів в напрямку до джерела іонізуючого випромінювання.

Тропізми - це спрямований ріст окремих клітин, органів або цілих організмів, який викликається дією певного подразника. Відомі такі типи тропізмів: фототропізм (ріст в напрямку до джерела світла), хемотропізм (ріст у напрямку до сигнальних молекул), гравітропізм (ріст вздовж вектора гравітаційного поля Землі).

Нещодавно вченими був виявлений феномен радіотропізма - спрямованого росту гіфів грибів до джерела іонізуючого випромінювання в зоні Чорнобильської АЕС (за Dadachova & Casadevall, 2008).

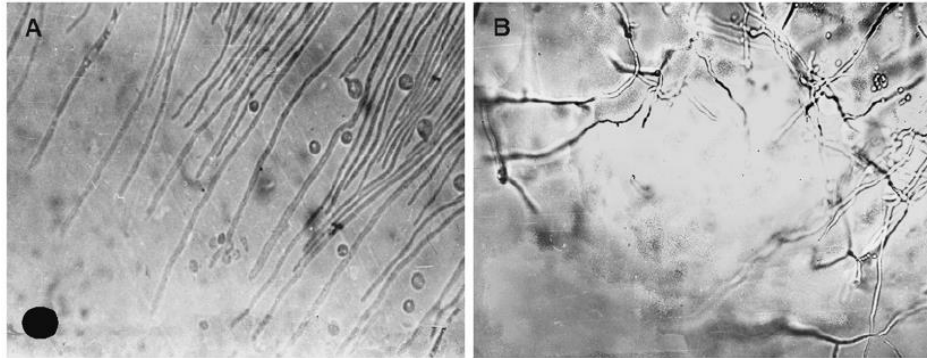
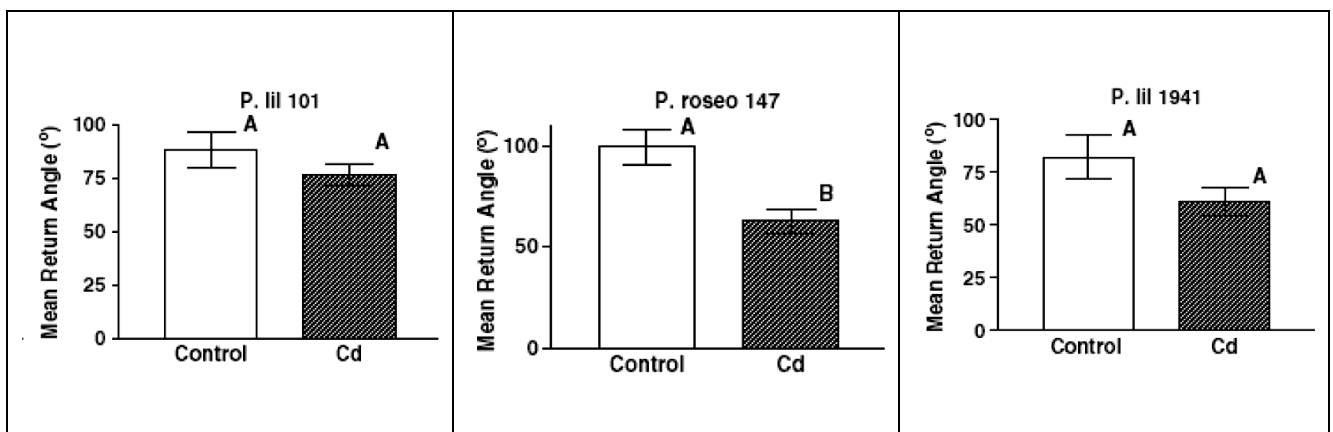


Рис. 1. Радіотропізм у грибів *Paecilomyces lilacinus* 1941: А - гіфи гриба ростуть у напрямку до джерела іонізуючого випромінювання (джерело вказане на фотографії чорним колом); В - в контрольних умовах гіфи ростуть в різні боки. Зб. $\times 140$ (за https://www.researchgate.net/figure/Radiotropism-reaction-in-Paecilomyces-lilacinus-1941-A-experiment-black-circle_fig1_6962747).

Гриби роду *Cladosporium*, відібрані в різних за рівнем забруднення радіонуклідами зонах Чорнобильського реактора, протягом 24 годин піддавали дії іонізуючого гамма-випромінювання від розпаду радіоактивного кадмію ^{109}Cd . Через 24 години вимірювали кут повороту гіфів грибів по відношенню до джерела гамма-випромінювання. Отримані результати наведені на рисунку 2 (за Dadachova & Casadevall, 2008).

1) Вкажіть середній кут повороту гіфів різних видів грибів в контрольних умовах (без джерела гамма-випромінювання) і після 24 годин спрямованого впливу гамма-променями. Отримані дані внесіть до таблиці 1.



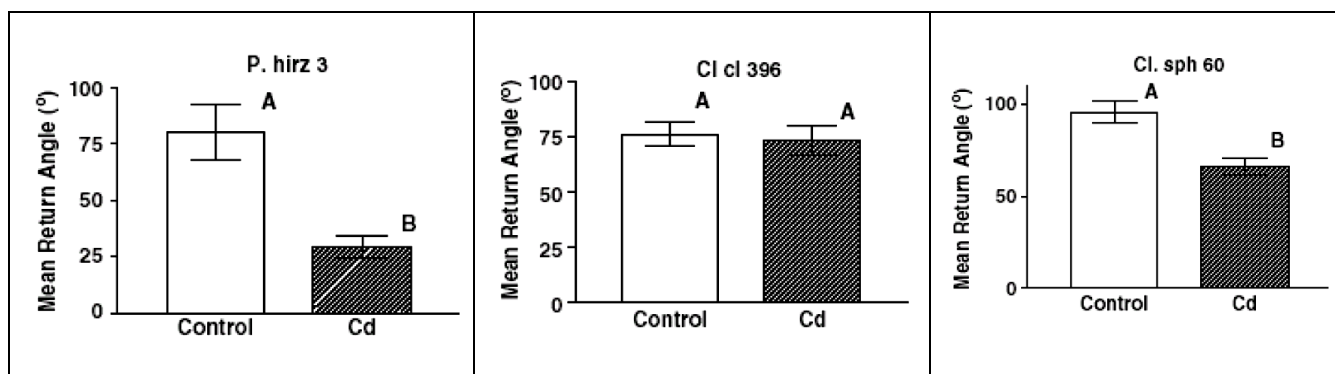


Рис. 2. На гістограмах вказаний кут повороту гіфів грибів в контрольних умовах (Control) і після 24 годин впливу гамма-випромінюванням (Cd). Де: Mean Return Angle (0) - кут повороту гіфів грибів; Де: P. lil 101 - гриби *Paecilomyces lilacinus* 101, відібрані в чистих від радіонуклідів ґрунтах; P. roseo 147 – гриби *Penicillium roseopurpureum* 147, відібрані в забруднених радіонуклідами ґрунтах Червоного лісу (Red Forest); P. lil 1941 – гриби *Paecilomyces lilacinus* 1941, відібрані в забруднених радіонуклідами ґрунтах Червоного лісу (Red Forest); P. hirz 3 – гриби *Penicillium hirsutum* 3, відібрані біля радіоактивних викидів реактора; Cl cl 396 – гриби *Cladosporium cladosporioides*, відібрані в чистій від радіонуклідів зоні; Cl. sph 60 - гриби *Cladosporium sphaerospermum* 60, відібрані в зоні ядерного реактора (за Dadachova & Casadevall, 2008).

Таблиця 1. Вплив спрямованого потоку гамма-випромінювання на кут повороту гіфів грибів, відібраних в різних за ступенем забруднення радіонуклідами зонах Чорнобильської АЕС.

Шифр в гістограмі і вид гриба:	Середній кут повороту гіфів грибів:		Різниця між контролем і дослідом:	Зона відбору грибів:
	контроль	гамма-промені		
P. lil 101 – гриби <i>Paecilomyces lilacinus</i> 101				
P. roseo 147 – гриби <i>Penicillium roseopurpureum</i> 147				
P. lil 1941 – гриби <i>Paecilomyces lilacinus</i> 1941				
P. hirz 3 – гриби <i>Penicillium hirsutum</i> 3				
Cl cl 396 – гриби <i>Cladosporium cladosporioides</i>				
Cl. sph 60 – гриби <i>Cladosporium sphaerospermum</i> 60				

2) Перерахуйте, для яких зон зростання грибів були виявлені мінімальні і максимальні відмінності в кутах повороту гіфів грибів в досліді в порівнянні з контролем:

3) Чому у деяких видів грибів в умовах спрямованого впливу гамма-променів змінився напрям росту гіфів? _____

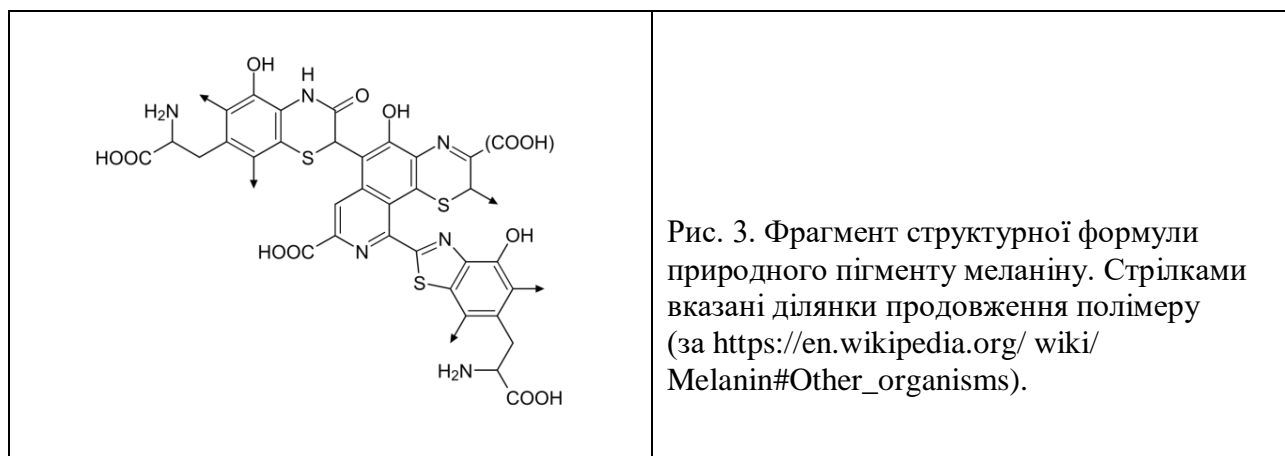
4) У багатьох випадках в ході експериментів дослідниками був виявлений позитивний радіотропізм не тільки для грибів, що ростуть в забруднених радіонуклідами зонах, але також і для грибів, що мешкають на чистих територіях. Поясніть даний феномен.

Завдання 2. Використання меланінів грибами для радіотрофії.

Меланіни - це природні пігменти, які синтезують всі організми, від бактерій до людини. Меланіни захищають клітини від шкідливого впливу факторів навколишнього середовища. Зокрема, вони поглинають ультрафіолетові промені, що запобігає пошкодженню ДНК клітин.

Нещодавно було встановлено, що меланіни здатні поглинати не тільки УФ-промені, але також і іонізуюче випромінювання. Більш того, вважають, що деякі організми, що мешкають в умовах підвищеного рівня іонізуючого випромінювання, навчилися використовувати меланіни для добування енергії для своїх внутрішньоклітинних процесів (наприклад, деякі гриби в зоні Чорнобильської АЕС) - по аналогії з рослинами, які використовують пігменти хлорофіли для добування енергії з сонячного світла (Castelvecchi, 2007; Dadachova et al., 2007).

Радіотрофія - це здатність організмів використовувати енергію іонізуючого випромінювання для клітинних процесів.



Dadachova E. з колегами (2007) припустили, що іонізуюче випромінювання здатне змінювати електричні властивості меланіну і спроможне посилювати ріст меланізованих мікроорганізмів. Якщо молекули речовини містять неспарені електрони - то такі молекули в постійному магнітному полі здатні вибірково поглинати енергію електромагнітного випромінювання певної частоти. Цей феномен отримав назву електронного парамагнітного (або спінового) резонансу. Дослідження показали, що у меланінів під впливом іонізуючого випромінювання змінюються показники електронного парамагнітного резонансу (рис. 4). Це свідчить про те, що в молекулах меланінів змінюється електронна структура.

Подальші дослідження дозволили встановити, що властивості опромінених і неопромінених меланінів - розрізняються. Так, у опромінених меланінів в 4 рази зростає здатність відновлювати молекули NADH (з окисленої форми) в порівнянні з неопроміненими меланінами. Був показаний ріст метаболічної активності клітин меланізованих грибів в порівнянні з не-меланізованими грибами. Випромінювання, яке приблизно в 500 разів перевищує фонове, прискорило ріст клітин меланізованих грибів *Wangiella dermatitidis* і *Cryptococcus neoformans*. Крім того, експозиція на іонізуючому випромінюванні посилила здатність меланінів транспортувати електрони в порівнянні з неопроміненими клітинами.

Turick С.Е. з колегами (2011) вперше було показано, що меланін в присутності іонізуючого випромінювання (гамма-радіації) - окислюється, тобто, віддає електрони. А це призводить до появи електричного струму (рис. 5) (Turick et al., 2011).

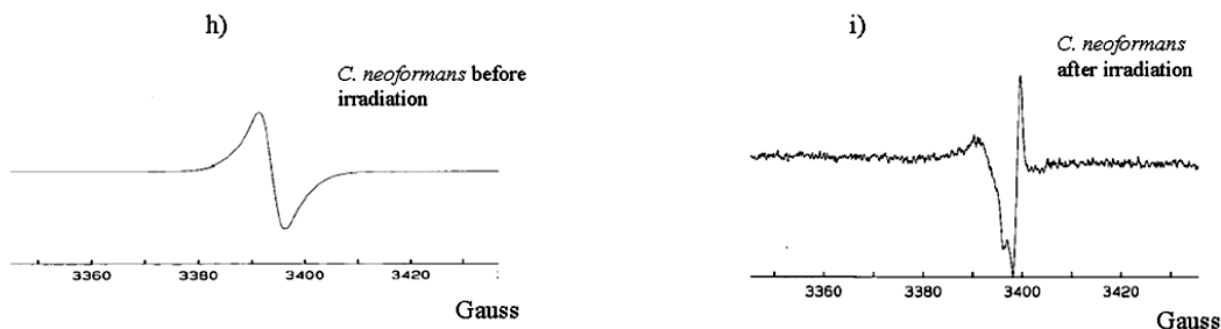


Рис. 4. Спектри електронного парамагнітного резонансу грибів *Cryptococcus neoformans* до і після впливу іонізуючого випромінювання: h) *C. neoformans* до впливу іонізуючого опромінення; i) *C. neoformans* після впливу іонізуючого випромінювання в дозі 0,3 кГр (Dadachova et al., 2007).

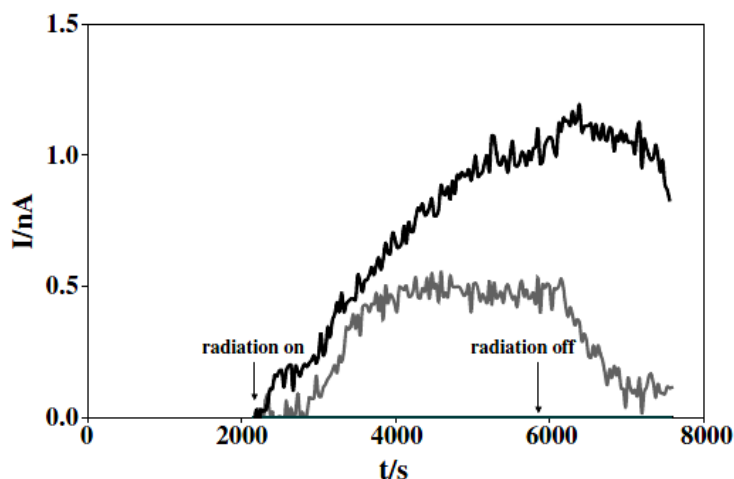


Рис. 5. Іонізуюче гамма-випромінювання (300 Гр/год, кобальтова гармата) індукує окислення меланіну і призводить до появи електричного струму. Де: по осі ОУ - сила струму, який виникає, нА; по осі ОХ - тривалість проведення експерименту, сек; radiation on - початок опромінення меланінів іонізуючим випромінюванням; radiation off - припинення опромінення меланінів іонізуючим випромінюванням. Сірим кольором - показана крива сили струму при використанні звичайного електрода (контроль); чорним кольором - вказана крива сили струму для електрода, що складається на 20% з меланіну (Turick et al., 2011).

Таким чином, проведені дослідження показали, що експозиція меланінів на іонізуючому випромінюванні змінює їх електронні властивості. Після впливу іонізуючого випромінювання меланізовані клітини грибів ростуть швидше, ніж немеланізовані. Це дозволяє припустити, що меланіни здатні використовувати енергію іонізуючого випромінювання для клітинних процесів (Dadachova et al., 2007).

Dadachova E. з колегами (2007) вивчали час, необхідний для подвоєння ростових показників (кількість колоній, величина сухої біомаси, вбудовування радіоактивного вуглецю-14 і ін.) у грибів *Wangiella dermatitidis* в контрольних умовах і під впливом іонізуючого випромінювання. При цьому порівнювалися ростові показники для грибів, що мають меланін, і для мутантної альбіносною лінії без пігментів. Результати проведених досліджень наведені в таблиці 2.

Використовуючи дані таблиці 2, дайте відповіді на наступні питання:

1) В контрольних умовах для меланізованих чи альбіносних грибів необхідно більше часу для подвоєння ростових показників? _____.

- 2) Про яку роль меланінів в клітинних процесах свідчать дані результати? _____
- 3) Яким грибам - опроміненим або неопроміненим - необхідно більше часу для подвоєння ростових показників? _____
 Про що це свідчить? _____
- 4) В умовах дії іонізуючого випромінювання, яким грибам необхідно більше часу для подвоєння ростових показників - меланізованим чи альбіносам? _____
- 5) Про яку роль меланінів в клітинах свідчать отримані результати? _____

Таблиця 2. Час подвоєння ростових показників для меланізованих грибів *Wangiella dermatitidis* і мутантної альбіносної лінії на середовищах, з дефіцитом поживних речовин, в контрольних умовах і під впливом іонізуючого випромінювання.

Лінія грибів:	Час подвоєння ростових показників, години:		
	опромінення	контроль	значення P*
Дика меланізована лінія (з пігментом)	6,5 ± 0,1 г	7,4 ± 0,2 г	0,02
Мутантна альбіносна лінія (без пігменту)	9,8 ± 1,0 г	10,8 ± 1,8 г	0,7

* - дані між опроміненими і неопроміненими варіантами порівнювалися з використанням непараметричного тесту Wilcoxon.

Завдання 3. Вплив пігментів меланінів на рівень АТФ в клітинах за умови дії на організм іонізуючого випромінювання.

Клітини всіх живих організмів від бактерій до людини працюють на енергії, яка запасена в молекулах АТФ. Bryan R. з колегами (2011) припустили, що якщо меланіни в умовах дії іонізуючого випромінювання здатні забезпечувати клітини енергією для протікання внутрішньоклітинних процесів, то в присутності меланінів рівень АТФ в клітинах повинен знижуватися. Результати досліджень, проведених на меланізованих і немеланізованих грибах *Cryptococcus neoformans* в умовах дії гамма-випромінювання, наведені на рисунку 6 (Bryan et al., 2011).

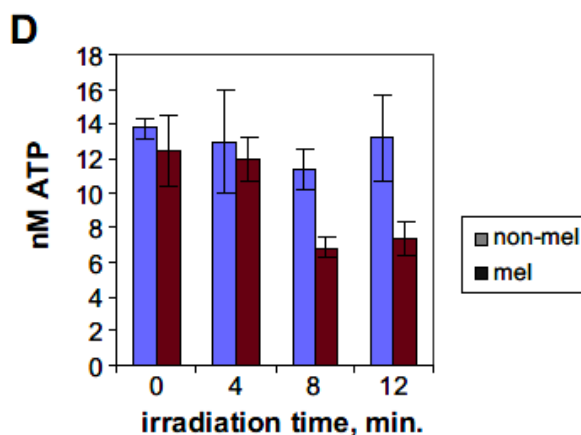


Рис. 6. Зміни вмісту молекул АТФ в клітинах грибів *Cryptococcus neoformans* в умовах дії гамма-опромінення. Де: по осі ОУ - вміст молекул АТФ, нМ; по осі ОХ - час після початку опромінення грибів, хв; non-mel - немеланізовані гриби; mel - меланізовані гриби (Bryan et al., 2011).

1) Вкажіть, як змінилася концентрація молекул АТФ в клітинах меланізованих грибів через 8 хвилин після початку гамма-опромінення (коричневі стовпчики гістограми)?

2) Вкажіть, як змінилася концентрація молекул АТФ в клітинах не-меланізованих грибів через 8 хвилин після початку гамма-опромінення (блакитні стовпчики гістограми)?

3) Поясніть, з чим можуть бути пов'язані виявлені відмінності?

Завдання 4. Радіаційний гормезис.

Численні дослідження свідчать про те, що малі дози іонізуючого випромінювання здатні стимулювати ріст організмів внаслідок активування захисних систем клітин (зокрема, процесів репарації ДНК, синтезу антиоксидантних ензимів і т.н). Радіаційний гормезис - це позитивний вплив на живі організми доз іонізуючого випромінювання, які кілька перевищують природний фон.

Використовуючи дані рисунка 7, вкажіть:

1) При якій дозі іонізуючого випромінювання ріст грибів *W. dermatitidis* був максимальним? _____ . Мінімальним? _____

2) За яких доз іонізуючого випромінювання ріст грибів був вищим, ніж у контрольних умовах? _____

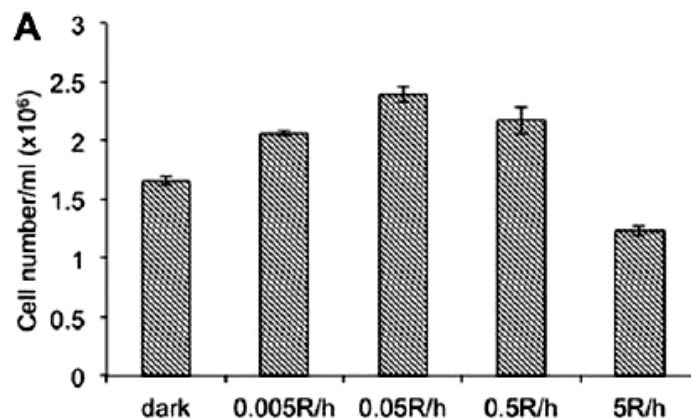


Рис. 7. Інтенсивність росту грибів *W. dermatitidis* при вирощуванні протягом 24 годин в умовах дії різних доз іонізуючого випромінювання. Де: dark - темновий контроль; 0,005 R/h, 0,05 R/h, 0,5 R/h і 5 R/h - різні дози іонізуючого випромінювання (Р/год); по осі ОУ: Cell number/ml ($\times 10^6$) - кількість клітин гриба в мл ($\times 10^6$) (Robertson et al., 2012).

3) Про що свідчить більш інтенсивний ріст грибів при дії малих доз іонізуючого випромінювання в порівнянні з умовами відсутності опромінення? _____

4) Що таке радіаційний гормезис? _____

5) Використовуючи дані рисунка 8, вкажіть, чи тільки наявністю меланінів визначається підвищена ростова реакція грибів в умовах дії невисоких доз іонізуючого випромінювання? _____ . Поясніть свою відповідь: _____

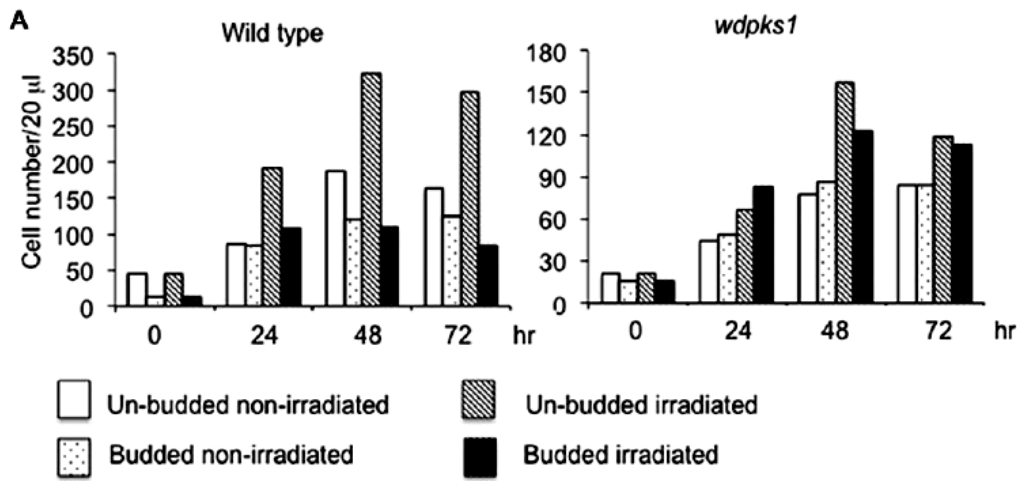


Рис. 8. Вплив малих доз іонізуючого випромінювання (0,03 Р/год) на інтенсивність ростових процесів у дикої меланізованої лінії дріжджових грибів *W. dermatitidis* і у мутантної альбіносної лінії *wdpks1*. Де: по осі ОХ - тривалість впливу іонізуючого випромінювання на гриби, години; по осі ОУ Cell number/ml ($\times 10^6$) – кількість клітин гриба в мл ($\times 10^6$); Un-budded non-irradiated – не опромінені клітини, які не брунькуються; Budded non-irradiated – не опромінені клітини, які брунькуються; Un-budded irradiated – опромінені клітини, які не брунькуються; Budded irradiated – опромінені клітини, які брунькуються (Robertson et al., 2012).

Завдання 5. Радіаційний гормезис у шовкопрядів.

1) Використовуючи дані, наведені на рисунку 9, вкажіть масу тіла шовкопрядів (*Bombyx mori*) в контрольних умовах і при впливі низьких доз іонізуючого випромінювання на 50 день експерименту (за Shibamoto et al., 2017): _____

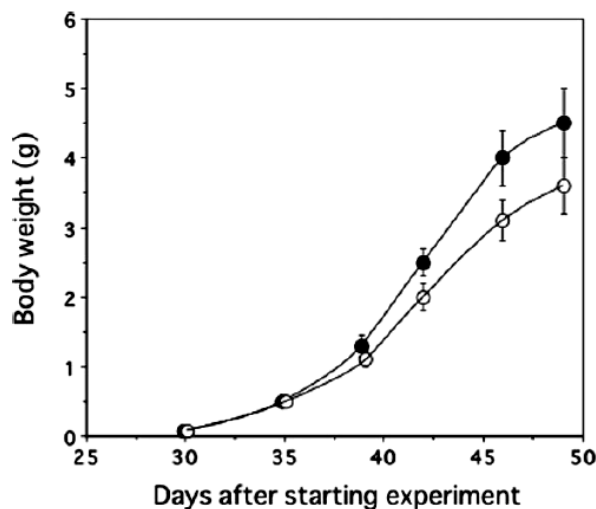


Рис. 9. Зміни маси тіла шовкопрядів (*Bombyx mori*) в контрольних умовах і при хронічному впливі низьких доз іонізуючого випромінювання. Де: \circ – контрольна не опромінена група; \bullet - група шовкопрядів, яку опромінювали; Body weight (g) - маса тіла, г; Days after starting experiment - дні після початку експерименту (за Shibamoto et al., 2017).

2) Поясніть, чому розвиток шовкопрядів в умовах дії малих доз іонізуючого випромінювання сприяє їх росту? _____

3) Як називається виявлений феномен? _____

Завдання 6. Формування лишайнико-подібних симбіозів в умовах дії іонізуючого випромінювання.

Gostincar С. з колегами (2012) було показано, що радіація та інші стресові фактори навколишнього середовища сприяють участі грибів в утворенні симбіозів з водоростями і бактеріями (ліхенізація) (Gostincar et al., 2012).

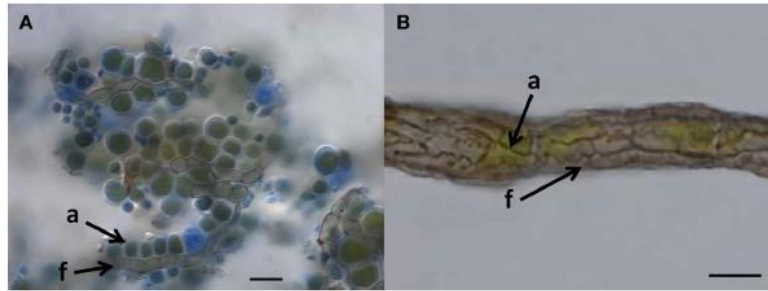


Рис. 10. А. Лишайнико-подібний симбіоз грибів *Cladosporium* з наземними водоростями. 1 бар = 20 мкм. В. Лишайник *Cystocoleus ebeneus*. 1 бар 10 мкм. Стрілкою (f) вказані гіфи гриба, стрілкою (a) вказані водоростеві симбіонти (Gostincar et al., 2012).

Як правило, організми вступають в симбіоз в тому випадку, якщо існування організмів окремо один від одного стає проблематичним. Наприклад, вдалося відновити «розібраний» на гриб і водорість лишайник тільки в умовах голодування гриба по готовим органічним поживним речовинам і сильного зневоднення водоростевого симбіонту.

Дайте відповіді на наступні питання:

- 1) Що таке лишайник? _____
- 2) Яку користь отримують гриб і водорість від формування лишайникового симбіозу? _____
- 3) Чому в стресових умовах середовища збільшується ймовірність формування симбіозу між грибами і водоростями? _____

Завдання 7. Іонізуюче випромінювання призводить до появи поломок в ДНК.

Дія іонізуючого випромінювання на клітини призводить до появи розривів в молекулах ДНК. Це можна побачити на цитологічних препаратах хромосом, а також - в результаті проведення т.зв. кометного тесту: клітини наносять на предметне скло, покрите спеціальною речовиною, видаляють клітинну і ядерну мембрани і до скла під'єднують електроди. Якщо ДНК клітин пошкоджена, то в електричному полі негативно заряджені фрагменти ДНК починають рухатися до «+» електроду. Чим сильніше пошкоджена ДНК організму - тим більше «хвіст» з фрагментів ДНК.



Рис. 11. Пошкодження хромосом, викликані дією іонізуючого випромінювання (за <https://www.google.com.ua/search?q>).

Отримані параметри «хвоста» з фрагментів ДНК описуються різними показниками, серед яких – довжина хвоста, % ДНК в хвості, «момент хвоста». Якщо клітинам дати час на

лагодження ДНК - то проведення кометного тесту може підтвердити ліквідацію розривів в молекулах ДНК.

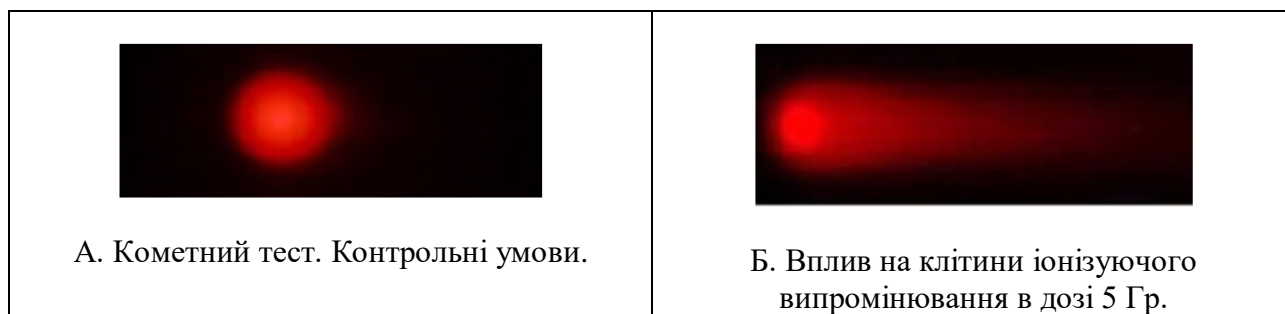


Рис. 12. Результати проведення кометного тесту на лімфоцитах мишей через 72 годин після впливу гамма-випромінювання. Де: А - неопромінений контроль; Б - опромінення в дозі 5 Гр (за Wang et al., 2013).

Ртасек О. з колегами (2001) опромінювали проростки тютюну (*Nicotiana tabacum*) гамма-променями і потім за допомогою кометного тесту оцінювали рівень пошкодження ДНК відразу після опромінення і через 24-години після впливу гамма-променями. Результати дослідження наведені на рисунку 13 (Ptacek et al., 2001).

1) Використовуючи дані рисунка 13, вкажіть, як змінився показник моменту хвоста у опромінених клітин в порівнянні з неопроміненими: _____

*NB! Момент хвоста - це показник, який обчислюється як результат множення довжини хвоста на % вмісту ДНК в хвості.

2) Яка залежність існує між величиною моменту хвоста і отриманою дозою іонізуючого випромінювання: _____

3) Як змінилися значення показника «моменту хвоста» через 24-години після опромінення? _____

4) Про що свідчить той факт, що через 24-години - значення моменту хвоста повернулися до контрольного рівня? _____

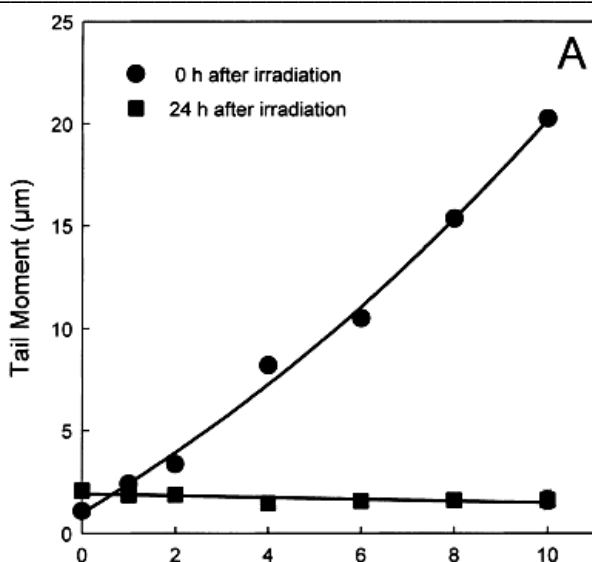


Рис. 13. Вплив дози іонізуючого випромінювання та відновного періоду на величину хвостового моменту в кометному тесті. Де: ● - дані по хвостовому моменту безпосередньо після впливу іонізуючого випромінювання; ■ - дані по хвостовому моменту для відповідних доз через 24-години після опромінення; по осі ОХ - величина отриманої дози гамма-випромінювання, Гр; по осі ОУ - величина хвостового моменту, мкм (Tail Moment, mkm) (Ptacek et al., 2001).

5) Крім проведення кометного тесту, у опромінених проростків після періоду росту - оцінювали кількість соматичних мутацій як рівень зміни забарвлення на 6-му і 7-му листі проростків. Результати даних досліджень наведені на рисунку 14. Яка існує залежність між рівнем соматичного мутагенезу і отриманою проростками дозою опромінення?

6) Таким чином, вже через добу після впливу іонізуючого випромінювання - кометний тест показав контрольні значення хвостового моменту (що свідчить про лагодження розривів ДНК). Як Ви можете пояснити той факт, що при цьому тест на соматичний мутагенез виявив високий рівень мутагенезу?

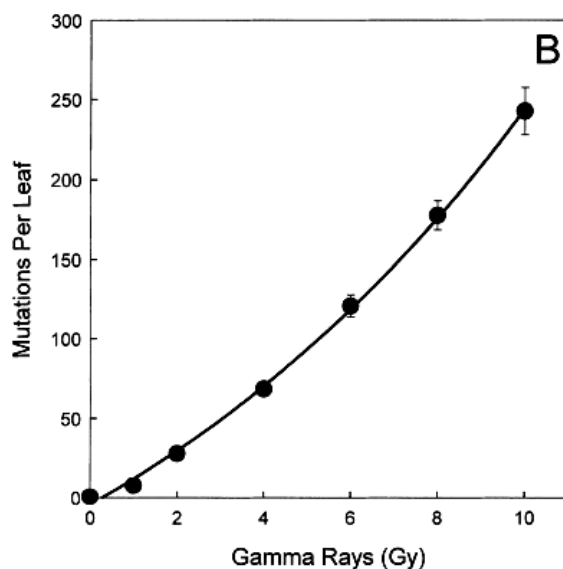


Рис. 14. Вплив отриманої дози іонізуючого гамма-опромінення на кількість соматичних мутацій в листі піддослідних рослин. Де: по осі ОХ - доза іонізуючого випромінювання, Гр (Gamma Rays, Gy); по осі ОУ - кількість соматичних мутацій на лист, (Mutations Per Leaf) (Ptacek et al., 2001).

Завдання 8. Відсутність формування у організмів стійкості до хронічного впливу підвищених доз іонізуючого випромінювання.

Дослідження, проведені різними групами вчених, показали, що у організмів, які мешкають в умовах тривалого впливу підвищених доз іонізуючого випромінювання, має місце підвищений рівень появи мутацій, в порівнянні з групами, що мешкають на територіях зі звичайним природним фоном іонізуючого випромінювання. Отримані дані свідчать про те, що у організмів різних груп не формується стійкість до підвищених доз іонізуючого випромінювання.

На рисунку 15 наведено результати аналізу кількості аберантних клітин в корневих меристемах проростків шотландської сосни з насіння, відібраного в Брянській області, Росія, на територіях з різним рівнем радіоактивного забруднення після Чорнобильської аварії (Geras'kin et al., 2013).

1) Використовуючи дані, наведені на рисунку 15, вкажіть відсоток аберантних клітин в корневих меристемах проростків сосни в контрольних умовах (для рослин, що мешкають на не забруднених радіонуклідами територіях) _____ і для рослин, які ростуть в зоні, рівень забруднення якої радіонуклідами становить 15 мкГр/год _____ . Поясніть причину виявлених відмінностей: _____

2) Порівняйте відсоток аберантних клітин при дозі опромінення 1 мкГр/год і 3 мкГр/год:

Як Ви думаєте, чому виявлений феномен отримав назву «парадокс малих доз іонізуючого випромінювання»? _____

3) Порівняйте відсоток аберантних клітин при хронічному опроміненні рослин в дозі 3 мкГр/год. Чи відбулося статистично достовірне зниження рівня аберацій в клітинах в інтервалі 2003 - 2009 рр? _____

Про що свідчить виявлений феномен? _____

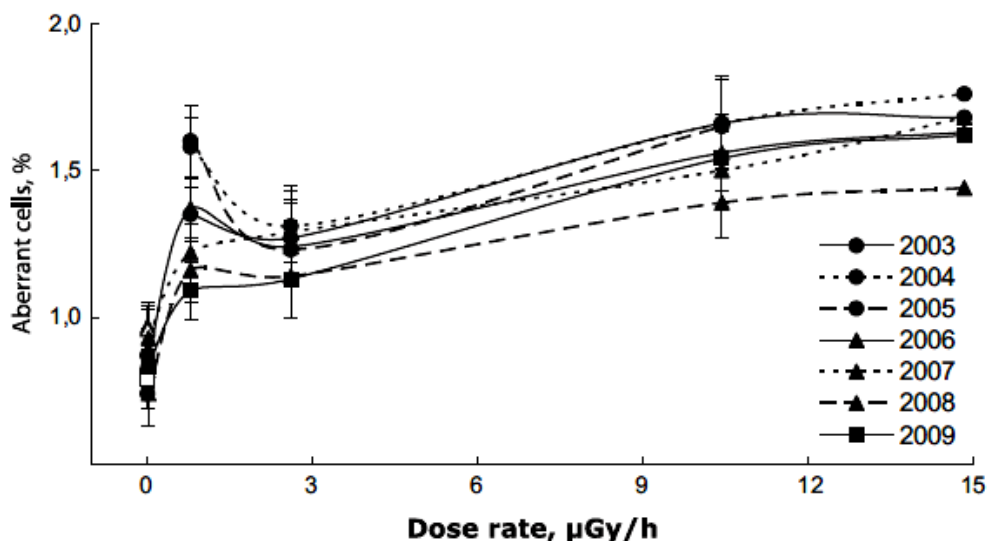


Рис. 15. Кількість аберантних клітин в корневих меристемах проростків сосни шотландської з насіння, зібраного на територіях Брянської області, Росія, з різним рівнем забруднення радіонуклідами після Чорнобильської аварії. Де: по осі ОУ - відсоток аберантних клітин, % (Aberrant cells, %); по осі ОХ - доза іонізуючого випромінювання, мкГр/год (Dose rate, $\mu\text{Gy/h}$). Різними лініями вказані дані за 2003-2009 рр (Geras'kin et al., 2013).

Завдання 9. Мутагенна дія іонізуючого випромінювання на репродуктивні клітини.

Відомо, що іонізуюче випромінювання викликає пошкодження в ДНК, які клітина намагається полагодити, використовуючи різні механізми репарації. Однак, не всі пошкодження розпізнаються системами лагодження ДНК, що призводить до появи мутацій.

Weinberg H.S. з колегами (2001) було виявлено несподівано високий рівень появи нових смуг ДНК у дітей, батьки яких приймали участь в ліквідації аварії на Чорнобильській АЕС (в сім разів вище, ніж у контролі – т.т. у дітей, батьки яких не були опромінені). Одержані дані свідчать про те, що низькі дози іонізуючого випромінювання спроможні індукувати множинні зміни в ДНК статевих клітин людини (Weinberg et al., 2001).

На рисунку 16 наведено результат аналізу ДНК дітей ліквідаторів аварії на Чорнобильській АЕС. Отримані дані свідчать про те, що у нащадків людей, які отримали підвищену дозу іонізуючого випромінювання, рівень мутагенезу перевищує рівень мутагенезу у решти населення. Поясніть виявлений феномен: _____

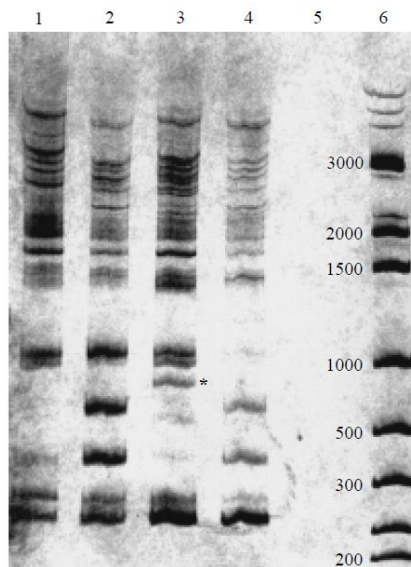


Рис. 16. Аналіз ДНК, виділеної з клітин дітей ліквідаторів Чорнобильської аварії, виявив появу нових не характерних для батьківської ДНК смуг (на рисунку вказано зірочкою), що свідчить про високий рівень мутагенезу в ДНК статевих клітин батьків. Де: лінія 1 - ДНК матері; лінія 2 - ДНК батька, ліквідатора аварії на Чорнобильській АЕС; лінія 3 - ДНК дитини, народженої після Чорнобильської аварії; лінія 4 - ДНК дитини, народженої до Чорнобильської аварії (Weinberg et al., 2001).

Завдання 10. Території з високим природним рівнем іонізуючого випромінювання характеризуються високим рівнем мутагенезу в ДНК організмів.

На Землі виявлено кілька регіонів з дуже високим рівнем природної радіоактивності (див. рис. 17), пов'язаної з близьким заляганням радіоактивних порід.

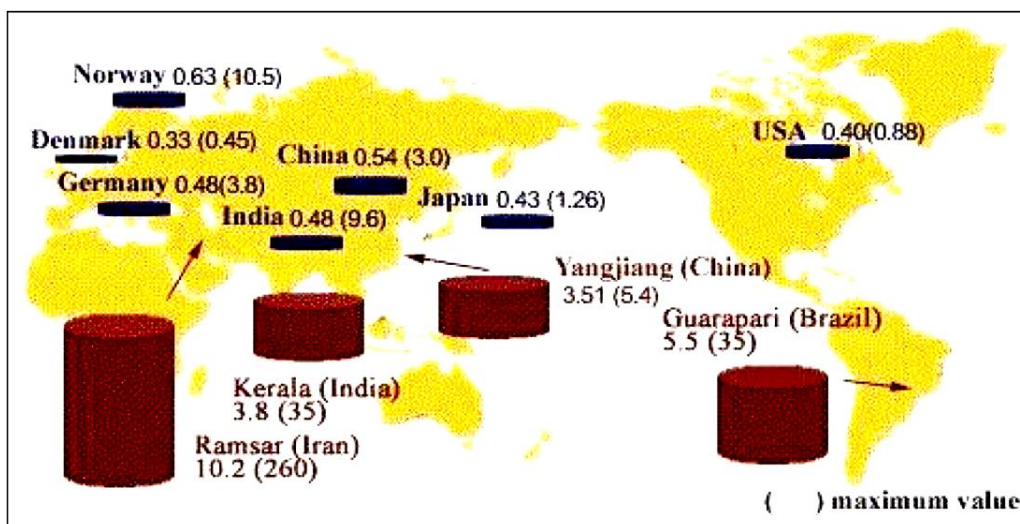


Рис. 17. На карті вказані регіони з найбільш високим рівнем природної радіоактивності. Цифра біля назви місцевості вказує рівень радіації в мЗв/рік. Поруч в дужках вказані максимальні значення рівня природного радіоактивного фону на даній території. Провінція Рамсар на півночі Ірану має регіони, для яких зареєстровані найвищі в світі значення радіоактивного фону (за Vazifehmand et al., 2015).

Мутагенність умов навколишнього середовища можна досліджувати, аналізуючи як ядерну ДНК, так і ДНК клітинних органел - мітохондрій і хлоропластів. Дослідження, проведені Forster L. з колегами (2002), показали, що у місцевого населення, яке проживає на півострові Керала (Індія), високий рівень мутагенезу по мітохондріальній ДНК в порівнянні з населенням, яке проживає в регіонах з меншим рівнем природної радіоактивності.

Так, якщо у контрольній групі було виявлено в мітохондріальній ДНК 68 ділянок нуклеотидних замін, то у населення, що проживає на півострові Керала - 180 ділянок нуклеотидних замін. Крім того, автори роботи виявили у місцевого населення більш високий рівень мутацій у нащадків в порівнянні з вихідною материнською лінією (Forster et al., 2002). Отримані авторами роботи дані свідчать про те, що іонізуюче випромінювання прискорює еволюційний механізм появи мутацій в ДНК.

Аналогічні дані були отримані Vazifehmand R. з колегами (2015), які показали, що в провінції Рамсар, Іран, високий рівень природної радіоактивності території супроводжується у місцевого населення високим рівнем мутагенезу по мітохондріальній ДНК (за Vazifehmand et al., 2015).

Таблиця 3. Порівняння рівня мутагенезу по мітохондріальній ДНК для місцевого населення, яке проживає на півострові Керала, Індія, і в провінції Рамсар, Іран. Червоним кольором вказані 26 виявлених нових ділянок заміни нуклеотидів (за Vazifehmand et al., 2015)

<i>Results in the study of Kerala</i>	<i>Results in the study of Ramsar</i>
152, 16189, 16362, 195, 146, 16129, 16311, 16093, 150, 200, 16304, 228, 16274, 16278, 16126, 189, 194, 53, 151, 199, 204, 16179, 16234, 16256, 16266, 16357, 16390, 16223, 207, 72, 73, 143, 153, 185, 188, 198, 225, 234, 239, 246, 237, 263, 16134, 16163, 16218, 16239, 16249, 16255, 16289, 16292, 16294, 16318, 16319, 16325, 16356, 214, 291, 16291, 16320, 55, 56, 65, 66, 95, 114, 240, 249, 250, 257, 285, 295, 16095, 16104, 16111, 16162, 16166, 16172, 16174, 16176, 16181, 16183, 16186, 16187, 16188, 16192, 16207, 16209, 16213, 16221, 16224, 16227, 16233, 16245, 16248, 16261, 16263, 16265, 16270, 16280, 16286, 16288, 16290, 16295, 16296, 16298, 16302, 16316, 16324, 16327, 16335, 16336, 16344, 16346, 16348, 16352, 16353, 16354, 16366, 144, 215	16126, 16145, 16261, 16344, 16362, 16519, 73, 362, 16126, 16362, 16519, 60, 64, 93, 263, 16126, 16145, 16261, 16344, 16362, 16519, 73, 16066, 16129, 16183, 362, 73, 16093, 16519, 16183, 16519, 16344, 264, 16092, 16159, 16170, 16183, 16343, 260, 16069, 16126, 16145, 16172, 16189, 16205, 247, 73, 16145, 16176, 16222, 16290, 16390, 152, 185, 16256, 16311, 16519, 262, 16069, 16145, 16222, 16261, 16247, 16297, 73, 295, 16069, 16126, 16145, 16261, 16247, 16198, 185, 362, 16093, 16145, 16159, 16170, 16183, 16519, 185, 151, 16093, 16159, 16169, 16182, 186, 16093, 16092, 16126, 16519, 73, 362, 60, 16093, 16559, 16170, 16183, 61, 360, 16214, 16219, 16335, 16519, 72, 73, 152, 195, 247, 16214, 16217, 16335, 16519, 72, 73, 152, 185, 247, 16214, 16217, 16519, 72, 152, 185, 209, 247, 16129, 16145, 16176, 16223, 16261, 152, 60, 64, 360, 16069, 16145, 16176, 324, 246, 196, 16093, 16183, 16159, 61, 67, 16169, 16217, 16126, 60, 93, 295, 16093, 16183, 16214, 16223, 64, 360, 16069, 16126, 16145, 16173, 185, 217, 302, 16297, 16093, 16158, 16159, 16184, 185, 188, 16126, 16361, 16519, 93, 263, 64, 16172, 16145, 16126, 16205, 324, 362, 16052, 16092, 16080, 16126, 263, 295, 16390, 16519, 16222, 73, 152, 185, 188, 16256, 16311, 16297, 16217, 16335, 16362, 195, 247

Результати досліджень Vazifehmand R. з колегами (2015) наведені в таблиці 3. Використовуючи дані цієї таблиці і карту природних радіоактивних територій (рис. 17), дайте відповіді на наступні питання:

- 1) Для населення яких територій - Керала або Рамсар - був виявлений більш високий рівень природного мутагенезу в мітохондріальній ДНК? _____.
- 2) Поясніть причину виявлених відмінностей: _____.

Контрольні питання:

1. Поняття «іонізуюче випромінювання».
2. Природні і техногенні джерела іонізуючого випромінювання.
3. Вплив природних і підвищених доз іонізуючого випромінювання на живі організми.
4. Поняття «радіаційний гормезис». Потенційна небезпека гормезисних доз іонізуючого випромінювання.
5. Механізми шкідливого впливу середніх і високих доз іонізуючого випромінювання.

6. Механізми самозахисту організмів від іонізуючого випромінювання.
7. Наслідки неадаптації організмів до дії іонізуючого випромінювання.

Література:

- Bryan R., Jiang Z., Friedman M., Dadachova E. The effects of gamma radiation, UV and visible light on ATP levels in yeast cells depend on cellular melanization // *Fungal Biol.* – 2011. – Vol. 115(10). – P. 945 - 949. doi: 10.1016/j.funbio.2011.04.003.
- Castelvecchi D.* Dark Power: Pigment seems to put radiation to good use // *Science News.* – 2007. – Vol. 171 (21):325.
- Dadachova E., Bryan R.A., Huang X., Moadel T., Schweitzer A.D., Aisen P., Nosanchuk J.D., Casadevall A. Ionizing radiation changes the electronic properties of melanin and enhances the growth of melanized fungi // *PLoS One.* – 2007. – Vol. 2(5):e457.
- Dadachova E., Casadevall A. Ionizing radiation: how fungi cope, adapt, and exploit with the help of melanin // *Curr Opin Microbiol.* – 2008. – Vol. 11(6). – P. 525 - 531. doi: 10.1016/j.mib.2008.09.013.
- Forster L., Forster P., Lutz-Bonengel S., Willkomm H., Brinkmann B. Natural radioactivity and human mitochondrial DNA mutations // *PNAS.* - 2002. - Vol. 99, no. 21. – P. 13950 – 13954.
- Geras'kin S., Evseeva T., Oudalova A. Effects of long-term chronic exposure to radionuclides in plant populations // *J. Environ. Radioact.* – 2013. – Vol. 121. – P. 22 - 32. doi: 10.1016/j.jenvrad.2012.03.007.
- Gostincar C., Muggia L., Grube M. Polyextremotolerant black fungi: oligotrophism, adaptive potential, and a link to lichen symbioses // *Front Microbiol.* – 2012. – Vol. 3:390. doi: 10.3389/fmicb.2012.00390.
- Ptacek O., Stavreva D.A., Kim J.K., Gichner T. Induction and repair of DNA damage as measured by the Comet assay and the yield of somatic mutations in gamma-irradiated tobacco seedlings // *Mutat. Res.* – 2001. – Vol. 491(1-2). – P. 17 - 23.
- Robertson K.L., Mostaghim A., Cuomo C.A., Soto C.M., Lebedev N., Bailey R.F., Wang Z. Adaptation of the black yeast *Wangiella dermatitidis* to ionizing radiation: molecular and cellular mechanisms // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7(11):e48674. doi: 10.1371/journal.pone.0048674.
- Shibamoto Y., Kamei Y., Kamei K., Tsuchiya T., Aoyama N. Continuous Low-Dose-Rate Irradiation Promotes Growth of Silkworms // *Dose Response.* – 2017. – Vol. 15(4):1559325817735252. doi: 10.1177/1559325817735252.
- Turick C.E., Ekechukwu A.A., Milliken C.E., Casadevall A., Dadachova E. Gamma radiation interacts with melanin to alter its oxidation-reduction potential and results in electric current production // *Bioelectrochemistry.* – 2011. – Vol. 82(1). – P. 69 - 73. doi: 10.1016/j.bioelechem.2011.04.009.
- Vazifehmand R., Saber S., Takavr A., Saeed Ali D., Saber T., Takavr F. Effect of high background natural radioactivity on human mitochondrial DNA in Ramsar, the north of Iran // *International Journal of Low Radiation.* - 2015. – Vol. 10(2). - P. 169 - 179.
- Wang Y., Xu C., Du L.Q., Cao J., Liu J.X., Su X., Zhao H., Fan F.Y., Wang B., Katsube T., Fan S.J., Liu Q. Evaluation of the comet assay for assessing the dose-response relationship of DNA damage induced by ionizing radiation // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 14(11). – P. 22449 - 22461. doi: 10.3390/ijms141122449.
- Weinberg H.S., Korol A.B., Kirzhner V.M., Avivi A., Fahima T., Nevo E., Shapiro S., Rennert G., Piatak O., Stepanova E.I., Skvarskaja E. Very high mutation rate in offspring of Chernobyl accident liquidators // *Proc Biol Sci.* – 2001. – Vol. 268(1471). – P. 1001 - 1005.

Тема 9. Ультрафіолетове випромінювання і живі організми

9.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Еволюція бачення в УФ-променях у ссавців і птахів. Відмінності в типах і спектральних характеристиках зорових пігментів є загальним механізмом адаптації зорової системи хребетних тварин до домінуючих світлових умов навколишнього середовища. У хребетних тварин зорове сприйняття відбитих світлових хвиль здійснюють два типи рецепторів - колбочки (відповідають за сприйняття кольору) і палички (високочутливі рецептори сутінкового зору).

В ході досліджень, проведених різними вченими, було встановлено, що у ссавців нічний спосіб життя в епоху ранньої еволюції даної групи тварин призвів до редукції класів генів колбочкових зорових пігментів від чотирьох до двох із вторинною втратою одного з цих генів у багатьох нічних і морських видів тварин. Трихромазія, яка спостерігається у багатьох приматів (здатність розрізняти три типи кольорів за рахунок трьох типів колбочок - червоних, зелених і синіх), виникла в результаті або поліморфізму, або дуплікацій одного з цих генів. Навпаки, птахи зберегли всі чотири предкові гени колбочкових зорових пігментів.

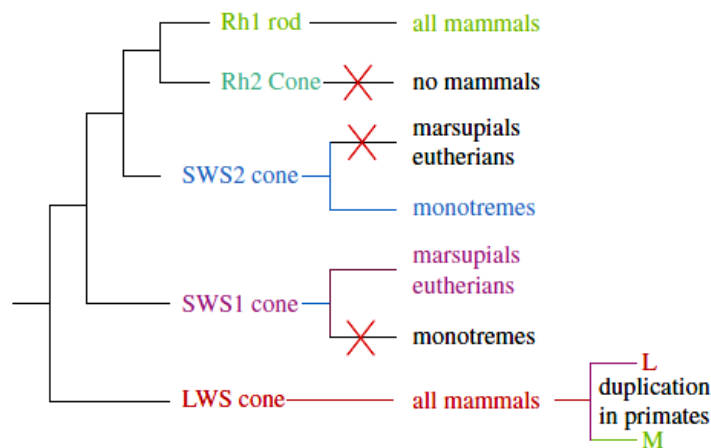


Рис. 1. Збереження і втрата генів паличок і колбочок у ссавців. Показано походження L і M варіантів гена LWS у приматів Старого Світу і одного виду приматів Нового Світу шляхом дуплікації генів. Де: rod - палички; cone - колбочки; all mammals - усі ссавці; monotremes - однопрохідні (яйцекладучі) ссавці; marsupials - сумчасті ссавці; eutherians - плацентарні ссавці; duplication in primates - дуплікація гена у приматів (Hunt et al., 2009).

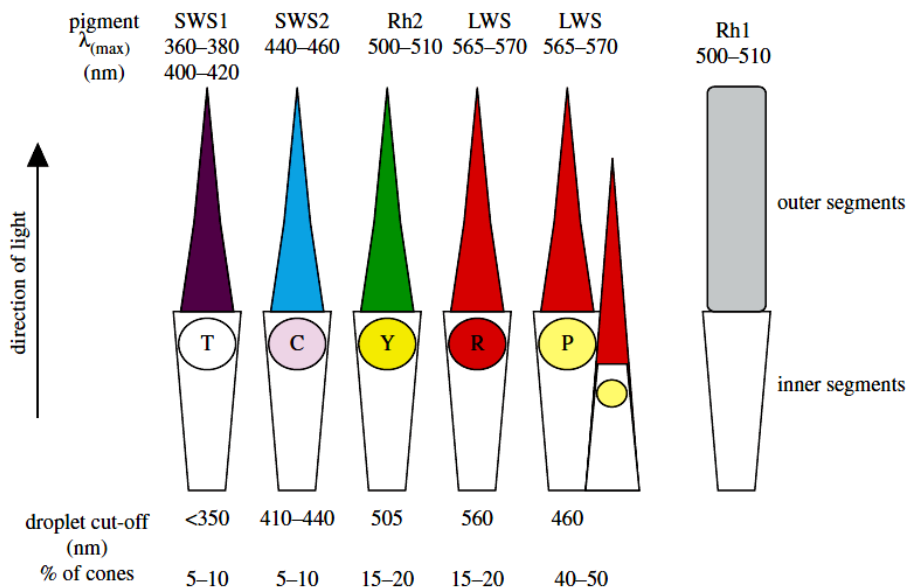


Рис. 2. Колбочкові і паличкові фоторецептори в сітківці ока горобиних птахів. Залежно від виду птахів пігменти SWS1 мають максимальне сприйняття λ_{max} або в ультрафіолетовій

(360-380 нм), або у фіолетовій (400-420 нм) областях спектра. Де: Rh1 - паличкові рецептори; LWS, Rh2, SWS1, SWS2 - колбочкові рецептори (Hunt et al., 2009).

Втрата чутливості до ультрафіолетового (УФ) випромінювання є характерною особливістю еволюції зорової системи як ссавців, так і птахів, при цьому чутливість до ультрафіолетового випромінювання збереглася тільки у ссавців підгруп гризунів і сумчастих. Деякі птахи нещодавно знову набули здатність бачити в ультрафіолетових променях - але вже на іншій молекулярній основі (Hunt et al., 2009).

*NB! У стародавніх ссавців в пігменті SWS1, який сприймав ультрафіолетові промені, відбулася заміна амінокислоти фенілаланіну в положенні 86 на тирозин. Це призвело до втрати у них здатності сприймати ультрафіолетові промені і до появи здатності бачити фіолетові промені спектру.

*NB! В SWS1 зоровому пігменті птахів заміна амінокислоти серин на цистеїн в положенні 90 дозволяє птахам розрізняти ультрафіолетові промені. Філогенетичний аналіз показав, що така заміна незалежно відбулася в чотирьох лініях птахів вже після втрати ними древньої здатності бачити в УФ променях. Крім того, заміна в SWS1 пігменті амінокислоти серину на фенілаланін в положенні 86 теж дає бачення в ультрафіолетових променях. Вважають, що це - реверсія древньої мутації, загубленої предками птахів.

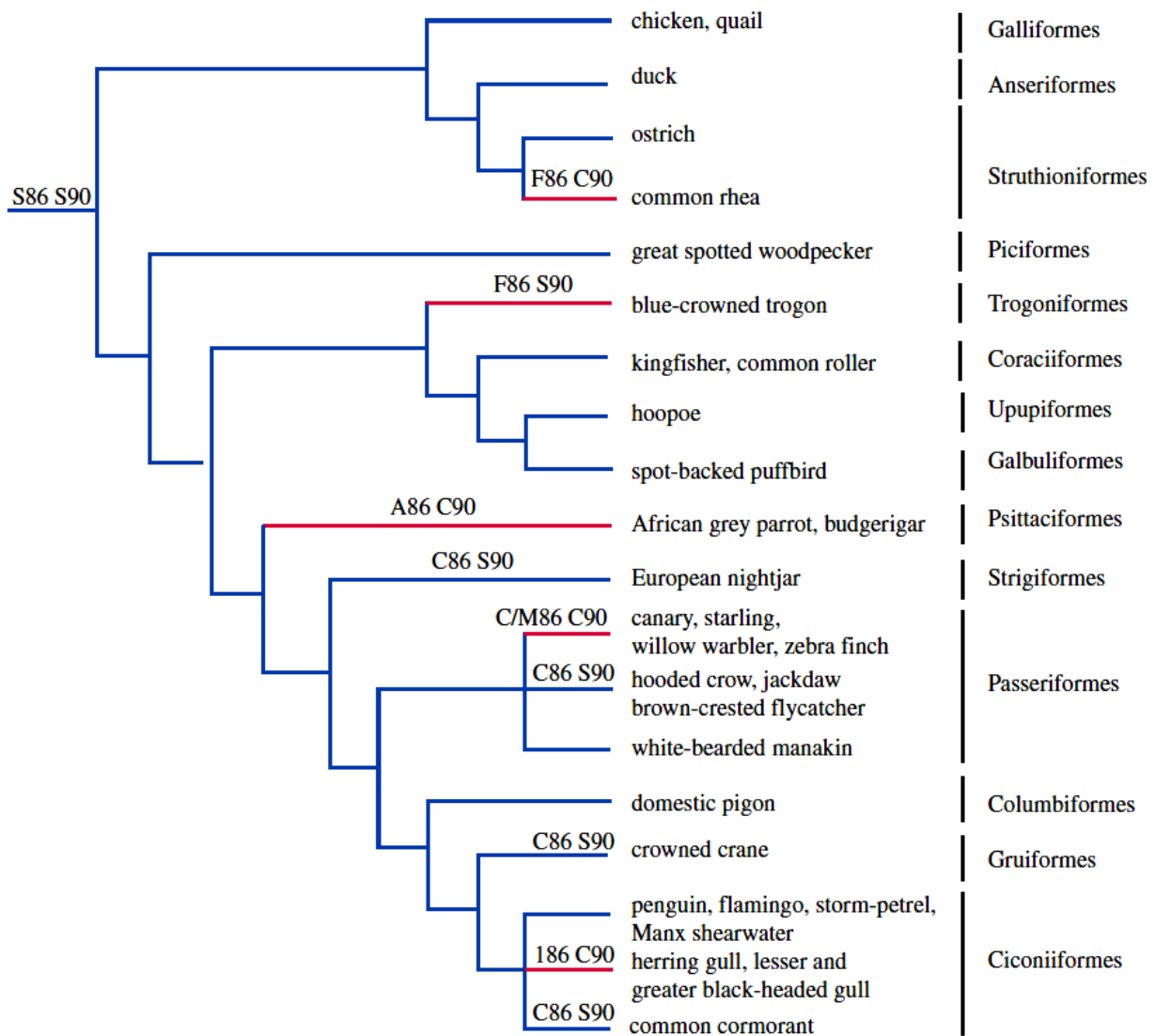


Рис. 3. Філогенетичні взаємини, які показують присутність у різних груп птахів різних SWS1 пігментів: пігментів VS, які розрізняють фіолетові промені, і пігментів UVS, що розрізняють ультрафіолетові промені. На схемі: сині лінії - це лінії птахів з пігментами VS, що розрізняють фіолетові промені; фіолетові лінії - це лінії птахів, з пігментами UVS, які розрізняють ультрафіолетові промені. Пігмент VS древніх птахів, швидше за все, містив

амінокислоту серин в положеннях 86 і 90 (тобто, був Ser86 і Ser90). Заміни в цих ділянках амінокислотної послідовності пігменту SWS1 показані у відповідних гілках птахів. Ці амінокислотні заміни призвели до повторної появи здатності птахів бачити в ультрафіолетових променях (Hunt et al., 2009).

Мімікрія у метеликів і роль ультрафіолетового випромінювання в розпізнаванні особин свого виду. Мімікрія в забарвленні крил формується у метеликів для самозахисту від хижаків. При цьому, якщо метелики виявляються нездатними розрізнити мімікрію в забарвленні крил - то це несе ризик плутанини для самих метеликів. Було встановлено, що в клітинах очей метеликів триби геліконід (*Heliconiini*) експресуються нещодавно дупліковані гени опсинів, які сприймають ультрафіолетові промені.

Bybee S.M. з колегами (2012) досліджували пігментацію крил метеликів триби *Heliconiini* і особливості сприйняття кольору цього забарвлення птахами і метеликами. В результаті проведених досліджень було встановлено, що в крилах метеликів *Heliconius* знаходиться жовтий пігмент 3-гідрокси-DL-кінуренін (3-ОНК), який відбиває як ультрафіолетові, так і довгохвильові світлові промені, в той час як метелики споріднених родів мають жовті пігменти хімічно невстановленої природи, які в більшості своїй не відбивають УФ-промені. Було показано, що два УФ-фоторецептори *Heliconius* дозволяють відокремлювати спектри 3-ОНК пігменту від спектрів НЕ-3-ОНК пігментів в порівнянні з фоторецепторами споріднених груп метеликів або птахів.

Однчасна поява потенційно поліпшеного бачення в УФ-діапазоні і УФ-відбиваючого жовтого пігменту крил дозволила забезпечити міжвидове спілкування *Heliconius* в присутності мімікуючих видів метеликів. Отримані Bybee S.M. з колегами (2012) дані є доказом одночасної еволюції кольорового сигналу і кольорового зору і дозволяють припустити, що зорові системи хижаків можуть допускати помилки в контексті мімікрії (Bybee et al., 2012).

Таким чином, в результаті проведених досліджень було встановлено, що метелики *Heliconius* спроможні в УФ променях відрізнити особин свого виду від особин виду, під який вони маскуються, на відміну від птахів, які на них полюють.

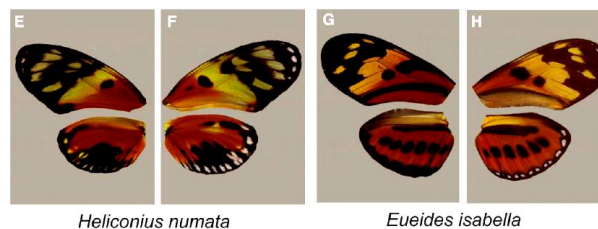


Рис. 4. Забарвлення крил метеликів, які належать до одного кільця мімікрії, для видів *Heliconius numata* і *Eueides Isabella*. Де: E, G - вид крил зверху; F, H - вид крил знизу (Bybee et al., 2012).

У глибоководних коралів є механізм конверсії (перетворення) ближніх ультрафіолетових променів в червоно-помаранчеві промені, необхідні їх водоростевим симбіонтам для фотосинтезу. У глибоководних коралів були виявлені особливі флюоресцентні білки (pcRFP), які спроможні перетворювати ближні ультрафіолетові промені в червоно-помаранчеві промені, необхідні їх водоростевим симбіонтам для фотосинтезу. Саме цей механізм дозволяє коралам жити на глибинах, які є межею для виживання аквальних фотобіонтів.

У клітинах коралових поліпів концентрація флюоресцентних білків досягає 7% від концентрації всіх розчинних білків в клітині. Відомо, що флюоресцентні білки здатні поглинати випромінювання з більш короткою довжиною хвилі і перевипромінювати його у вигляді променів з більшою довжиною хвилі. Якщо коралові поліпи живуть на невеликій глибині, то флюоресцентні білки захищають їх від надлишку ультрафіолетових і блакитних променів. Але якщо це глибоководні корали, то флюоресцентні білки здатні забезпечити

адаптацію глибоководних коралових поліпів до умов нестачі освітленості. Яким є механізм цієї адаптації?

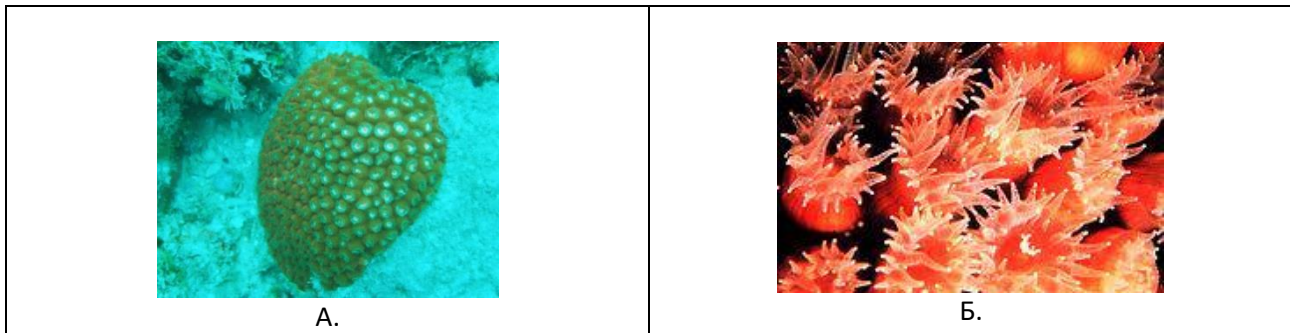


Рис. 5. Коралові поліпи *Montastraea cavernosa*, які мешкають на значних глибинах. А. Загальний вигляд колонії. Б. Вигляд окремих коралових поліпів (за <https://en.wikipedia.org/wiki/Montastraea>).

Виявилося, що деякі флюоресцентні білки здатні до т.зв. фотоконверсії: при зміні довжини хвилі падаючого світла - клітини змінюють структуру своїх флюоресцентних білків таким чином, що вони починають випромінювати світло з іншою довжиною хвилі. Саме такі флюоресцентні білки, здатні до фотоконверсії, були знайдені у глибоководних груп коралових поліпів. Ці білки забезпечують адаптацію глибоководних організмів до умов низької освітленості.

На великих глибинах, де абсолютно темно, - фотоплівка засвічується за рахунок ультрафіолетових променів, які, завдяки значному запасу енергії, здатні проникати на великі глибини в океані. У глибоководних організмів флюоресцентні білки, які в нормі поглинають блакитне світло і випромінюють зелене світло, під впливом ультрафіолетових променів змінюють свою структуру (в результаті пост-трансляційних модифікацій білка-попередника) і починають випромінювати червоні промені.

Bollati E. з колегами (2017) протягом 120 днів опромінювали коралові поліпи *Montastraea cavernosa* променями різної довжини хвилі. Корали, які опромінювалися блакитним світлом з довжиною хвилі 476 нм, показали переважно зелену флюоресценцію, тоді як корали, що опромінювалися хвилями довжиною 412 нм (ближній ультрафіолет), показали випромінювання в червоно-помаранчевій області спектра.

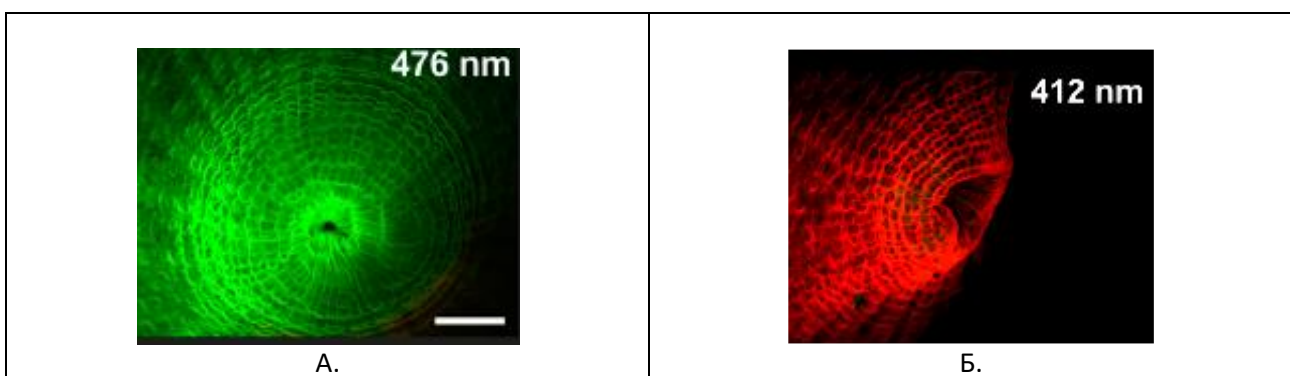


Рис. 6. Коралові поліпи *Montastraea cavernosa* при опроміненні блакитним світлом, довжиною хвилі 476 нм, випромінюють зелені промені (див. рис. А). Однак, на великих глибинах, де в спектрі починають переважати блакитні і ультрафіолетові промені - ці корали поглинають ультрафіолетові промені (довжиною хвилі 412 нм) і випромінюють оранжево-червоні промені, які їх водоростеві фотосимбіонти використовують для фотосинтезу (Bollati et al., 2017).

Bollati E. з колегами (2017) було встановлено, що досить експозиції впродовж 2 годин при рівні ультрафіолетового випромінювання, еквівалентного випромінюванню на глибині

80 м, для конверсії флюоресцентних білків з випромінювачів зеленого світла в випромінювачі червоного світла. Цікаво відзначити, що після фотоконверсії, індукованої ультрафіолетовим світлом, флюоресцентні білки продовжують вибірково поглинати блакитні промені, однак при цьому вони випромінюють не зелене, а помаранчево-червоне світло. Це дозволяє фотосинтезуючим симбіонтам коралових поліпів проводити фотосинтез на великих глибинах, оскільки помаранчево-червоний спектр для них є базовим для індукції фотосинтетичних реакцій (Bollati et al., 2017).

9.2. Практична робота

Завдання 1. Ефективність використання ультрафіолетових і видимих світлових променів для мімікрії їстівних видів під неїстівні види.

Багато видів тварин використовують ультрафіолетові промені для внутрішньовидового і міжвидового спілкування. Corcobado G. з колегами (2016) вивчали роль ультрафіолетового випромінювання в реалізації Бейтсовської мімікрії. Бейтсовська мімікрія - це захисна стратегія, при якій їстівний вид маскується під неїстівний або отруйний вид, для уникнення нападу хижаків. Ця стратегія незалежно багаторазово з'являлася серед різних таксонів організмів.

Серед павуків, Бейтсовська мімікрія була виявлена у більше ніж 400 видів, в основному в родині *Salticidae* і *Corinnidae*. У цих групах мімікрія павуків під мурах - є формою мімікрії, яка найбільш часто зустрічається. При цьому мімікрія павуків під мурах супроводжується морфологічними і поведінковими адаптаціями.



Рис. 1. Павук *Leptorchestes berolinensis* (https://wiki.arages.de/index.php?title=Datei:Leptorchestes_berolinensis).



Рис. 2. Мураха *Camponotus vagus* (за <https://www.google.com.ua/search?q=Camponotus+vagus>).

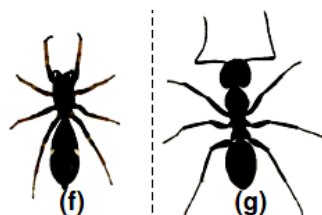


Рис. 3. Павук *Leptorchestes berolinensis* (рис. f), який маскується під мурах *Camponotus vagus* (рис. g) (Corcobado et al., 2016).

Corcobado G. з колегами (2016) вимірювали спектри відбиття електромагнітних хвиль в діапазоні 300 - 700 нм від поверхні тіла для деяких видів, які використовують мімікрію в якості захисної стратегії. І перевіряли, чи є відмінності в спектрах відбиття для видимих і ультрафіолетових променів, і чи спроможні різні види хижаків виявляти мімікрію (оптичний обман) своїх жертв, використовуючи зорову інформацію.

У природі на павуків, які маскуються під мурах, полюють інші павуки, хижі оси, птахи, ящірки. Багато з цих хижаків здатні сприймати ультрафіолетові промені. Однак, є

дані, що птахи в процесі еволюції втратили здатність сприймати ультрафіолетові промені. Тільки у деяких груп ця здатність з'явилася вдруге пізніше і на іншій молекулярній основі.

В результаті проведених досліджень, Corcobado G. з колегами (2016) було встановлено, що павуки, які імітують мурах, більш відрізняються від мурах в ультрафіолетових променях, в порівнянні з видимим світловим діапазоном. Було показано, що оси здатні розрізнити мурах і павуків, які маскуються під мурах, комбінуючи інформацію від ультрафіолетового та видимого світла, тоді як птахи - в більшості випадків, їх не розрізняють (Corcobado et al., 2016).

Результати досліджень, проведених Corcobado G. з колегами (2016), наведені на рисунках 3-5.

1) Використовуючи дані рисунка 4(с) вкажіть інтенсивність відбитих ультрафіолетових променів (довжина хвилі від 10 до 400 нм) від передньої частини тіла для павуків-маскувальників *Leptorchestes berolinensis* (червона крива) _____ і мурах-моделей *Camponotus vagus* (чорна крива) _____; використовуючи дані рисунка 4(d) - вкажіть аналогічні параметри для задньої частини тіла павуків-маскувальників _____ і мурах-моделей _____.

2) Чи є відмінності між інтенсивністю відбитого ультрафіолетового випромінювання між павуками-маскувальниками і мурахами-моделями в даній парі? _____.

3) Використовуючи дані рисунка 4(с) вкажіть інтенсивність відбитих видимих (для людського ока) світлових променів (довжина хвилі більше 400 нм) від передньої частини тіла для павуків-маскувальників *Leptorchestes berolinensis* (червона крива) _____ і для мурах-моделей *Camponotus vagus* (чорна крива) _____; використовуючи дані рисунка 4(d) - вкажіть аналогічні параметри для задньої частини тіла павуків-маскувальників _____ і мурах-моделей _____.

4) Чи є відмінності між інтенсивністю відбитого видимого світла між павуками-маскувальниками і мурахами-моделями в даній парі? _____.

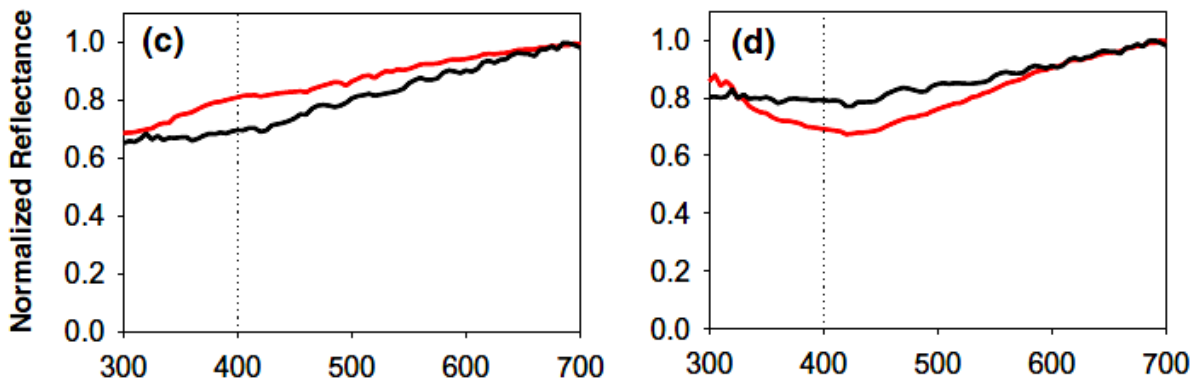


Рис. 4. Довжина хвилі променів, відбитих поверхнею тіла павуків *Leptorchestes berolinensis*, які маскуються під мурах (червона крива) і мурах-моделей *Camponotus vagus*, під яких вони маскуються (чорна крива). Де: по осі ОУ - нормалізовані дані для інтенсивності відбитого випромінювання, (Normalized Reflectance); по осі ОХ - довжина відбитої хвилі, нм; с - передня частина тіла тварини; d - задня частина тіла тварини (Corcobado et al., 2016).

Тварини бачать світ у відбитих світлових і ультрафіолетових променях (ссавці на ранніх етапах еволюції втратили здатність сприймати ультрафіолетові промені).

5) Поріг кольорового розділу - це рівень відмінностей між кольорами, який сприймається оком тварини як два різних кольори. Оскільки очі ос і птахів мають різну будову - величини кольорового контрасту наведено окремо для двох груп хижаків. Використовуючи дані рисунка 5, вкажіть величину порога кольорового розділу для ос _____ і для птахів _____.

6) Використовуючи дані рисунка 5(a), вкажіть рівні кольорових відмінностей для променів, відбитих від тіла павуків-маскувальників і мурах у відповідних парах, для зорового аналізатора ос (горизонтальні пунктирні лінії на графіках): _____.

Чи перевищують ці відмінності поріг кольорового розділу для ос? _____.
 Чи здатні оси побачити кольорові відмінності між павуками-маскувальниками і мурахами-моделями? _____.

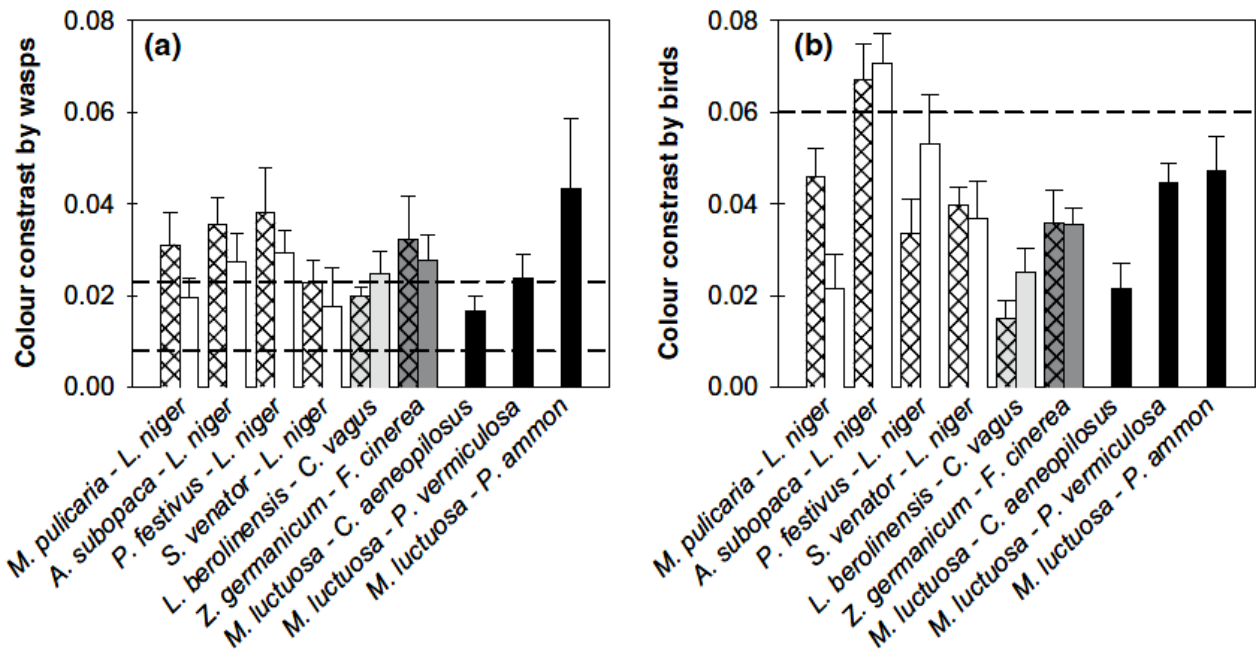


Рис. 5. Кольорові відмінності між відбитим світлом від тіла павука-маскувальника і мурахи-моделі у відповідних парах мімікрії для сприйняття зоровим аналізатором хижих ос (а) і птахів (б). *NB! На рисунках а і б враховані відмінності в будові зорового аналізатора ос і птахів. Різним кольором (білий, світло сірий, темно сірий, чорний) вказані основні групи павуків-маскувальників і мурах-моделей. Заштриховані стовпчики гістограм відповідають передній частині тіла тварин, а незаштриховані - задній частині тіла тварин. На рисунку (а) - пунктирними лініями вказані пороги кольорового розділу для ос (Перетинчастокрилі, *Hymenoptera*), за умов, якщо світлові сигнали йдуть окремо (0,023) або одночасно (0,008); на рисунку (б) - пунктирною лінією вказано поріг кольорового розділу для птахів (0,06) (цитовано за Corcobado et al., 2016).

7) Використовуючи дані рисунка 5(б), вкажіть рівні кольорових відмінностей для променів, відбитих від тіла павуків-маскувальників і мурах-моделей у відповідних парах, для зорового аналізатора птахів: _____

Чи перевищують ці відмінності поріг кольорового розділу для птахів? _____.

Чи здатні птахи побачити кольорові відмінності між павуками-маскувальниками і мурахами-моделями у відповідних парах? _____.

8) Для яких груп хижаків - ос або птахів - маскування павуків під мурах дозволяє жертві уникнути нападу хижака? _____

Поясніть свою відповідь _____.

Завдання 2. Пошкодження ДНК ультрафіолетовими променями.

Ультрафіолетові промені вибірково поглинаються молекулами ДНК. При цьому в молекулі ДНК між сусідніми азотистими основами формуються зшивки (т.зв. циклобутан-піримідинові димери), які перешкоджають правильному зчитуванню молекул ДНК.

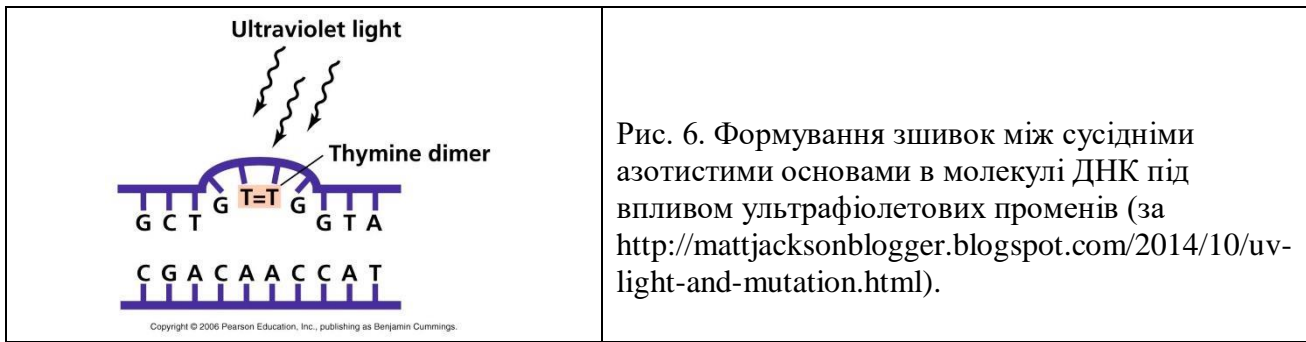


Рис. 6. Формування зшивок між сусідніми азотистими основами в молекулі ДНК під впливом ультрафіолетових променів (за <http://mattjacksonblogger.blogspot.com/2014/10/uv-light-and-mutation.html>).

Актинії *Actinia tenebrosa* і черевоногі молюски *Diloma aethiops* мешкають в припливній зоні недалеко від Нової Зеландії. Cubillos V.M. з колегами (2015) протягом року контролювали рівень природного УФ-В випромінювання на території дослідження і відбирали тварин для лабораторного встановлення в їх клітинах рівня пошкоджень ДНК (кількості т.зв. циклобутан-піримідинових димерів), індукованих природними дозами ультрафіолету УФ-В.



Рис. 7. Актинія *Actinia tenebrosa* (за https://en.wikipedia.org/wiki/Actinia_tenebrosa).



Рис. 8. Брюхоногий молюск *Diloma aethiops* (за https://en.wikipedia.org/wiki/Diloma_aethiops).

Результати проведених Cubillos V.M. з колегами (2015) досліджень наведені на рисунку 9.

- 1) Які типи ультрафіолетових променів досягають поверхні Землі? _____.
 - 2) В чому полягає небезпека впливу надлишкового рівня ультрафіолетового випромінювання на живі організми? _____.
 - 3) Використовуючи дані, наведені на рисунку 9, вкажіть рівень пошкоджень ДНК (т.зв. циклобутан-піримідинових димерів) в клітинах сидячої тварини морської актинії *Actinia tenebrosa* при природному рівні УФ-В променів $5 \cdot 10^6$ кДж/м² _____ і при рівні $20 \cdot 10^6$ кДж/м² _____.
- Яка існує залежність між дозою УФ-В опромінення і рівнем циклобутан-піримідинових пошкоджень в ДНК? _____.
- Поясніть, у чому полягає механізм шкідливого впливу УФ-В променів на ДНК клітин _____.
- 4) Вкажіть рівень пошкоджень ДНК (т.зв. циклобутан-піримідинових димерів) в клітинах рухливих тварин черевоногих молюсків *Diloma aethiops*, які мешкають в тій же акваторії, при природному рівні УФ-В променів $5 \cdot 10^6$ кДж/м² _____ і $20 \cdot 10^6$ кДж/м² _____.
 - 5) У якого з двох організмів - сидячої актинії або рухливого молюска рівень пошкоджень в ДНК був вищим при одній і тій же дозі УФ-В опромінення? _____.
 - 6) Поясніть причини виявлених відмінностей _____.

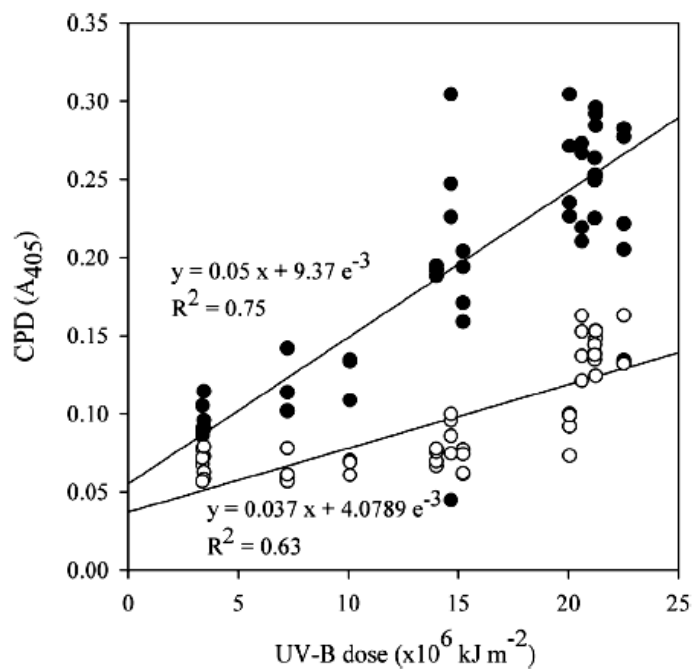


Рис. 9. Залежність між рівнем УФ-В опромінення в природній акваторії біля Нової Зеландії і кількістю циклобутан-піримідинових димерів в молекулах ДНК у морських організмів двох різних видів: у сидячих актиній *Actinia tenebrosa* (чорні кола) і у рухливих червононогих молюсків *Diloma aethiops* (білі кола). Де: по осі ОУ - рівень пошкоджень в ДНК (циклобутан-піримідинових димерів), (CPD, A₄₀₅); по осі ОХ - інтенсивність природного УФ-В випромінювання в районі акваторії, яка досліджувалася, $\times 10^6$ кДж/м² (UV-B dose $\times 10^6$ kJ/m²); ● – актинії *Actinia tenebrosa*; ○ – молюски *Diloma aethiops* (Cubillos et al., 2015).

Завдання 3. Синтез речовин, які адсорбують УФ-промені, є важливим захисним механізмом рифових рибок від надлишкового ультрафіолетового випромінювання.

У тропіках рівень ультрафіолетового випромінювання є одним з найвищих на Землі. При цьому прозорі води коралових рифів пропускають велику кількість УФ-променів, які здатні пошкоджувати ДНК живих організмів. Від надлишку ультрафіолетових променів мешканців прибережних вод захищають раковини, луска і речовини, що абсорбують УФ-промені (каротиноїди і мікоспорин-подібні амінокислоти).

Більше 20 різноманітних мікоспорин-подібних амінокислот, які поглинають УФ промені довжиною хвилі 309-360 нм, було знайдено в клітинах і тканинах морських тварин. Мікоспорин-подібні амінокислоти синтезуються бактеріями, грибами і рослинами. Тварини не здатні самі синтезувати ці амінокислоти і отримують їх з їжею. Нанесення на шкіру мишей мікоспорин-подібних амінокислот захищає тварин від засмаги (тобто, ці речовини не пропускають УФ-промені в клітини).

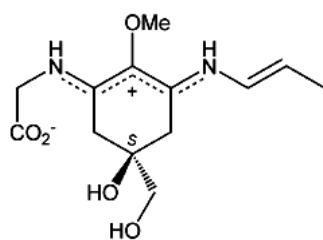


Рис. 10. Мікоспорин-подібна двозаміщена амінокислота палітен (palythene), яка синтезується морськими водоростями і здатна захистити шкіру людини від УФ-променів (за <https://www.mdpi.com/2076-3921/4/3/603>).

Відомо, що в складі слизу на поверхні шкіри рифових риб знаходяться мікоспорин-подібні амінокислоти, які захищають риб від надлишку ультрафіолетових променів. В

умовах відсутності УФ-променів - риби зменшують концентрацію мікоспоринових амінокислот в слизу, який секретується на поверхню їх тіла.

Braun С. з колегами (2016) відловлювали в прибережних тропічних водах рифових риб двох різних видів: *Pomacentrus amboinensis* і *Thalassoma lunare*, які мають різний природний рівень здатності шкірного слизу адсорбувати УФ-промені, і в лабораторних умовах піддавали цих риб впливу підвищеними рівнями УФ-випромінювання протягом 1 години - або відразу після вилову, або через 10 днів після вирощування в лабораторних умовах.



Рис. 11. *Pomacentrus amboinensis*
(https://en.wikipedia.org/wiki/Pomacentrus_amboinensis).



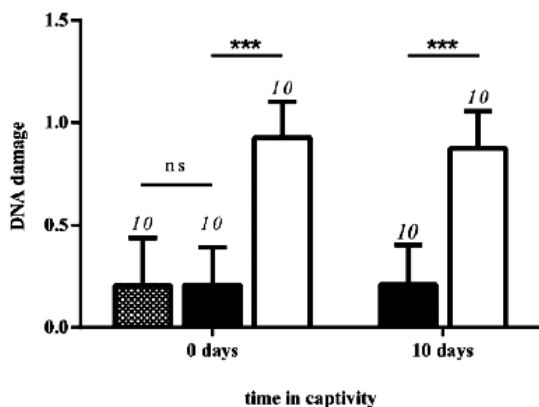
Рис. 12. *Thalassoma lunare*
(https://en.wikipedia.org/wiki/Moon_wrasse).

У риб перевіряли здатність шкірного слизу адсорбувати УФ-промені (яка еквівалентна вмісту в слизу мікоспорин-подібних амінокислот) і рівень пошкоджень ДНК (поява циклобутан-піримідинових димерів в ДНК) після впливу УФ-променями. Проведені Braun С. з колегами (2016) дослідження показали, що для обох видів рифових риб - 1 година впливу високим рівнем УФ-променів призводила до зростання кількості пошкоджень в молекулах ДНК клітин шкіри. При цьому, чим вищою була здатність слизу шкіри абсорбувати УФ-промені - тим менше пошкоджень ДНК було зареєстровано.

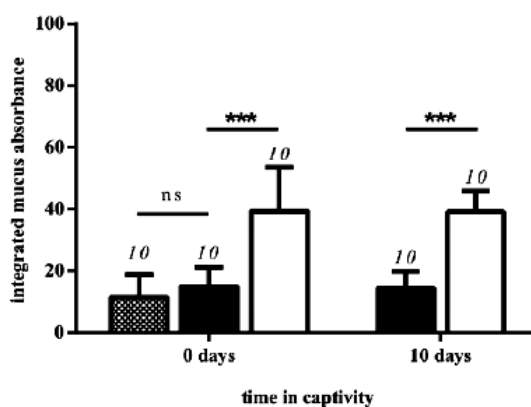
Після впливу УФ-променями - в слизу риб *P. amboinensis* (але не риб *T. lunare*) рівень речовин, які абсорбували УФ-промені, швидко і значно виріс, що свідчить про активну мобілізації УФ-абсорбуючих компонентів до складу шкірного слизу риб даного виду після стресового УФ-В впливу.

*NB! Необхідно відзначити, що риби *P. amboinensis*, на відміну від риб *T. lunare*, використовують УФ-промені для спілкування і, таким чином, змушені мати слиз на шкірі, прозорий для УФ-променів, для того, щоб УФ-промені могли відбиватися від візерунка на поверхні їх шкіри. Таким чином, здатність швидко змінювати прозорість слизу в шкірних виділеннях для УФ-променів є адаптацією рифових риб *P. amboinensis* до можливості одночасно використовувати УФ-промені для спілкування і захищати свою ДНК від шкідливих УФ-променів (Braun et al., 2016). Результати досліджень, проведених Braun С. з колегами (2016), наведені на рисунках 13 (a-d).

a) *P. amboinensis*: DNA damage



b) *P. amboinensis*: integrated mucus absorbance



c) *T. lunare*: DNA damage

d) *T. lunare*: integrated mucus absorbance

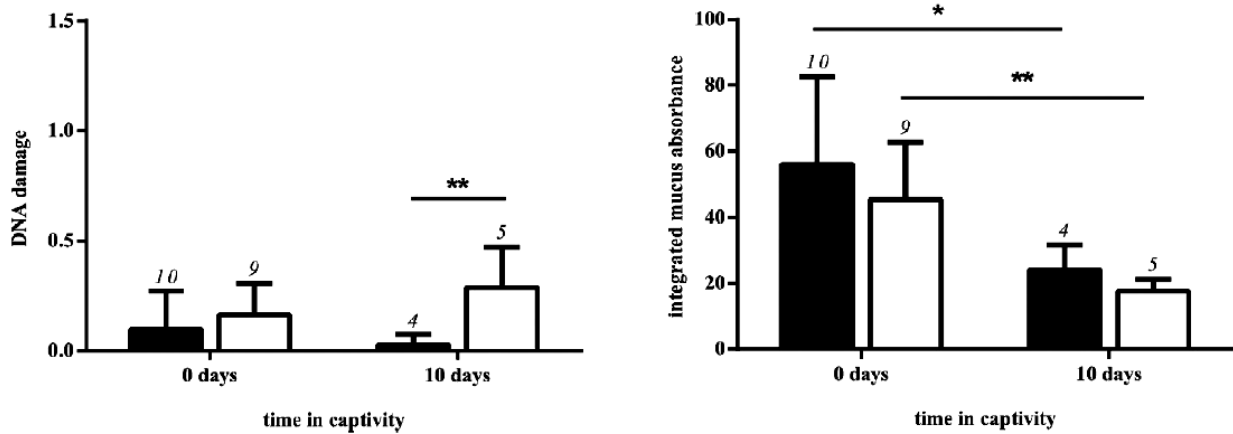


Рис. 13. Рівень пошкоджень ДНК в клітинах шкіри рифових рибок *Pomacentrus amboinensis* і *Thalassoma lunare* (a,c) і здатність слизу цих рибок адсорбувати УФ-промені (b,d) після експозиції на УФ-променях. Де: ■ - чорні стовпчики гістограми - це варіанти відсутності впливу УФ-променями; □ - білі стовпчики гістограми - це варіанти впливу УФ-променями на рибок; ▨ - стовпчики гістограм в клітинку - це додатковий контроль з регулюванням яскравості освітлення; 0 days - експерименти проводилися протягом доби після вилову риб; 10 days - експерименти проводилися через 10 днів після вилову риб; цифри над барами позначають кількість риб, використаних в ході експерименту (Braun et al., 2016).

- 1) Використовуючи дані рисунка 13(a), вкажіть рівень пошкоджень в молекулах ДНК у рифових риб *Pomacentrus amboinensis*, з якими експерименти проводилися в день їх вилову в акваторії: до впливу УФ-променями _____ і після впливу УФ-променями _____.
- 2) Використовуючи дані рисунка 13(c), вкажіть рівень пошкоджень в молекулах ДНК у рифових риб *Thalassoma lunare*, з якими експерименти проводилися в день їх вилову в акваторії: до впливу УФ-променями _____ і після впливу УФ-променями _____.
- 3) Використовуючи дані рисунка 13(b), вкажіть рівень абсорбції УФ-променів слизом рифових риб *Pomacentrus amboinensis*, з якими експерименти проводилися в день їх вилову в акваторії: до впливу УФ-променями _____ і після впливу УФ-променями _____.
- 4) Використовуючи дані рисунка 13(d), вкажіть рівень абсорбції УФ-променів слизом рифових риб *Thalassoma lunare*, з якими експерименти проводилися в день їх вилову в акваторії: до впливу УФ-променями _____ і після впливу УФ-променями _____.
- 5) На підставі отриманих даних поясніть, чому в клітинах шкіри риб *Pomacentrus amboinensis* рівень пошкоджень ДНК після впливу УФ-променями був вищим, ніж в клітинах шкіри риб *Thalassoma lunare*? _____
- 6) Як Ви вважаєте, чому здатність до абсорбції УФ-променів в компонентах слизу риб *Pomacentrus amboinensis* - виросла, після впливу УФ-променями, а у риб *Thalassoma lunare* - знизилася? _____

Відомо, що УФ-адсорбуючі мікоспорин-подібні амінокислоти, які присутні в слизу рифових риб, потрапляють в організм риб тільки з їжею, оскільки клітини риб не здатні синтезувати ці речовини. Крім того, було встановлено, що рівень мікоспорин-подібних амінокислот в шкірному слизу риб залежить від рівня УФ-променів в середовищі їх проживання: при відсутності надлишку УФ-променів рівень мікоспорин-подібних амінокислот в слизу риб знижується. *NB! В лабораторних умовах їжа риб містила достатню кількість мікоспорин-подібних амінокислот, проте - було відсутнім УФ-навантаження. *NB! Риби *Pomacentrus amboinensis* використовують УФ-промені для спілкування і повинні мати шкірний слиз, прозорий для УФ-променів.

Грунтуючись на цій інформації, дайте відповіді на наступні питання:

7) Вкажіть рівень пошкоджень ДНК в клітинах шкіри риб *Thalassoma lunare* після впливу УФ-променями - для риб, спійманих в день експерименту _____ і для риб, які 10 днів після вилову вирощувалися в лабораторних умовах _____.

8) Вкажіть величину абсорбції УФ-променів компонентами слизу шкіри риб *Thalassoma lunare* після впливу УФ-променями: для риб, спійманих в день експерименту _____ і для риб, які 10 днів після вилову вирощувалися в лабораторних умовах _____.

9) Як Ви вважаєте, чому рівень абсорбції УФ-променів компонентами слизу шкіри риб *Thalassoma lunare* знизився після 10 днів вирощування риб в лабораторних умовах?

10) Вкажіть рівень пошкоджень ДНК в клітинах шкіри риб *Pomacentrus amboinensis* після впливу УФ-променями: для риб, спійманих в день експерименту _____ і для риб, які 10 днів після вилову вирощувалися в лабораторних умовах _____.

11) Вкажіть величину абсорбції УФ-променів компонентами слизу шкіри риб *Pomacentrus amboinensis* після впливу УФ-променями: для риб, спійманих в день експерименту _____ і для риб, які 10 днів після вилову вирощувалися в лабораторних умовах _____.

12) Як Ви вважаєте, чому рівень абсорбції УФ-променів компонентами слизу шкіри риб *Pomacentrus amboinensis* не змінився після 10 днів вирощування риб в лабораторних умовах?

13) Зробіть висновок, від яких чинників залежить рівень стабільності ДНК в клітинах шкіри рифових риб в умовах впливу високого рівня УФ-променів: _____

Завдання 4. Пластичність систем адаптації до ультрафіолетових променів у дорослих веслоногих рачків прісноводного зоопланктону.

Оскільки ультрафіолетове випромінювання здатне пошкоджувати ДНК клітин, багато організмів придбали адаптації, які захищають їх від надмірного ультрафіолетового випромінювання. Серед таких адаптацій - синтез захисних пігментів, які поглинають надлишок ультрафіолетових променів. Зокрема, таку стратегію проводять тварини, що формують зоопланктон прісноводних екосистем. Однак, значний рівень пігментації тіла робить напівпрозорих тварин зоопланктону видимими для хижаків. Таким чином, в екосистемах, з високим природним рівнем ультрафіолетового випромінювання і населених хижаками - тварини, які формують зоопланктон, стикаються з проблемою необхідності самозахисту від УФ-променів за допомогою пігментації, і, одночасно, з необхідністю бути малопомітними для хижаків, тобто бути максимально прозорими.



Рис. 14. Веслоногі раки зоопланктону роду *Diaptomus* (за <https://en.wikipedia.org/wiki/Diaptomus>).

В дослідженнях, проведених Hansson L.A. (2000), було показано, що у веслоногих раків, які формують основну масу прісноводного зоопланктону, рівень пігментації тіла був в десять разів вищим в озерах не населених хижаками, в порівнянні з озерами, в яких хижаки були присутні.

Більш того, тварини з однієї і тієї ж популяції, експоновані або на УФ-променях, або в умовах присутності хижаків - показали 10% відмінностей в рівні пігментації вже через 4 дні після відповідного типу експозиції. Отримані дані свідчать про те, що рівень пігментації тіла веслоногих раків чітко регулюється в різних екологічних умовах (за Hansson, 2000).

Результати дослідження Hansson L.A. (2000) наведені на рисунку 15.

- 1) Чому в умовах підвищеного рівня ультрафіолетового випромінювання - більшість організмів синтезують пігменти? _____
- 2) Чому планктонні організми часто не мають забарвлення тіла і є майже прозорими? _____
- 3) Використовуючи дані рисунка 15, вкажіть рівень пігментації тіла веслоногих раків в озерах, в яких живуть хижі риби _____.
- 4) Вкажіть рівень пігментації тіла веслоногих раків в озерах, в яких не живуть хижі риби _____.
- 5) Поясніть причини виявлених відмінностей в рівні пігментації тіла веслоногих раків для озер з хижакими і без хижаків _____.
- 6) Від кількості якого типу УФ-випромінювання - УФ-А або УФ-В - залежить посилення синтезу захисних пігментів тіла? _____.
- 7) Використовуючи дані про рівень УФ-А і УФ-В випромінювання в різних природних екосистемах (див. таблицю), дайте відповідь, чому в озерах без хижих риб в помірній зоні (Швеція) рівень пігментації тіла веслоногих раків був нижчим в порівнянні з озерами арктичної зони? _____.
- 8) В лабораторних експериментах було встановлено, що вже через 4 дні після зміни умов проживання веслоногих раків - тобто додавання/видалення хижаків або зміни рівня УФ навантаження - синтез пігментів в тілі веслоногих раків змінювався на 10%. Поясніть біологічне значення виявленої пластичності в синтезі захисних пігментів _____.

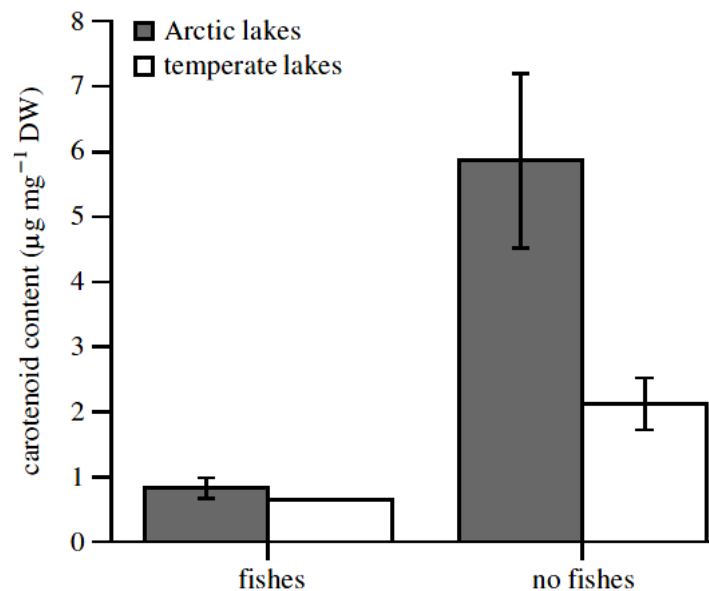


Рис. 15. Рівень пігментації тіла веслоногих раків в природних екосистемах з різним рівнем ультрафіолетового навантаження. Де: по осі ОУ - вміст каротиноїдних пігментів в тілі веслоногих раків, мкг/мг сухої маси раків (carotenoid content, mkg/mg DW); по осі ОХ - два типи природних аквальних екосистем: fishes - з хижими рибами; no fishes - без хижих риб; сірі стовпчики гістограм - арктичні озера; білі стовпчики гістограм - екосистеми помірної кліматичної зони (територія Швеції) (за Hansson, 2000).

Таблиця. Рівні ультрафіолетового випромінювання в районі акваторій Швеції (помірна зона) і арктичної зони.

Територія розташування озер:	Рівень ультрафіолетового випромінювання:	
	УФ-А промені	УФ-В промені
Помірна зона (Швеція)	30 Вт/м ²	0,2 Вт/м ²
Арктичні озера	15 Вт/м ²	1,0 Вт/м ²

Контрольні питання:

1. Джерела і типи ультрафіолетового випромінювання в природних екосистемах.
2. Географічні закономірності розподілу ультрафіолетового випромінювання в природних екосистемах.
3. Біологічна дія низьких природних доз УФ-А і УФ-В випромінювання.
4. Використання відбитих УФ-променів для внутрішньовидового і міжвидового спілкування організмів.
5. Біологічна дія високих природних доз УФ-випромінювання.
6. Механізми самозахисту організмів від надлишку ультрафіолетового випромінювання.
7. Причини та наслідки неадаптації організмів до підвищених доз ультрафіолетового випромінювання.

Література:

Bollati E., Plimmer D., D'Angelo C., Wiedenmann J. FRET-Mediated Long-Range Wavelength Transformation by Photoconvertible Fluorescent Proteins as an Efficient Mechanism to Generate Orange-Red Light in Symbiotic Deep Water Corals // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18(7). pii: E1174. doi: 10.3390/ijms18071174.

Braun C., Reef R., Siebeck U.E. Ultraviolet absorbing compounds provide a rapid response mechanism for UV protection in some reef fish // J. Photochem. Photobiol. B. – 2016. – Vol. 160. – P. 400 - 407. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.04.020.

Bybee S.M., Yuan F., Ramstetter M.D., Llorente-Bousquets J., Reed R.D., Osorio D., Briscoe A.D. UV photoreceptors and UV-yellow wing pigments in *Heliconius* butterflies allow a color signal to serve both mimicry and intraspecific communication // Am. Nat. – 2012. – Vol. 179(1). – P. 38 - 51. doi: 10.1086/663192.

Corcobado G., Herberstein M.E., Pekar S. The role of ultraviolet colour in the assessment of mimetic accuracy between Batesian mimics and their models: a case study using ant-mimicking spiders // Naturwissenschaften. – 2016. – Vol. 103(11-12):90.

Cubillos V.M., Burritt D.J., Lamare M.D., Peake B.M. The relationship between UV-irradiance, photoprotective compounds and DNA damage in two intertidal invertebrates with contrasting mobility characteristics // J. Photochem. Photobiol. B. – 2015. – Vol. 149. – P. 280 - 288. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2015.06.001.

Hansson L.A. Induced pigmentation in zooplankton: a trade-off between threats from predation and ultraviolet radiation // Proc. Biol. Sci. – 2000. – Vol. 267(1459). – P. 2327 - 2331.

Hunt D.M., Carvalho L.S., Cowing J.A., Davies W.L. Evolution and spectral tuning of visual pigments in birds and mammals // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. – 2009. – Vol. 364(1531). – P. 2941 - 2955. doi: 10.1098/rstb.2009.0044.

Тема 10. Вплив магнітного поля Землі і техногенних електромагнітних полів на живі організми

10.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Еволюційно, всі живі організми на Землі сформувалися в умовах дії геомагнітного поля Землі. Але, в сучасних умовах досить часто відбувається екранування природного геомагнітного поля технічними спорудами, що негативно впливає на здоров'я людей.

Крім того, сьогодні, завдяки технічному і науковому прогресу, людина та інші організми на Землі зазнають значного впливу техногенних електромагнітних полів, інтенсивність і частота коливань яких значно відрізняються від параметрів природних електромагнітних полів, що також може мати негативний вплив на живі організми.

Збурення магнітного поля Землі

Магнітне поле Землі складається на 99% з постійної компоненти і на 1% зі змінної компоненти. Причинами збурень геомагнітного поля Землі є процеси, які відбуваються на Сонці і в надрах Землі. Виділяють нециклічні і циклічні збурення магнітного поля Землі, пов'язані з циклами взаємного розташування Сонця і Землі, з циклами Сонячної активності і з циклами тектонічної активності.

Інфаркти міокарда і магнітне поле Землі. Зміни в геомагнітному полі Землі впливають на організм людини. Jarusevicius G. з колегами (2018) вивчали можливу кореляцію між змінами локального геомагнітного поля Землі і частотою інфарктів міокарда. Учасниками дослідження були 435 чоловіків і 268 жінок, у яких був діагностований інфаркт міокарда в період з 1 січня 2016 року по 31 грудня 2016 року, і які відвідували відділення кардіології в лікарні Литовського університету наук про здоров'я (LUHS), Kauno klinikos. Дані про зміни в магнітному полі Землі були зібрані на майданчику магнітометра, розташованого в Литві.

Після проведення математичного аналізу, отримані результати підтвердили гіпотезу про те, що існує взаємозв'язок між числом випадків гострого інфаркту міокарда в тиждень і середньою тижневою напруженістю геомагнітного поля Землі в різних частотних діапазонах (Jarusevicius et al., 2018).

Збурення в геомагнітному полі Землі спроможні активувати синтез ДНК в клітинах людини. Дослідження, проведені Liboff A.R. з колегами (1984), показали, що фібробласти людини починають посилений синтез ДНК при впливі синусоїдальних магнітних полів широкого діапазону частот (від 15 Гц до 4 кГц) і амплітуд напруженості поля (від $2,3 \times 10^{-6}$ до $5,6 \times 10^{-4}$ Тл). За оцінками, поріг стимулюючого ефекту для синтезу ДНК становить від $0,5 \times 10^{-5}$ до $2,5 \times 10^{-5}$ Тл в секунду.

Діапазон протестованих Liboff A.R. з колегами (1984) амплітуд магнітного поля охоплює і геомагнітне поле Землі, що дозволило авторам роботи припустити можливість мутагенного впливу збурень геомагнітного поля Землі на клітини, які діляться. Крім того, виходячи з потенційної мутагенності збурень геомагнітного поля Землі, було зроблено висновок про можливу еволюційну роль в розвитку життя на Землі реверсій геомагнітного поля, які багаторазово відбувалися в геологічній історії нашої планети (Liboff et al., 1984).

Екранування геомагнітного поля Землі

Ослаблення електромагнітних полів різних діапазонів має місце при екрануванні в багатьох виробничих приміщеннях, електропоїздах, літаках, космічних кораблях і ін. В ряді досліджень було показано, що екранування природного геомагнітного поля Землі викликає аномалії росту коренів рослин, порушує хід циркадіанних (добових) ритмів у людини, змінює поведінку термітів, викликає тератогенні ефекти в ембріональному розвитку організмів і т.н.

Зниження інтенсивності магнітного поля Землі і реверсії магнітного поля Землі - негативно впливають на нащадків рачків дафній. Krylov V.V. з колегами (2013) було встановлено, що зниження сили геомагнітного поля Землі зменшує розмір потомства рачків дафній і тривалість їх життя. При нульовому геомагнітному полі - спостерігається затримка вступу особин в репродукцію. Реверсії магнітного поля (зміна магнітних полюсів) - також негативно впливали на розміри дафній, затримували вступ дафній в репродуктивний цикл, знижували життєздатність нащадків (Krylov et al., 2013).



Рис. 1. Рачок дафнія (*Daphnia magna*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Екранування геомагнітного поля Землі впливає на ембріогенез прісноводного срібного карася. Tombarkiewicz В. з колегами (2018) було показано, що екранування геомагнітного поля Землі призводить до порушення ембріогенезу у прісноводного срібного карася (*Carassius gibelio*). Зокрема, до зростання смертності ембріонів після 24 год і 72 год інкубації і до прискорення процесу вилуплення потомства з яєць (Tombarkiewicz et al., 2018).



Рис. 2. Срібний карась (*Carassius gibelio*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Екранування магнітного поля Землі викликає аномалії розвитку личинок тритонів. Екранування геомагнітного поля Землі, проведене Asashima М. з колегами (1991) протягом 5 днів, викликало аномалії розвитку личинок японських тритонів *Cynops pyrrhogaster*. В ході експериментів магнітне поле екранували і його напруженість становила всього 5 нТл, що було в 10 000 разів менше напруженості природного геомагнітного поля Землі (30 – 50 мкТл).



Рис. 3. Японський вогняночеревний тритон *Cynops pyrrhogaster* (<https://www.google.com.ua/search?q=Cynops+pyrrhogaster>).

Результати впливу гіпомагнітного поля на розвиток личинок тритонів порівнювали через 1 день і через 20 днів після обробки. Були виявлені численні аномалії розвитку личинок, особливо на 20 день після експериментального впливу. Зокрема, у

експериментальних личинок спостерігалася поява двоголових личинок, випинання кишечника, викривлення хребта, потворні очі і уповільнений або заблокований розвиток (Asashima et al., 1991).

Блокування геомагнітного поля Землі перешкоджає епігенетичному перепрограмуванню клітин. Baek S. з колегами (2014) показали, що присутність природного електромагнітного поля Землі є необхідною для індукції епігенетичних змін, які забезпечують перепрограмування соматичних клітин в плюрипотентні клітини. Ці епігенетичні зміни виникають в результаті індукованої електромагнітними полями активації гістонової лізин-метилтрансферази Mll2. В умовах блокування природного електромагнітного поля Землі - таке перепрограмування соматичних клітин не відбувається.

В цілому, отримані результати свідчать про те, що природні електромагнітні поля безпосередньо регулюють динаміку епігенетичних змін в клітинах через активування гістонової лізин-метилтрансферази Mll2 і що додавання зовнішнього електромагнітного поля здатне прискорити ці процеси (Baek et al., 2014).

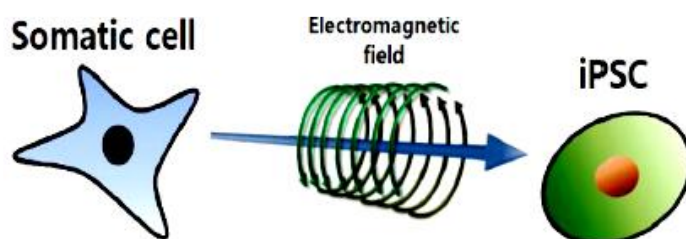


Рис. 4. Для епігенетичного перепрограмування соматичних клітин в плюрипотентні клітини - необхідна присутність природного геомагнітного поля Землі. Де: Somatic cell - соматична клітина; Electromagnetic field - електромагнітне поле; iPSC - плюрипотентні клітини (Baek et al., 2014).

Гіпомагнітні умови порушують метилювання ДНК в процесі диференціації (спеціалізації) стовбурових клітин. Це може бути однією з причин негативного впливу гіпомагнітного поля на функціонування організмів. У ряді робіт було показано, що гіпомагнітні поля негативно впливають на фізіологічні процеси в організмі ссавців. Baek S. з колегами (2019) в попередній роботі встановили, що гіпомагнітні поля впливають на долю клітин під час їх перепрограмування в напрямку плюрипотентності. Ці дані змусили авторів роботи перевірити, який вплив чинять гіпомагнітні умови на визначення долі клітин під час їх звичайної диференціації (т.т., спеціалізації).

В результаті проведених Baek S. з колегами (2019) досліджень було встановлено, що гіпомагнітні умови знижують здатність клітин до диференціації і саме це є критичним фактором, що визначає долю клітин під час диференціації ембріональних стовбурових клітин *in vitro*. Авторами роботи було показано, що гіпомагнітні умови викликають аномальне метилювання ДНК внаслідок порушення експресії ДНК-метилювальної ферментації (Dnmt3b). Це призводить до неповного метилювання ДНК під час диференціації.

В цілому, отримані результати дозволяють припустити, що для нормального епігенетичного перепрограмування клітин в процесі диференціації важливою умовою є присутність відповідного електромагнітного поля (Baek et al., 2019).

Екранування електромагнітного поля прискорює регенерацію у планарій. Демцун Н.А. з колегами (2008) було встановлено, що екранування електромагнітного поля прискорює регенерацію планарій. Однак при цьому, в процесі регенерації планарій були виявлені факти появи аномалій розвитку (Демцун и др., 2008).

Екранування магнітного поля Землі - гальмує ріст ракових клітин. Martino С.Ф. з колегами (2010) було показано, що зменшення напруженості магнітного поля Землі - призводить до зниження швидкості поділу в різних лініях ракових клітин (Martino et al., 2010).

В гіпомагнітних умовах в ракових клітинах людини знижується продукція молекул реактивних форм кисню, необхідних для розвитку пухлинних клітин. В ряді досліджень було встановлено, що для ракових клітин характерним є підвищений рівень продукування реактивних форм кисню, що свідчить про можливу залученість реактивних форм кисню в розвиток цих клітин. Відомо, що низькі рівні реактивних форм кисню важливі також для розвитку і виживання нормальних клітин.

Martino C.F. і Castello P.R. (2011) вивчали вплив ослабленого магнітного поля Землі (0,2-2,0 мкТл в порівнянні з природним рівнем геомагнітного поля Землі 45-60 мкТл) на рівень продукування реактивних форм кисню раковими клітинами людини. Отримані дані свідчать про те, що редукція магнітного поля Землі пригнічувала продукування раковими клітинами реактивних форм кисню (Martino & Castello, 2011).

Екранування геомагнітного поля Землі викликає депресію у лабораторних щурів. Temur'yants N.A. з колегами (2016) за допомогою спеціальних поведінкових тестів було встановлено, що тривале екранування магнітного поля Землі (по 19 годин на день протягом 10 днів) призводить до розвитку депресії у лабораторних щурів (Temur'yants et al., 2016).

Екранування геомагнітного поля Землі порушує нормальне функціонування мозку хом'ячків. У ряді досліджень було показано, що екранування геомагнітного поля Землі порушує нормальне функціонування мозку і поведінку (настрій) тварин. Zhang X. з колегами (2006) досліджували вплив тривалої експозиції на нульовому геомагнітному полі на норадренергічну активність стовбурових клітин мозку золотистих хом'ячків. В результаті проведеної роботи було встановлено, що як вміст норадреналіну, так і щільність норадреналін-імунопозитивних нейронів в тканині значно знизилися після дії гіпогеомагнітних умов, і ці ефекти з часом прогресували.

В цілому, виявлені авторами роботи в умовах екранування геомагнітного поля Землі зміни в роботі мозку здатні впливати на поведінку тварин і на їх настрої (Zhang et al., 2006).



Рис. 5. Золотистий хом'ячок (*Mesocricetus auratus*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Golden+Hamster>).

*NB! Норадреналін (норепінефрин) - гормон мозкової речовини надниркових залоз і нейромедіатор блакитної плями стовбура мозку і закінчень симпатичної нервової системи (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

В гіпомагнітних умовах змінюється робота генів в клітинах. В ряді досліджень було встановлено, що гіпомагнітне поле може впливати на розвиток ембріонів, на проліферацію клітин, навчання і пам'ять, а також на збірку тубуліну в мікротрубочкові структури *in vitro*.

Mo W. з колегами (2014) в своїй роботі намагалися з'ясувати молекулярні механізми, за допомогою яких гіпомагнітні поля здійснюють свій вплив на живі організми. Для цього було проведено порівняння роботи генів в клітинах нейробластоми людини, які зазнали впливу або гіпомагнітного поля, або геомагнітного поля Землі.

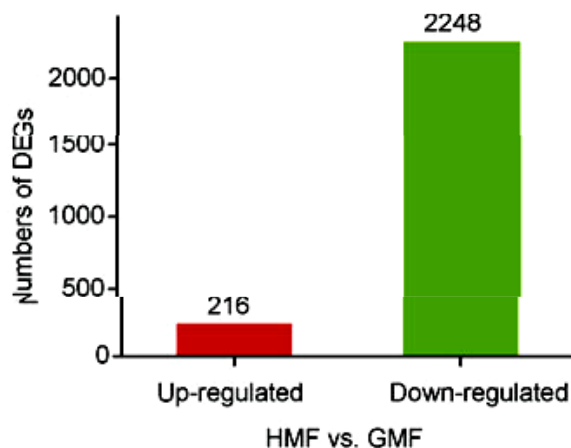


Рис. 6. Зміни інтенсивності роботи генів в клітинах нейробластоми людини в умовах дії гіпомагнітного поля в порівнянні з умовами впливу природного геомагнітного поля Землі (DEGs-гени). Де: по осі ОУ - кількість генів, які зміни рівень своєї експресії, (Numbers of DEGs); HMF vs. GMF - умови гіпомагнітного поля в порівнянні з умовами геомагнітного поля Землі; Up-regulated - кількість генів, активність яких збільшилася (червоний стовпчик гістограми); Down-regulated - кількість генів, активність яких зменшилася (зелений стовпчик гістограми) (Mo et al., 2014).

В результаті проведеної Мо W. з колегами (2014) роботи були ідентифіковані 2464 гена, у яких в експериментальних умовах змінився характер експресії. При цьому функціонування 216 з них було посилено, а функціонування 2248 - було знижено після впливу гіпомагнітним полем. Було встановлено, що ці гени відповідають, переважно, за кілька ключових процесів: за локалізацію макромолекул, транспорт білків, дозрівання молекул РНК і функціонування мозку (Mo et al., 2014).

Вплив екранування геомагнітного поля Землі на рослини

Ослаблення геомагнітного поля Землі пригнічує ріст коренів рослин.

Напруженість Галактичного магнітного поля становить всього 0,1-1 нТл, тоді як напруженість геомагнітного поля Землі сягає 50 мкТл. Під час тривалого космічного польоту організми будуть піддаватися умовам нестачі магнітних полів.

Експериментальні дослідження впливу близько-нульового магнітного поля на рослини необхідні для розуміння того, як будуть вести себе рослини в умовах космічного польоту. При цьому умови нульового магнітного поля можливо створити в лабораторії за допомогою спеціального обладнання.

Проведені Belyavskaya N.A. (2004) дослідження показали, що слабкі магнітні поля інгібують ріст коренів проростків рослин, при цьому знижується проліферативна активність в меристемах коренів (через подовження G1 фази клітинного циклу); знижується функціональна активність геному; збільшується об'єм мітохондрій, а їх кристи - редукуються (Belyavskaya, 2004).

Вплив магнітного поля різної інтенсивності на ріст і фотосинтез у рослин ряски

малої. Jan L. з колегами (2015) вивчали вплив на розвиток рослин ряски малої (*Lemna minor*) магнітного поля меншої напруженості (4 мкТл) і більшої напруженості (100 мкТл і 150 мТл) порівняно з геомагнітним полем Землі (50 мкТл). В роботі вимірювали питому швидкість росту рослин ряски і кінетику флуоресценції хлорофілу після 7 днів інкубації в змінених геомагнітних умовах.

Отримані результати свідчать про те, що редуковане магнітне поле значно стимулювало ріст рослин ряски. Тоді як збільшення напруженості магнітного поля до 100 мкТл та 150 мТл - інгібувало ріст рослин, проте ці відмінності не були статистично достовірними. Зміни в інтенсивності магнітного поля в межах 4-100 мкТл не впливали на ефективність роботи фотосистеми II. Однак, магнітне поле більш значної напруженості (150

мТл) збільшувало початкову флуоресценцію хлорофілу і, таким чином, сприяло розсіюванню енергії у рослин ряски малої (Jan et al., 2015).



Рис. 7. Ряска мала (*Lemna minor*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Екранування геомагнітного поля Землі гальмує цвітіння рослин і знижує їх продуктивність. Xu С. з колегами (2013) в експериментально створених умовах нульового геомагнітного поля (0 Тл) виявили затримку в термінах цвітіння у рослин арабідопсиса на 4-5 днів у порівнянні з контрольними рослинами, які вирощувалися в умовах звичайного геомагнітного поля Землі (45 мкТл). Крім того, в умовах нульового геомагнітного поля Землі достовірно знизилася кількість насіння, що продукуються рослинами арабідопсиса (Xu et al., 2013).



Рис. 8. Арабідопсис (*Arabidopsis thaliana*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

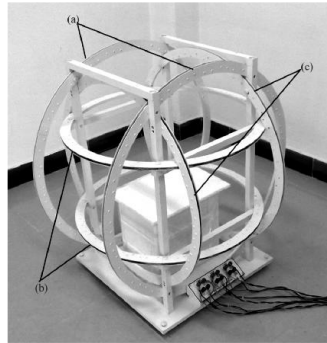


Рис. 9. Устаткування, використане для створення нульового магнітного поля. Три пари котушок Гельмгольца забезпечують компенсацію: (а) - східно-західної компоненти, (б) - вертикальної компоненти і (с) північно-південної компоненти локального геомагнітного поля Землі (Xu et al., 2013).

Подальші дослідження авторів роботи (Xu et al., 2015) показали, що пригнічення цвітіння рослин арабідопсиса нульовим магнітним полем відбувається за участю білків-кріптохромів, які в клітинах рослин є фоторецепторами на блакитне світло: а) в присутності червоного світла не відбувається затримки термінів цвітіння рослин арабідопсиса в нульовому геомагнітному полі, але така затримка відбувається в блакитному світлі; б) рослини арабідопсиса, мутантні по генам кріптохромів, в умовах нульового магнітного поля - не показали відмінностей в термінах цвітіння в порівнянні з контрольними рослинами (Xu et al., 2015).

Екранування геомагнітного поля Землі посилює ріст епикотилів проростків гороху. Negishi Y. з колегами (1999) вирощували проростки гороху в штучно створених за допомогою кліностату умовах невагомості. Отримані результати показали посилення росту епикотилів проростків в умовах невагомості. В ході подальших досліджень, автори роботи провели вирощування проростків гороху в умовах екранування геомагнітного поля Землі при збереженні земного рівня гравітаційного впливу. В ході цих експериментів також було показано посилення росту епикотилів гороху.

В результаті проведених досліджень Negishi Y. з колегами (1999) прийшли до висновку, що виявлене в умовах невагомості посилення росту епикотилів проростків

пов'язано зі зниженням рівня геомагнітного поля Землі, а не з умовами невагомості як такими (Negishi et al., 1999).

Використання манітного поля організмами для орієнтації у просторі

Магнітне поле Землі і магнетотаксис бактерій. Магнітобактерії - це мікроорганізми, які орієнтуються і мігрують уздовж силових ліній магнітного поля Землі. Згідно з класичною моделлю полярного магнетотаксису - швидкість міграції магнітотактичних бактерій уздовж силових ліній магнітного поля повинна монотонно зростати зі збільшенням сили прикладеного магнітного поля.

Pan Y. з колегами (2009) протестували це припущення експериментально, на магнітотактичних коккоподібних бактеріях, які плавають по спіральній траєкторії. Виявилось, що швидкість паралельної міграції бактерій зменшується зі збільшенням напруженості поля від 0,1 до 1,5 мТл. Це несподіване спостереження може бути пояснено і відтворено в математичній моделі, якщо припустити, що магнітосомний ланцюг нахилений відносно осі джгутикового руху.

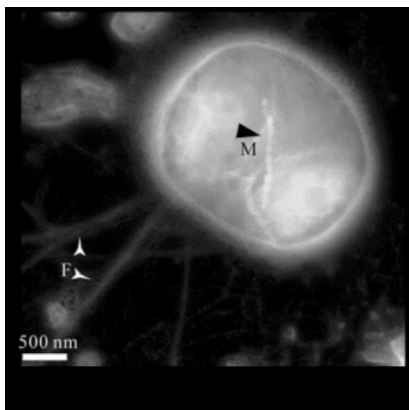


Рис. 10. Клітина магнітобактерії. Трансмісивна електронна мікроскопія. 1 бар = 500 нм. Бактерія містить ланцюжок магнітосом (вказано чорною стрілкою М) і має два пучки джгутиків (вказані білими стрілками). Зверніть увагу на те, що лінійний ланцюг магнітосом і вісі обертання джгутиків - не є паралельними (Pan et al., 2009).

Однак, цей магнітний дефект, стає очевидним тільки в більш сильних, ніж геомагнітні полях, що говорить про те, що магнетотаксис даних бактерій був сформований і оптимізований в умовах геомагнітного поля Землі. Тому цим бактеріям не вигідно збільшувати свій внутрішньоклітинний магнітний дипольний момент понад значення, необхідні для подолання броунівського руху в умовах геомагнітного поля Землі (Pan et al., 2009).

У риб є не тільки сонячний, але і магнітний компас, який допомагає їм орієнтуватися в просторі вночі при далеких міграціях. Багато личинок риб коралових рифів проводять дні або місяці у відкритому океані, перш ніж осісти на коралових рифах. На ранніх стадіях розвитку личинки мають обмежені можливості до плавання і тому, зазвичай, переносяться течіями, що може сприяти розселенню риб на відстані в десятки кілометрів.

Проте, було встановлено, що до 60% личинок, які вижили, повертаються до своїх натальних рифів. Для повернення додому личинки повинні розвинути здатність до плавання і відповідні механізми орієнтації в просторі.

Більшість личинок рифових риб на пізній стадії розвитку здатні, після пасивного дрейфу протягом декількох днів або тижнів, до активного плавання. При цьому було показано, наприклад, що личинки *Ostorhinchus doederleini* використовують хемотаксис для ідентифікації свого натального рифа, який знаходиться поблизу, і сонячний компас для більш далекого орієнтування протягом дня. Але як вони орієнтуються вночі?

Vottesch M. з колегами (2016) було показано, що молоді риби, спіймані на одному з островів Великого бар'єрного рифа, спроможні використовувати інформацію геомагнітного компаса для збереження курсу на південний схід. Така поведінка може допомогти їм

повернутися до свого натального рифа за відсутності будь-яких небесних сигналів вночі. Штучні електромагнітні поля здатні порушувати роботу цього компасу (Bottesch et al., 2016).



Рис. 11. (А) - Рифова рыбка *Ostorhinchus doederleini* (https://en.wikipedia.org/wiki/Ostorhinchus_doederleini). Рифові риби *Ostorhinchus doederleini* спроможні орієнтуватися в просторі і за допомогою Сонця, і за допомогою магнітного компаса. Для експериментів з сонячним компасом протягом дня рибу тестували під ясным сонячним небом. Вночі рибу поміщали в центр одного з двох наборів котушок Гельмгольца, які використовувалися для проведення експериментів (Б). Положення голови риб записували з використанням інфрачервоної відеокамери нагорі.

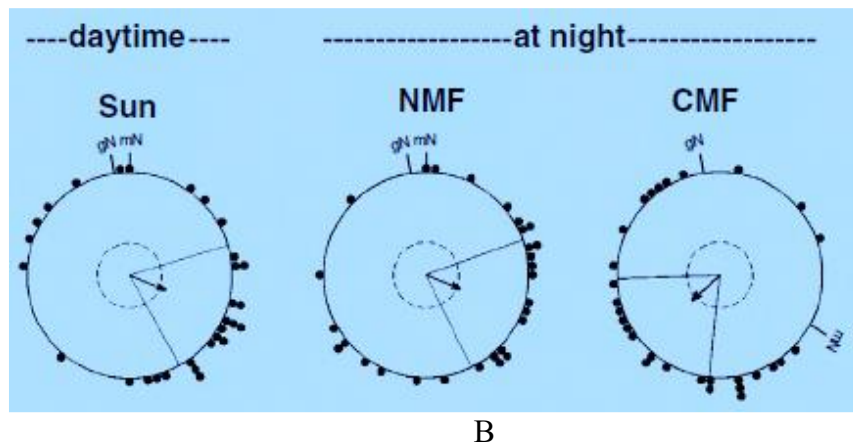


Рис. 12. Кругові діаграми (В) показують мимовільну орієнтацію компаса риби в умовах ясної погоди протягом дня (Сонце) і вночі за відсутності будь-яких небесних сигналів в природному магнітному полі (NMF) і в зміненому магнітному полі, повернутому на 120° за годинниковою стрілкою (CMF). Кожна точка на периферії кола вказує на середню орієнтацію, визначену на підставі результатів 3-5 тестів для однієї окремої риби в даних умовах експерименту. Стрілки вказують на середні значення групи векторів. Лінії, що оточують вектор середнього значення групи, вказують 95% довірчі інтервали для середнього напрямку групи. Літерами 'MN' і 'gN' у верхній частині кругових діаграм вказані напрямки магнітної півночі і географічної півночі, відповідно (Bottesch et al., 2016).

Гравітропізм і магнітне поле

Швидкість формування гравітропічного вигину проростків льону залежить від напруженості магнітного поля. Belova N.A. і Lednev V.V. (2001) встановили, що швидкість формування гравітропічного вигину в апікальних сегментах 4-денних етиолованих проростків льону *Linum bienne*, значно і нелінійно залежить від щільності магнітного потоку статичного магнітного поля в діапазоні від 0 до 350 мкТл. Формування гравітропічного вигину стимулювалося при 0-2 мкТл і 200-350 мкТл, але інгібувалося при 100-170 мкТл порівняно з контрольними зразками, які знаходилися в геомагнітному полі Землі, що дорівнює 46,5 мкТл (Belova & Lednev, 2001).

В умовах невагомості проростки сприймають магнітне поле як гравітаційне і ростуть у відповідному напрямку. Дослідження просторової поведінки проростків льону (*Linum usitatissimum* L.) в неоднорідному магнітному полі проводилися на орбітальних космічних станціях "Салют" і "Мир" в установці «Магнітогравістат», де насіння вирощували протягом 3-4 днів в штучному магнітному полі, потім проростки фіксували на орбіті і повертали на Землю для аналізу.

Було встановлено, що 93% проростків льону були орієнтовані в експериментальному магнітному полі уздовж градієнта поля (т.т, перпендикулярно силовим лініям магнітного поля) у відповідності зі зсувом статолітів магнітними силами, в той час як контрольні проростки росли в напрямку вихідної орієнтації насіння.

Отримані дані свідчать про те, що гравітаційні рецептори рослин розпізнавали магнітні сили, які діяли на статоліти, як гравітацію, і що в умовах космічного польоту для рослин гравітаційний стимул можливо замінити силою іншої фізичної природи (Nechitailo et al., 2001).

Гравітропічна реакція рослин залежить від напрямку розташування коренів відносно силових ліній електромагнітного поля. В дослідженнях, проведених Шейкіною Н.В. з колегами (2005) і Kordyum E. з колегами (2007), було встановлено, що комбіноване магнітне поле (тобто поле, що поєднує постійну і змінну компоненти), яке спрямоване паралельно силі тяжіння, може істотно змінити гравітропічну реакцію рослин.

При цьому ефекти спостерігаються для певних частот змінної складової комбінованого магнітного поля, які збігаються з циклотронними частотами іонів Ca^{2+} , K^+ , Cu^{2+} , ауксина, абсцизової кислоти, гіберелінів. Особливо значним є ефект для частоти змінної складової, яка відповідає циклотронній частоті іонів Ca^{2+} . В цьому випадку у коренів рослин змінюється знак гравітропічної реакції (Шейкіна і ін., 2005; Kordyum et al., 2007).

*NB! Циклотронна частота - це частота обертання зарядженої частинки в постійному магнітному полі H в площині, перпендикулярній магнітному полю H (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Богатіною Н.І. з колегами (2011) було встановлено, що гравітропічна реакція рослин залежить від напрямку розташування коренів відносно силових ліній комбінованого магнітного поля. При розташуванні коренів перпендикулярно цьому полю - гравітропічна реакція коренів змінюється і може бути взагалі відсутня. Якщо корені розташовані паралельно комбінованому магнітному полю, то гравітропічна реакція виявляється якісно такою ж, як і в контролі (тобто, в постійному геомагнітному полі Землі).

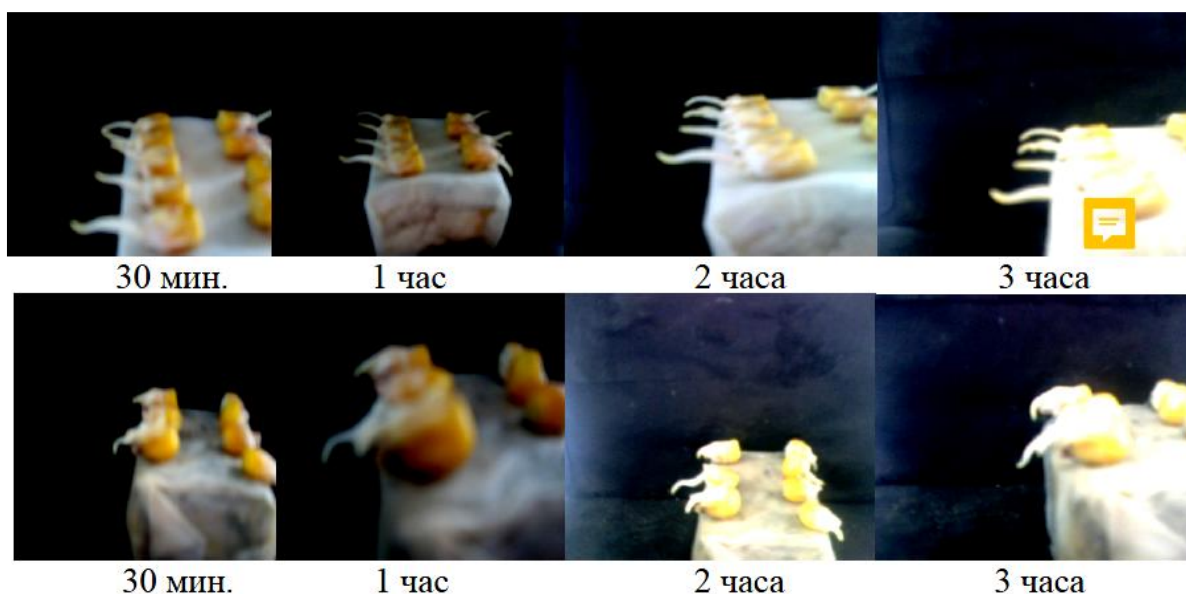


Рис. 13. Вгорі: гравітропічна реакція коренів кукурудзи, розташованих перпендикулярно силі тяжіння і напрямку комбінованого магнітного поля (комбіноване магнітне поле спрямовано

паралельно вектору сили тяжіння). Внизу: гравітропічна реакція коренів кукурудзи, розташованих перпендикулярно силі тяжіння і паралельно напрямку постійного магнітного поля (постійне магнітне поле спрямоване перпендикулярно вектору сили тяжіння) (Богатина и др., 2011).

Отримані авторами роботи результати дозволили їм зробити висновок про те, що основний потік іонів Ca^{2+} спрямований уздовж коренів і що основну роль в розвитку відповідної реакції рослин відіграє електричне поле мембрани клітини.

Врахування його величини дозволяє спростувати усі заперечення про неможливість дії комбінованого магнітного поля внаслідок його малої енергії. В цілому, отримані дослідниками дані свідчать про те, що комбіноване магнітне поле є пусковим механізмом, що активує гравітропічну реакцію рослин (Богатина и др., 2011).

Власні електромагнітні поля, що генеруються клітинами рослин. Одним з базових механізмів, що пояснює вплив зовнішніх електромагнітних полів на живі організми є те, що кожна клітина генерує своє електромагнітне поле. Саме взаємодією зовнішніх і ендогенних електромагнітних полів сьогодні пояснюють як негативні, так і позитивні ефекти впливу зовнішніх полів на живі організми.

Богатиною Н.І. і Шейкіною Н.В. (2009) були вперше виміряні власні магнітні поля рослин, які проростають. Зокрема, власне магнітне поле сухого зерна пшениці - становить менше 0,1 нТл, а вологого зерна пшениці - менше 5 нТл на відстані 3 - 5 мм від нього. Власне магнітне поле насіння крес-салату, яке проростає, становить близько $3 \cdot 10^{-11}$ Тл на відстані 3 - 5 мм від нього.

Крім того, Богатиною Н.І. і Шейкіною Н.В. (2009) вперше були виміряні шумові магнітні поля, які генеруються рослинами. Так, власний магнітний шум насіння крес-салату, яке проростає, сягає 10^{-11} Тл/ Гц^{0.5}.

Богатиною Н.І. і Шейкіною Н.В. (2009) було встановлено, що зовнішнє магнітне поле з магнітною індукцією $B = 10$ мкТл і рівнем шумів 4 нТл/Гц^{0.5} - індукує різке збільшення (в 3-100 разів) власних магнітних шумів, що генеруються вологою зернівкою в області низьких частот. При цьому, поле, що генерується, має кілька частотних максимумів.

Отримані авторами дослідження спектри випромінювання добре збігаються зі спектрами поглинання. Цілий ряд максимумів вдалося співвіднести з певними біологічно активними молекулами, формально використовуючи циклотронні частоти іонів. Цими молекулами виявилися іони кальцію, калію, водню, молекули індолілоцтової кислоти, абсцизової кислоти і гіберелінів.

Крім того, було виявлено, що будь-яке оточення біооб'єкту впливає на його власне постійне і змінне електромагнітні поля. Автори дослідження припустили, що оскільки чутливість багатьох організмів до постійного магнітного поля лежить на рівні 10^{-6} - 10^{-5} Тл, до постійного електричного поля - на рівні 10^{-7} - 10^{-6} В/м і до змінного електромагнітного поля 10^{-6} - 10^{-5} Тл, то цілком можливо, що цим пояснюється біолокаційний ефект (Богатина, Шейкіна, 2009).

Одночасний вплив на організми геомагнітного поля Землі і техногенних електромагнітних полів

Посилення геомагнітного поля Землі техногенними електромагнітними полями може спровокувати розвиток ракових захворювань. У Північній Кароліні (США) є населені пункти з підвищеним ризиком розвитку раку мозку у місцевого населення. Цю ситуацію пов'язують з розташуванням силових електричних підстанцій: вважають, що магнітне поле від цих підстанцій взаємодіє з геомагнітним полем Землі, що і призводить до розвитку раку мозку у місцевого населення (Aldrich et al., 2001).

Механізми дії геомагнітного поля Землі і техногенних електромагнітних полів опосередковуються білками кріптохромами і мають загальну механічну основу. Вже багато років відомим є той факт, що магнітні поля низької інтенсивності спроможні впливати

на біологічні системи: перелітні птахи здатні виявляти магнітне поле Землі, випромінювання від ліній електропередач призводить до росту випадків дитячої лейкемії, імпульсні магнітні поля збільшують продукування реактивних форм кисню (ROS) в клітинних системах і т.н. Але, дослідження в цій області тривалий час сприймалися зі скептицизмом, оскільки основні молекулярні механізми такої відповіді були не відомі.

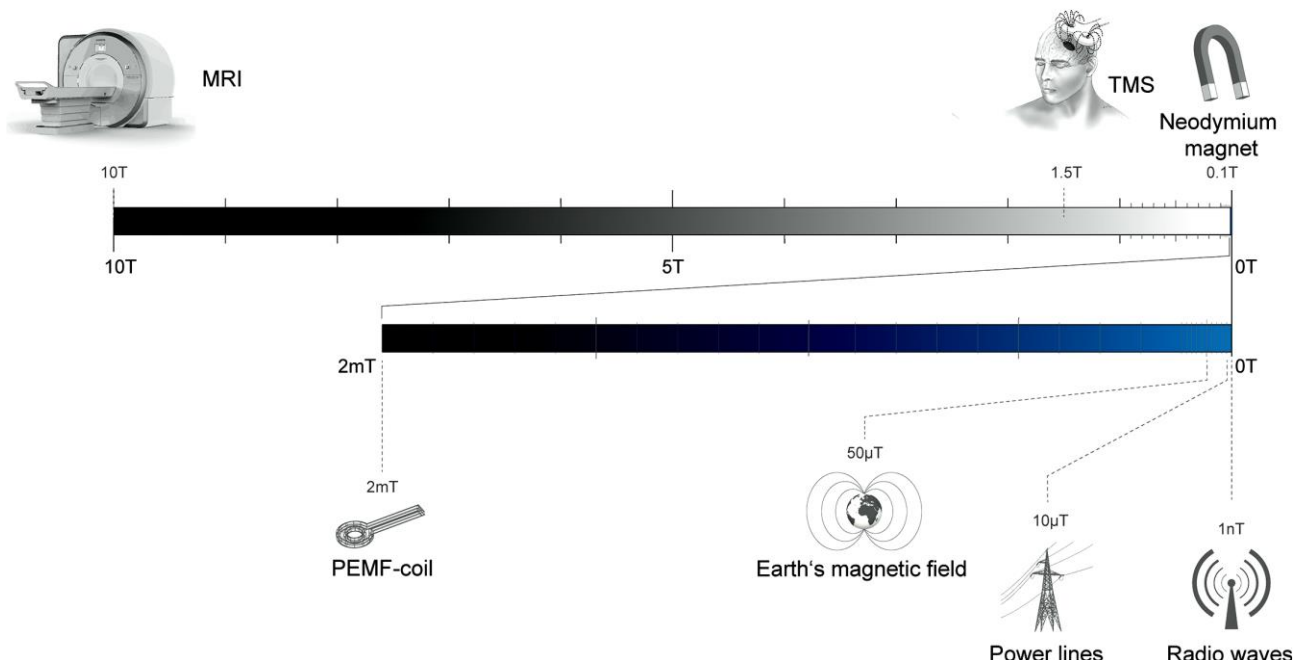


Рис. 14. Схема, що показує пристрої, які генерують електромагнітні поля, і відповідні їм значення напруженості поля. Прилади, які використовуються для магнітно-резонансної томографії, створюють електромагнітні поля, напруженістю в 1,5-10 Тл; прилади для транскраніальної магнітної стимуляції - генерують поля, напруженістю в 1,5 Тл. Неодимові магніти створюють статичні поля, напруженістю в 100 мТл, тоді як імпульсні електромагнітні поля (PEMF) знаходяться в діапазоні напружень поля в 2 мТл і коливаються в діапазоні частот від 10 Гц до 200 Гц. Ці поля значно сильніші, ніж статичне поле Землі (50 мкТл), ніж змінні поля, що генеруються лініями електропередач (10 мкТл, 50 Гц), і ніж радіочастотні хвилі (всього 1 нТл). Де: PEMF - імпульсне електромагнітне поле (Landler & Keays, 2018).

Нещодавно, Sherrard R.M. з колегами (2018) в своїй роботі встановили, що низькочастотні імпульсні електромагнітні поля (PEMF) призводять до зміни поведінки у личинок мушок дрозофіл *Drosophila* і до посилення продукції ROS в клітинній культурі. Авторами дослідження також було показано, що ці відповіді вимагають присутності кріптохрому – білка, який є магніторецептором.

Landler L. і Keays D.A. (2018) на підставі аналізу даних, отриманих Sherrard R.M. з колегами (2018), зробили припущенні, що можливо канцерогенез, пов'язаний з лініями електропередач, PEMF-індукована генерація ROS і магніторецепція тварин, мають загальну механістичну основу (Landler & Keays, 2018).

Вплив поля, яке генерується високовольтними лініями електропередач, на розвиток мишей. Vallejo D. і Hidalgo M.A. (2012) в декількох поколіннях вирощували мишей на магнітному полі, яке відповідає полю, що генерується лініями високовольтних електропередач (тобто на синусоїдальному магнітному полі напруженістю 15 мкТл і частотою коливань 50 Гц).

Отримані авторами роботи дані свідчать про те, що синусоїдальне електромагнітне поле інтенсивністю 15 мкТл і частотою 50 Гц здатне прискорити ростові процеси на ранніх постнатальних етапах розвитку мишей. При цьому криві росту зміщуються до більш раннього віку мишей.

Такий електромагнітний вплив може бути причиною прискорення процесу старіння у піддослідних мишей у порівнянні з контрольною групою тварин, які вирощувалися в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі (Vallejo & Hidalgo, 2012).

Низькочастотне електромагнітне поле призводить до незворотного порушення ембріогенезу у курчат. Відомо, що слабкі низькочастотні імпульсні магнітні поля спроможні негативно впливати на ранній ембріональний розвиток тварин.

Ubeda A. з колегами (1994) піддавали запліднені яйця курей впливу низькочастотним імпульсним магнітним полем (частотою 100 Гц, амплітудою від піку до піку 1,0 мкТл і тривалістю імпульсу 500 мкс) протягом перших 48 год інкубації яєць після їх запліднення. У дослідженні були використані дві різні форми імпульсу, час наростання і спаду яких становив 85 мкс (PMF-A) або 2,1 мкс (PMF-B).

Попередні дослідження показали, що при 2-х денному впливі тестовані поля значно збільшують частку відхилень у розвитку курчат. В роботі Ubeda A. з колегами (1994) після впливу експериментальним магнітним полем яйцеклітини залишали для інкубації протягом додаткових 9 днів в умовах відсутності низькочастотного імпульсного магнітного поля.

Проведений аналіз показав, що кожна з двох експериментальних груп, які зазнали впливу низькочастотним імпульсним магнітним полем, показала перевищення відсотка аномалій розвитку в порівнянні з відповідними екранованими зразками (тобто з контролем).

Цей надлишок аномалій не був статистично значущим для ембріонів, оброблених полем PMF-A, але він був значущим для групи, що зазнала впливу поля PMF-B. Саме ця група показала особливо високий рівень ранньої загибелі ембріонів.

Отримані результати свідчать про те, що низькочастотні імпульсні магнітні поля спроможні викликати незворотні зміни в розвитку курчат і підтверджують, що форма імпульсу може бути визначальним фактором в реакції зародка на низькочастотне імпульсне магнітне поле (Ubeda et al., 1994).

Низькочастотні магнітні поля показали генотоксичну дію в мікроядерному тесті на рослинах традесканції. Низькочастотні електричні і магнітні поля генеруються в процесі виробництва, передачі і використання електричної енергії. Епідеміологічні дослідження свідчать про те, що існує ризик розвитку ракових пухлин при експозиції організмів на низькочастотних магнітних полях. При цьому дані генотоксичних тестів з використання бактерій і клітин ссавців дають суперечливі результати.

Fatigoni C. з колегами (2005) досліджували можливий генотоксичний вплив низькочастотних магнітних полів з використанням мікроядерного тесту на рослинах традесканції - це один з найбільш чутливих, відтворюваних і добре стандартизованих тестів на генотоксичні чинники.

Вчені в лабораторних умовах генерували низькочастотні магнітні поля (частота 50 Гц, напруженість 1 мТл) і експонували на них рослини традесканції протягом 1 год, 6 год і 24 год. Отримані результати свідчать про те, що поля частотою 50 Гц і напруженістю 1 мТл є генотоксичними в мікроядерному тесті на традесканції (Fatigoni et al., 2005).

Регенерація планарій гальмується в комбінованому електромагнітному полі, що складається з постійного і змінного полів. Низькочастотні електромагнітні поля впливають на клітинну сигналізацію. Jengow K.A. з колегами (1995) показали, що регенерація планарій залежить від впливу електромагнітних полів.

Було встановлено, що швидкість регенерації головного відділу планарій, яка відбувається в умовах одночасного впливу постійного магнітного поля, напруженістю 78,4 мТл і змінного електромагнітного поля частотою 60,0 Гц і напруженістю 10,0 мТл, була достовірно затримана на 48 ± 1 год порівняно з контрольними популяціями, на які діяло лише геомагнітне поле Землі (середній час регенерації яких становив, приблизно, 140 ± 12 год).

Було показано, що затримка в регенерації залежала від фіксованої орієнтації планарій по відношенню до векторів магнітного поля.

Авторами роботи був зроблений висновок про те, що виявлений ефект гальмування процесу регенерації голови планарій є результатом пригнічення подій на ранній стадії

процесу регенерації - до початку поділу і спеціалізації клітин. Можливо – на етапі початкової передачі клітинних сигналів (Jenrow et al., 1995).



Рис. 15. Планарія *Dugesia* (<https://en.wikipedia.org/wiki/Dugesia>).

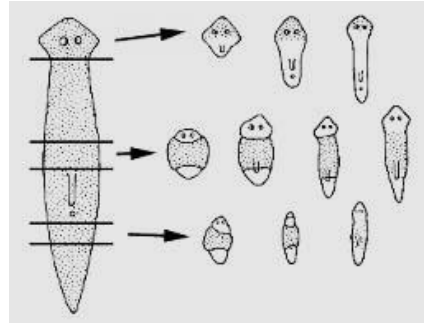


Рис. 16. Регенерація планарії після відсікання окремих частин тіла (<https://www.google.com.ua/search?q=Dugesia+tigrina>).

Вплив зовнішніми низькочастотними електромагнітними полями призводить до аномалій в регенерації планарій. Jenrow К.А. з колегами (1996) було встановлено, що зовнішні низькочастотні поля призводять до аномалій в регенерації планарій. Так, одночасний вплив зовнішнього низькочастотного поля і геомагнітного поля Землі - затримує регенерацію головного відділу планарій. Jenrow К.А. з колегами (1996) вважають, що причина - в ефекті резонансу. Крім того, часто спостерігаються пухлиноподібні аномалії (при зовнішньому штучному полі частотою 60 Гц, інтенсивністю 1-80 мкТл). Ці аномалії призводять до дезагрегації організму. Штучне магнітне поле у відсутності геомагнітного поля Землі - також здатне призводити до появи таких аномалій (Jenrow et al., 1996).

Близьконульове геомагнітне поле Землі, а також слабе змінне електромагнітне поле, резонансне з полем іонів кальцію, стимулювало регенерацію планарій. Проблемою дослідження дії слабких електромагнітних полів на живі організми є суперечливість даних, які отримуються різними дослідницькими групами, і мала кількість успішних повторних незалежних експериментів. Однією з причин є те, що фізіологічні параметри живої системи змінюються під час експерименту навіть у відсутності будь-якого впливу. На молекулярному рівні зміна фізіологічного стану живої системи пов'язана зі зміною ферментативної активності.

Тірас Х.П. з колегами (2014) досліджували вплив слабких електромагнітних полів на регенерацію планарій. Після відсікання головного кінця, планарій поміщали в камери з різним рівнем екранування геомагнітного поля: природне геомагнітне поле 50 мкТл, екрановані поля 0,37 мкТл, 3,8 мкТл, 9,1 мкТл і «магнітний вакуум» 0,00005 мкТл. Біологічний ефект слабких електромагнітних полів автори роботи розраховували як різницю коефіцієнтів регенерації в піддослідних REx і контрольних RC групах через 72 години після декапітації.

Екранування геомагнітного поля більш ніж в 100 разів - практично не впливало на регенерацію планарій. Однак, ослаблення геомагнітного поля майже в 10 000 разів (т.зв. «магнітний вакуум») викликало достовірне збільшення біологічного ефекту (тобто, сприяло посиленню регенерації планарій).

Отримані результати свідчать про те, що слабкі магнітні поля, які досліджувалися (як статичні, так і Са-КМП, т.т. слабкі комбіновані магнітні поля, налаштовані на циклотронну частоту іона Ca^{2+}), були спроможними не тільки стимулювати, а й гальмувати регенерацію, а при певній тривалості експозиції - взагалі не впливати на процес регенерації (див. рис). Це означає, що загальне поняття «стимулююче поле» або «гальмуюче поле» не може бути використане для характеристики слабого електромагнітного поля.

*NB! Циклотронна частота - це частота обертання зарядженої частинки в постійному магнітному полі H в площині, перпендикулярній магнітному полю H (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

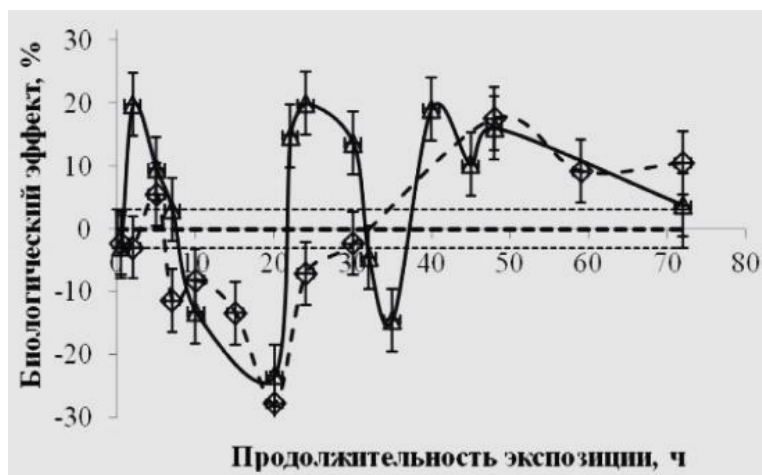


Рис. 17. Залежність біологічного ефекту від тривалості безперервної експозиції в слабкому Ca-КМП полі (трикутники) і в умовах «магнітного вакууму» (ромби). По горизонталі - тривалість експозиції, години; по вертикалі - біологічний ефект, ΔR . Значенням коефіцієнта регенерації RC при природному рівні геомагнітного поля Землі 50 мкТл відповідає нульова лінія; величина стандартного відхилення позначена пунктирними лініями. Біологічний ефект розраховували як різницю коефіцієнтів регенерації в піддослідних REx і контрольних RC групах через 72 години після декапітації планарій. Збіг кривих біологічного ефекту для слабого Ca-КМП поля і «магнітного вакууму» свідчить про вирішальну роль фази регенерації планарій в чутливості тварин до дії електромагнітних полів (Тірас та ін., 2014).

Для пояснення зміни чутливості планарій, які регенерують, до слабких магнітних полів, Тірас Х.П. з колегами (2014) припустили, що в різних фазах регенерації мішенями для слабких статичних магнітних полів ($BDC \approx 0,05$ нТл) або для слабких комбінованих полів ($BDC \approx 50$ мкТл, $BAC \approx 92$ мкТл, $f_n \approx 38$ Гц) можуть бути різні ферменти. Зокрема, вважають, що фазний характер величини біологічного ефекту при 30-хвилинній експозиції після декапітації, як для «магнітного вакууму», так і для слабких Ca-КМП, пов'язаний, з клітинним циклом стовбурових клітин. На користь цього припущення свідчать криві кількості стовбурових клітин, що знаходяться в фазі мітозу у планарій *Schmidtea mediterranea* після декапітації.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що в процесі регенерації чутливість планарій істотно змінювалася як до дії слабого Ca-КМП поля, так і до дії «магнітного вакууму». При цьому ефекти Ca-КМП і «магнітного вакууму» мали багато спільного. Вважають, що ендогенним фактором, який істотно впливає на результат дії магнітного поля на живий об'єкт, може бути множинність ферментативних мішеней для слабких магнітних полів, які активуються і чергуються в різні фази процесу регенерації планарій.

Проведені авторами роботи дослідження показали, що результат впливу слабкими магнітними полями на живі організми залежить не тільки від фізичних параметрів поля, але і від патерну ферментативної активності живого організму під час експозиції. Отримані результати в цілому узгоджуються з тим, що екзогенні електромагнітні поля взаємодіють одночасно з багатьма ендогенними полями електронів, іонів, ядер і молекул, а біологічний ефект, що спостерігається на рівні клітини, тканини або організму, є суперпозицією всіх перерахованих ефектів (Тірас та ін., 2014).

Комбінація постійного і змінного магнітного полів (але не кожного з полів окремо) порушує кальцієву сигналізацію в клітинах. Експериментальне підтвердження справедливості теорії резонансу зовнішніх електромагнітних полів з ендогенними клітинними полями. Yost M.G. і Liburdy R.P. (1992) тестувалася гіпотеза, згідно з якою

екстремально низькочастотні магнітні поля діючи спільно зі статичними магнітними полями здатні вплинути на кальцієву сигналізацію в лімфоцитах.

Отримані експериментальні дані свідчать про те, що 60 хвилинна експозиція лімфоцитів при $+37^{\circ}\text{C}$ на низькочастотному змінному магнітному полі (частотою 16 Гц, напруженістю 42,1 мкТл) одночасно з дією статичного магнітного поля (23,4 мкТл) пригнічує потік кальцію, запущений мітогеном конкаваліном А. Лімфоцити не активовані конкаваліном - не показали відповіді на дію магнітних полів. Таким чином, тільки мітоген-активовані клітини із запущеною кальцієвою сигналізацією проявили відповідь на дію магнітних полів.

Отримані Yost M.G. і Liburdy R.P. (1992) дані свідчать про те, що трансдукція сигналів, в якій задіяний кальцій, є важливим біологічним обмеженням, яке опосередковує взаємодію електромагнітного поля з клітинами. Цікаво відзначити, що окремо ні змінні, ні постійні поля - не створювали ефекту, описаного вище. Тільки комбінація змінного поля і постійного поля впливала на кальцієву сигналізацію в клітинах.

Отримані результати узгоджуються з параметричною резонансною теорією взаємодії низько-інтенсивного магнітного поля з біологічними системами (теорія Л.Л. Леднева). Ця теорія передбачає існування специфічних біологічних ефектів для певних частот і інтенсивностей екстремально низькочастотного магнітного поля і статичного магнітного поля (Yost & Liburdy, 1992).

Низькочастотні електромагнітні поля здатні або посилювати, або зменшувати знеболюючий ефект у наземних равликів в залежності від характеристик поля і умов освітлення. Результати досліджень анальгезії (знеболення), викликані низькочастотним електромагнітним полем і опосередкованої опіюїдним пептидом, дозволили припустити, що ці ефекти магнітного поля описуються механізмом резонансу.

Prato F.S. з колегами (2000) в даному дослідженні показали, що низькочастотні магнітні поля (пік 141-414 мкТл) спроможні, відповідно до параметричної резонансної моделі Леднева для іонів кальцію: (i) послаблювати, (ii) не впливати або (iii) посилювати опосередковану ендogenous опіюїдами анальгезію у наземних равликів *Cepaea nemoralis*.

Коли параметри магнітного поля були перевстановлені відповідно до параметрів резонансної моделі для іонів калію - анальгезія, опосередкована опіюїдним пептидом, посилювалася, і проявився антагонізм блокатора K^+ -каналів, глібенкламіда. Крім того, ці ефекти були відсутні, якщо було відсутнє освітлення.



Рис. 18. Наземний лісовий равлик (*Cepaea nemoralis*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Виявлене в роботі Prato F.S. з колегами (2000) посилення або зниження опіюїдної анальгезії в присутності низькочастотного електромагнітного поля в значній мірі відповідає прогнозам резонансної моделі Леднева (Prato et al., 2000).

Сприйняття болю організмом залежить від присутності геомагнітного поля Землі і на це сприйняття впливає видиме світло. На орієнтацію в просторі і больову чутливість (ноціцепцію) організмів впливають постійне геомагнітне поле Землі і низькочастотні (<1000 Гц) змінні магнітні поля, з напруженістю, яка приблизно дорівнює напруженості поля Землі, тобто 50 мкТл. При цьому означений ефект часто залежить від одночасної присутності видимого світла.

Нещодавно було показано, що в світловій фазі добового циклу у мишей порушується сприйняття болю при екрануванні їх від магнітного поля Землі в умовах темряви ($<0,05 \text{ Вт/м}^2$). Koziak A.M. з колегами (2006) було встановлено, що якщо миші піддаються екрануванню геомагнітного поля Землі в присутності видимого світла ($0,6 \text{ Вт/м}^2$, 400-750 нм), то більшість ефектів екранування усуваються (Koziak et al., 2006).

В ряді досліджень було показано, що імпульсне електромагнітне поле знижує больові відчуття, тобто викликає анальгезію, знеболюючий ефект. Тоді як безперервне синусоїдальне електромагнітне поле - підвищує чутливість організму до болю.

При цьому було встановлено, що одночасний вплив світла і електромагнітних полів - модифікує сприйняття болю. Цікаво відзначити, що багато тварин здатні використовувати геомагнітне поле Землі для орієнтації в просторі тільки за умови повного світлового спектру або коротких світлових хвиль. Однак, не у всіх тварин орієнтація в геомагнітному полі Землі модулюється видимим світлом.

В ході експериментів, проведених в темряві, було показано, що екранування мишей від електромагнітного поля усувало викликану стресом анальгезію. У мишей, яких піддавали екрануванню від електромагнітного поля, в перші 1-2 дні було виявлено посилення сприйняття болю. Однак в наступні дні було виявлено зниження сприйняття болю.

Вважають, що ці ефекти були пов'язані з ефективністю роботи нейронів знеболювання і з продукуванням (або сприйняттям) ендогенних опіоїдів (ендорфінів). *NB! Є дані, що під час магнітних бур часто не діють знеболюючі препарати (як мінімум - вони менш ефективні).

Koziak A.M. з колегами (2006) було встановлено, що зниження сприйняття болю на 3-7 дні експерименту, скасовується, якщо вплив проводити в середовищі зі світлом, а не в темряві. Тоді як підвищене сприйняття болю в 1-2 дні експерименту в присутності світла - знижується або не змінюється.

Отримані дані свідчать про те, що механізми орієнтації тварин в геомагнітному полі Землі і механізми впливу електромагнітних полів на сприйняття болю - можуть мати подібну основу, оскільки вони модулюються присутністю світла під час впливу електромагнітних полів (Koziak et al., 2006).

Статичні магнітні поля високої напруженості, які використовуються в медичному обладнанні

Вплив інтенсивного статичного магнітного поля на клітини організмів. В медичному обладнанні певних типів використовують магнітні поля високої напруженості. Одним з питань, яке цікавить фахівців, є те, чи викликають означені поля пошкодження в ДНК, які, зокрема, можна оцінити шляхом визначення частоти утворення мікроядер: наявність або відсутність таких мікроядер може підтвердити, чи пошкоджує конкретна обробка клітинну ДНК. Завдяки використанню даного методу було показано, що саме по собі інтенсивне статичне магнітне поле не викликає накопичення мікроядер в клітинах. Однак частота утворення мікроядер значно зростає, коли деякі види обробки (наприклад, рентгенівське опромінення) проводяться до впливу статичним магнітним полем 10 Тл.

Крім того, було встановлено, що обробка слідовими кількостями іонів двовалентного заліза в середовищі для культивування клітин і вплив статичного магнітного поля збільшують пошкодження ДНК, яке виявляється за допомогою кометного аналізу. Цікаво також відзначити, що в ряді робіт було виявлено, що сильне магнітне поле може викликати явище орієнтації в клітинній культурі (за оглядом Miyakoshi, 2005).

Медичні прилади, які генерують гіпермагнітне поле (4 Тл), і робота мозку. В діагностичному медичному обладнанні може створюватися дуже інтенсивне магнітне поле. МРТ є основним інструментом для картування функції мозку; таким чином, важливо оцінити потенційний вплив на нейронну активність мозку статичних магнітних полів, які генеруються в процесі роботи даного приладу.

Volkow N.D. з колегами (2000) використовували позитронно-емісійну томографію (PET) і (18)-F-дезоксиглюкозу ((18) FDG) для вимірювання метаболізму глюкози в мозку

(вимір функції мозку) у 12 пацієнтів, в той час як їх голови перебували в полі МРТ приладу, напруженістю 4 Тл, під час засвоєння (18)-F-дезоксиглюкози.

Проведені дослідження показали, що і гіпермагнітне поле медичного приладу (4 Тл), і симульована відсутність магнітного поля (0 Тл) - знижують метаболічну активність мозку. Однак, Volkow N.D. з колегами (2000) вважають, що виявлене зниження метаболічної активності мозку в умовах гіпермагнітного поля МРТ-приладу пов'язано з відмінностями в полях зору, використаних в роботі приладів. Автори роботи прийшли до висновку, що статичне магнітне поле в 4 Тл саме по собі не впливає на цю досить чутливу міру мозкової активності (Volkow et al., 2000).

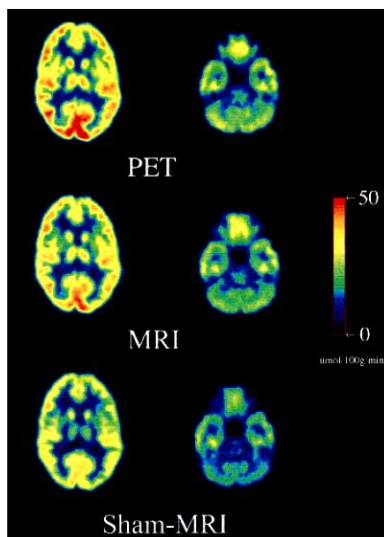


Рис. 19. PET-зображення метаболізму глюкози в головному мозку (18FDG) на рівні потиличної кори і мозочка у одного з добровольців, випробовуваних в умовах PET, МРТ (MRI) і симуляції МРТ (MRI). Зверніть увагу на більш високу швидкість метаболізму потиличної кори в ПЕТ, ніж в реальному (4 Тл) або фіктивному (0 Тл) середовищі МРТ. Також зверніть увагу на низький рівень метаболізму мозочка в фіктивному середовищі МРТ (Volkow et al., 2000).

Вплив потужного статичного магнітного поля на розвиток організмів. В сучасних медичних приладах часто використовується дуже потужне статичне магнітне поле, яке у багато тисяч разів перевищує геомагнітне поле Землі. Однак, механізми впливу такого поля на живі організми на сьогоднішній день практично не вивчені.

Наприклад, морфогенез мушок дрозофіл (*Drosophila melanogaster*) був порушений після впливу сильного статичного магнітного поля 4,5 мТл, крім того - підвищилася смертність яєць, личинок і лялечок цих комах (Ramirez et al., 1983). Після впливу однорідного магнітного поля напруженістю 3,7 Тл у мушок збільшилася кількість випадків появи рецесивних летальних мутацій, пов'язаних зі статтю (Kale & Vaum, 1980).



Було також встановлено, що сильне статичне магнітне поле (375 мТл) викликає порушення розвитку і виживання лялечок медоносної бджоли і лялечок жовтого мучного хробака (*Tenebrio molitor*) (Prolic & Jovanovic, 1986).

Метаморфоз лялечок *Tenebrio molitor* на дорослу тварину протікав швидше за наявності магнітного поля напруженістю 320 мТл, а тривалість життя у дорослих жуків *Tenebrio molitor* була більш короткою (Prolic & Nenadovic, 1995).

Сильне статичне магнітне поле порушує розвиток круглих черв'яків внаслідок запуску магнітним полем окисного стресу в клітинах організму, що формується. Wang L. з колегами (2015) впливали на яйця круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans* сильним статичним магнітним полем інтенсивністю 8,5 Тл, що призвело до зменшення тривалості життя круглих черв'яків, тоді як при впливі полем, напруженістю в 5 Тл, - спостерігалися тільки незначні зміни. При цьому інтенсивне статичне магнітне поле напруженням в 8,5 Тл не впливало на розмір потомства, проте, швидкість і стадії розвитку черв'яків були значно змінені.

За умови дії інтенсивного магнітного поля - збільшувалися випадки смерті зародкових клітин, яким можна було запобігти, якщо одночасно проводити обробку диметилсульфоксидом - речовиною, яка поглинає вільні радикали. Крім того, вплив статичного магнітного поля інтенсивністю 8,5 Тл збільшив синтез білка супероксиддисмутази-3, який захищає клітини від окисативного стресу.

В цілому, отримані Wang L. з колегами (2015) результати показали, що негативний вплив сильного статичного магнітного поля на розвиток круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans* пов'язаний з формуванням в їх клітинах умов окисативного стресу (Wang et al., 2015).

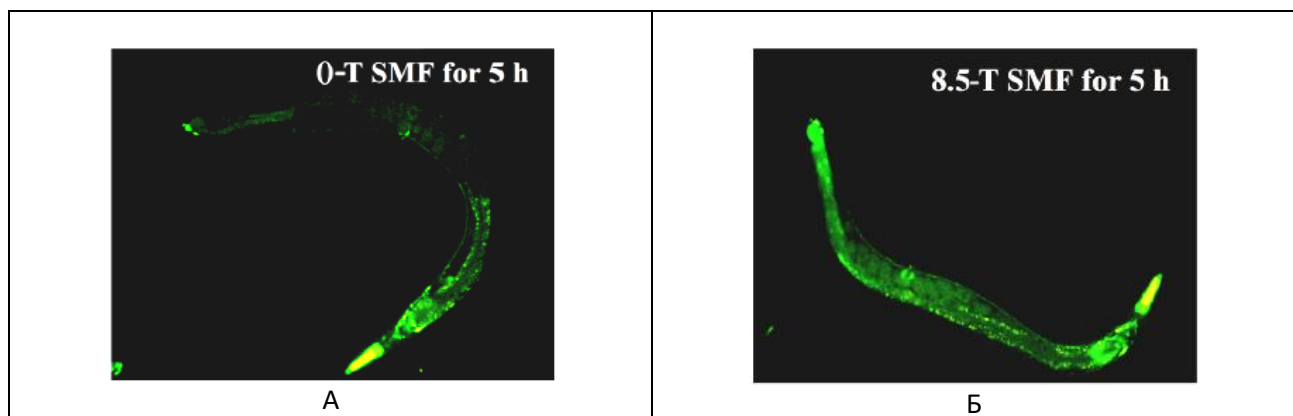


Рис. 23. Синтез білка супероксид-дисмутази в клітинах круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans* в контрольних умовах (без впливу зовнішнього статичного поля) (А) і після 5 год впливу магнітним полем, інтенсивністю 8,5 Тл (Б). Посилення синтезу цього білка в умовах дії інтенсивного статичного магнітного поля свідчить про умови окисативного стресу в клітинах черв'яків (Wang et al., 2015).

Laszlo J. і Gyires K. (2009) було встановлено, що сильне статичне магнітне поле (напруженістю 3 Тл) пригнічує біль у мишей (Laszlo & Gyires, 2009).

При напруженості статичного магнітного поля в 0,75 Тл - в нейронах активуються сигнальні каскади, пов'язані з диференціацією (спеціалізацією) клітин. Однак, при подальшому зростанні напруженості магнітного поля - посилюється активність JNK-кінази, пов'язаної зі стресовою відповіддю клітин. Вважається, що сильні однорідні магнітні поля, зокрема, такі, які створюються в ході магнітно-резонансної томографії (МРТ), не мають значного впливу на роботу клітин. Prina-Mello A. з колегами

(2006) були виявлені зміни сигнальних каскадів в коркових нейронах щурів, культивованих протягом 1 години в магнітних полях напруженістю до 5 Тесла.

Зокрема, було встановлено, що активація с-Jun N-термінальної кінази (JNK) посилюється зі зростанням напруженості поля, з максимальною активацією приблизно в 10% при 5 Тл, тоді як активація екстраклітинно регульованої кінази (ERK) показує максимум при 0,75 Тл (приблизно 10%). Оскільки ERK бере участь в клітинній диференціації, ці результати вказують на те, що статичне магнітне поле індукує сигнальні події, пов'язані з диференціюванням.

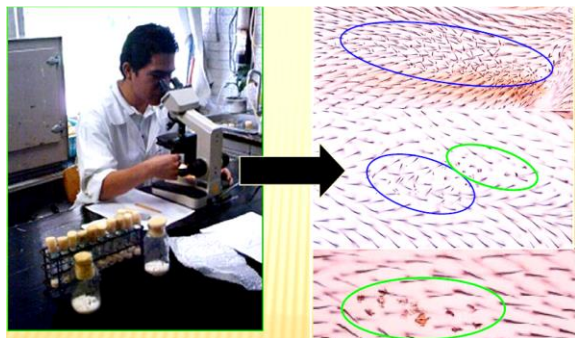
Однак при подальшому збільшенні напруженості магнітного поля - у клітин розвивається стресова реакція, оскільки JNK є протеїнкіназою, яка активується стресом. Вважають, що статичне магнітне поле змінює потенціал спокою мембрани нейронів (Prina-Mello et al., 2006).

Генотоксичний ефект сильного магнітного поля, встановлений на мушках дрозофілах. Для оцінки можливої мутагенної дії сильного статичного магнітного поля (до 14 Тл), Takashima Y. з колегами (2004) вивчали результати впливу магнітного поля значної напруженості на личинок мушок дрозофіл (*Drosophila melanogaster*) різних ліній.

Було виявлено, що дія статичними магнітними полями напруженістю 2 Тл, 5 Тл або 14 Тл протягом 24 год викликала значне збільшення частоти соматичних рекомбінацій між гомологічними хромосомами у мушок лінії *mei-41*, які мали дефекти в постреплікативній репарації ДНК.

Слід зазначити, що додавання антиоксиданту - знімало ефект накопичення мутацій, що вказує на ключову роль вільних радикалів в формуванні порушень в структурі ДНК під впливом статичного магнітного поля високої напруженості (Takashima et al., 2004).

*NB! Автори проводили експерименти з використанням SMART-біотеста на крильцях дрозофіл (т.зв. the wing-spot test), в ході якого під мікроскопом виявляють зміни у формуванні волосків на крильцях дрозофіл. Це - єдиний біотест на генотоксичність факторів навколишнього середовища, який дозволяє виявити соматичні рекомбінації в ДНК, що ведуть до ракового переродження клітин.



(цитовано Heres-Pulido M.E. Somatic mutation and recombination test (SMART) in *Drosophila melanogaster*).

Рис. 25. В ході SMART-біотеста під мікроскопом на крильцях мушок дрозофіл виявляють локальні зміни у формуванні волосків, що свідчить про соматичні рекомбінації між гомологічними хромосомами, які відбулися в ДНК личинок мушок дрозофіл під час їх розвитку.

(за <https://www.omicsonline.org/abstract/the-somatic-mutation-and-recombination-test-smart-in-drosophila-melanogaster>).

Тератогенний ефект впливу сильного магнітного поля на мишей. Saito K. з колегами (2006) експонували вагітних самок мишей на статичному полі напруженістю 400 мТл і досліджували появи вад розвитку у мишенят.

Серед виявлених вад розвитку були полідактилізм (багатопапість), тріщини в черевній порожнині, плавлене ребро, рудиментарне 13 ребро, поперекове ребро, грижа головного мозку і скручений хвіст, в той час як в контрольній групі був виявлений тільки низький рівень скручених хвостів (до 2,8%) (Saito et al., 2006).

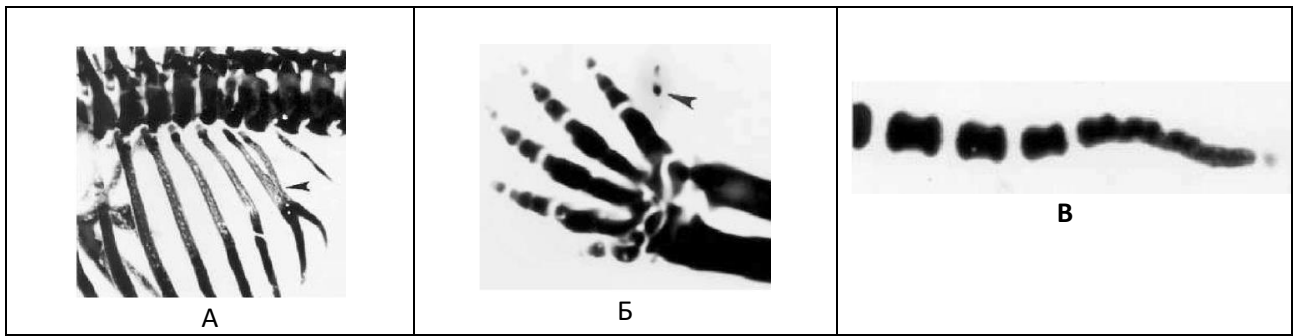


Рис. 24. Вплив статичного магнітного поля напруженістю 400 мТл протягом 1 год: (А) - на 13,5 день вагітності самок мишей призвів до злиття 12-го та 13-го ребер у мишенят (вказано стрілкою); (Б) на 9,5 день вагітності самок - призвів до формування у мишенят зайвого пальця (полідактилія) (вказано стрілкою); (В) - на 10,5 день вагітності самок - призвів до розвитку у мишенят т.зв. скрученого хвоста (Saito et al., 2006).

Само по собі інтенсивне магнітне поле не є мутагеном, однак, воно стає ко-мутагеном при спільній дії з деякими хімічними мутагенами. Ikehata M. з колегами (1999) використовували бактеріальні тест-системи *Salmonella typhimurium* (лінії TA98, TA100, TA1535 і TA1537) і *Escherichia coli* (лінія WP2 *uvrA*) для оцінки можливого мутагенного ефекту сильних статичних магнітних полів (до 5 Тл). Проведені дослідження не виявили мутагенності сильних магнітних полів (до 5 Тл) ні в тесті з бактеріями мишачої сальмонели, ні в тесті з бактеріями кишкової палички.

*NB! В бактеріальних тестах на мутагенність використовуються лінії бактерій, мутантні по життєво важливим генам і не здатні в звичайних умовах рости на поживних середовищах. Однак, в присутності мутагенних чинників середовища, можлива поява зворотних мутацій, які відновлюють життєздатність бактерій. За появою на поживних середовищах колоній-ревертантів і судять про мутагенність того чи іншого фактора середовища.

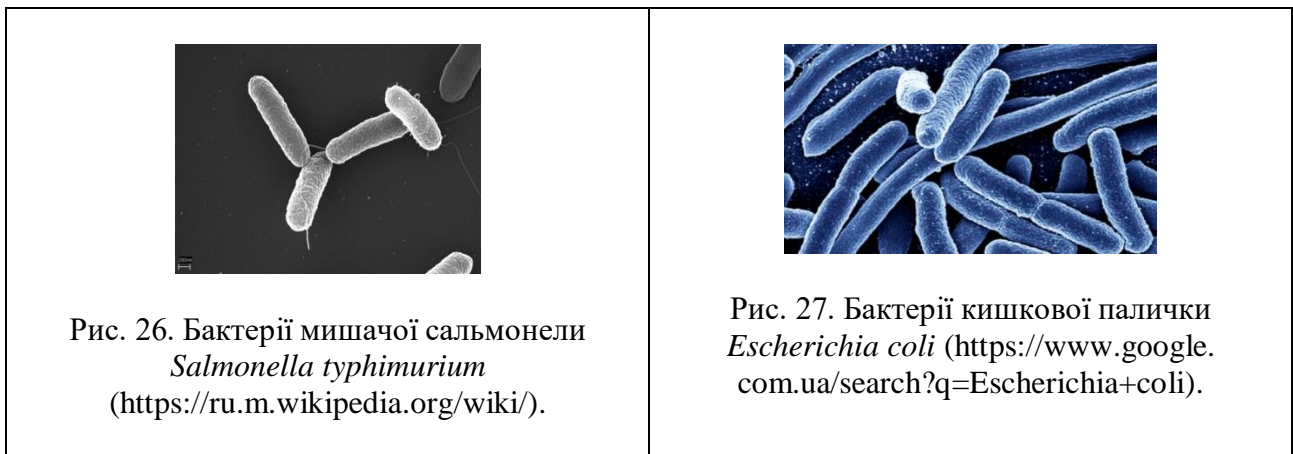


Рис. 26. Бактерії мишачої сальмонели *Salmonella typhimurium* (<https://ru.m.wikipedia.org/wiki/>).

Рис. 27. Бактерії кишкової палички *Escherichia coli* (<https://www.google.com.ua/search?q=Escherichia+coli>).

Однак, тест на ко-мутагенність з використанням клітин кишкової палички лінії *E. coli* WP2 *uvrA* виявився позитивним. Тобто, одночасний вплив відомими хімічними мутагенами і сильним статичним полем (2 Тл, 5 Тл) посилив рівень мутагенності хімічних речовин в порівнянні з експериментами у відсутності статичного магнітного поля. При цьому слід зазначити, що ефект залежав від типу хімічного мутагена: для одних хімічних речовин ко-ефект проявився, а для інших - ні.

У чому полягають можливі механізми ко-мутагенності магнітних полів і хімічних мутагенів? Відомо, що хімічні мутагени в процесі їх метаболізму в клітинах здатні утворювати проміжні вільно-радикальні структури, які призводять до хімічного мутагенезу і канцерогенезу. При цьому взаємодія неспарених електронів таких вільно-радикальних структур зі статичними магнітними полями може вплинути на мутагенність цих хімічних речовин (Ikehata et al., 1999).

Інтенсивне магнітне поле напруженістю 4,7 Тл посилює пероксидацію ліпідів в клітинах печінки мишей і збільшує гепатотоксичність, викликану введенням тетрахлориду вуглецю CCl_4 . Для встановлення біологічної дії статичних магнітних полів, Watanabe Y. з колегами (1997) проводили вимірювання рівнів перекисного окислення ліпідів в клітинах печінки, нирок, серця, легенів і мозку мишей, які зазнали впливу статичного магнітного поля, а також проводили оцінку комбінованого впливу статичного магнітного поля на гепатотоксичність, індуковану обробкою тетрахлоридом вуглецю (CCl_4).

Отримані Watanabe Y. з колегами (1997) дані свідчать про те, що при впливі статичного магнітного поля інтенсивністю 4,7 Тл протягом 3, 6, 24 або 48 год перекисне окислення ліпідів значно посилюється в клітинах печінки, тоді як в нирках, серці, легенях і мозку - не змінюється в порівнянні з контролем.

Одночасна дія тетрахлоридом вуглецю CCl_4 і інтенсивним статичним магнітним полем призвела до збільшення перекисного окислення ліпідів в печінці, яке перевищувало рівень окислення, викликаний одним з цих методів впливу.

Отримані дані свідчать про те, що вплив сильного статичного магнітного поля викликає перекисне окислення ліпідів в печінці мишей і посилює гепатотоксичність, спричинену введенням CCl_4 (Watanabe et al., 1997).

План дроблення ембріонів жаб *Xenopus* змінюється в сильному магнітному полі.

Відомо, що після запліднення - яйця шпорцевих жаб *Xenopus* орієнтують свою анімально-вегетативну (AV) вісь паралельно гравітаційному полю Землі і ініціюють дроблення яйця як серію синхронних клітинних поділів.

Перші три поділи дроблення зазвичай орієнтовані ортогонально, тобто, відбуваються під прямим кутом один до одного: перша площина поділу є вертикальною і проходить через анімально-вегетативну вісь AV; друга площина поділу також є вертикальною і проходить через вісь AV, але вже під прямим кутом до першої площини поділу; третя площина поділу розташована горизонтально, паралельно і трохи вище екватора яйця і перпендикулярно першим двом площинам поділу. При цьому площина поділу клітин визначається орієнтацією мітотичного веретена поділу клітин.

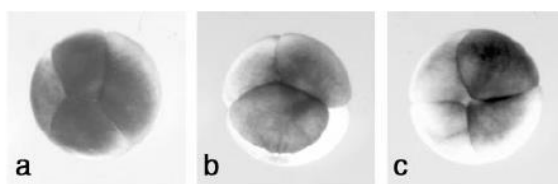
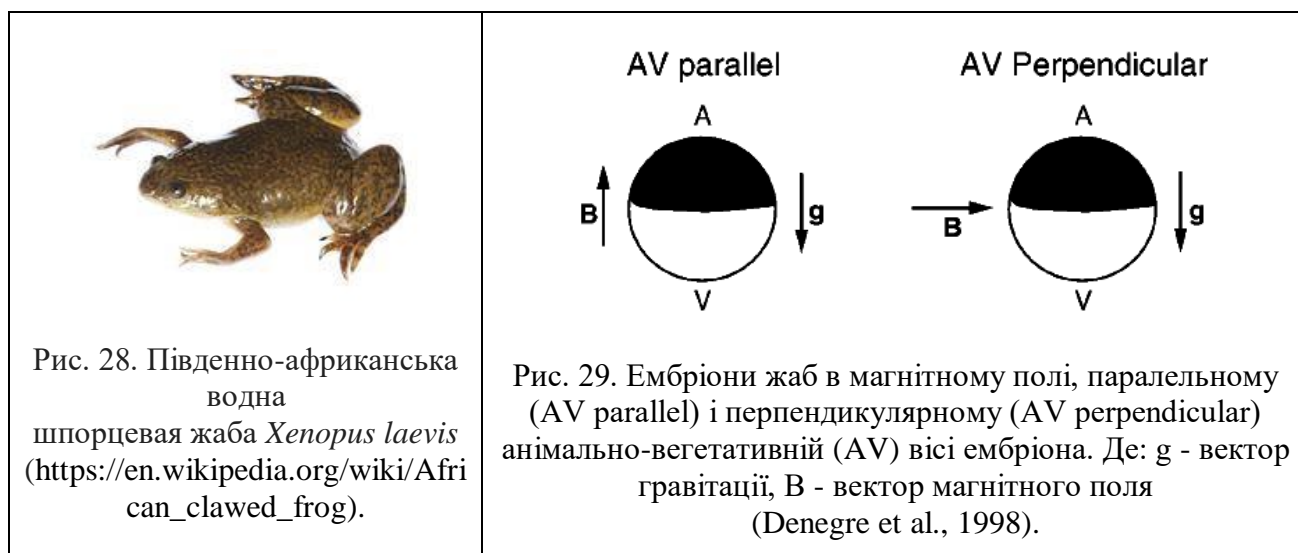


Рис. 30. Можливі варіанти орієнтації площини другого поділу дроблення у ембріонів жаб *Xenopus*, в умовах дії магнітного поля, перпендикулярного анімально-вегетативній (AV) вісі

ембріона. Де: (а) - другий поділ дроблення ембріона відбувається під нахилом до площини першого поділу; (В) - другий поділ дроблення ембріона відбувається в горизонтальній площині; (С) - другий поділ дроблення ембріона відбувається в звичайній нормальній орієнтації (Denegre et al., 1998).

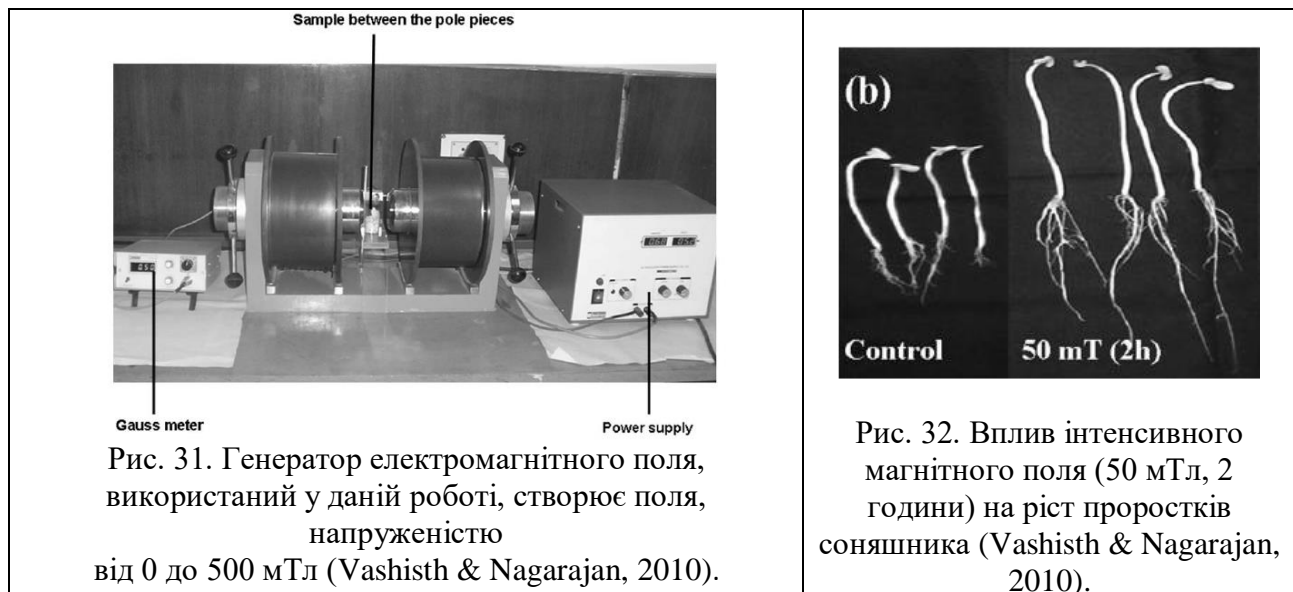
Denegre J.M. з колегами (1998) було встановлено, що третій поділ дроблення в ембріонах жаб *Xenopus*, в нормі орієнтований горизонтально, в сильному статичному магнітному полі був орієнтований вертикально - паралельно силовим лініям магнітного поля. Крім того, було показано, що другий поділ дроблення - зазвичай орієнтований вертикально, в присутності сильного статичного магнітного поля може бути переорієнтований при додаванні горизонтального магнітного поля.

Denegre J.M. з колегами (1998) вважають, що такий вплив сильного статичного магнітного поля на геометрію дроблення ембріонів жаб пов'язаний з впливом магнітного поля на орієнтацію мітотичного апарату клітин. При цьому, є припущення, що магнітне поле діє безпосередньо на мікротрубочки мітотичного апарату.

Таким чином, отримані Denegre J.M. з колегами (1998) дані свідчать про те, що статичні магнітні поля здатні впливати на фундаментальні клітинні процеси, такі, як поділ клітин (Denegre et al., 1998).

Експозиція насіння соняшнику на постійному магнітному полі поліпшила проростання і ріст проростків. У ряді досліджень було показано, що сильні магнітні поля в діапазоні напруженостей поля від 1,5 мТл до 250 мТл мають позитивний ефект на проростання насіння і ріст проростків різних видів рослин, підвищують біомасу і врожайність рослин.

Так, Vashisth A. і Nagarajan S. (2010) піддавали насіння соняшнику (*Helianthus annuus*) впливу статичних магнітних полів напруженістю від 0 до 250 мТл протягом 1-4 год.



Отримані результати свідчать про те, що обробка насіння соняшнику постійними магнітними полями збільшувала швидкість проростання, довжину проростків і їх суху масу.

Подальші дослідження Vashisth A. і Nagarajan S. (2010) показали, що в проростаючому насінні соняшнику ферментативна активність альфа-амілази, дегідрогенази і протеази були значно вищими в обробленому насінні в порівнянні з контролем. Таким чином, очевидно, більш швидке проростання і рання сила проростків в варіантах, оброблених магнітним полем, може бути пов'язана з більш високою активністю ферментів в насінні соняшнику (Vashisth & Nagarajan, 2010).

Підвищення стійкості рослин до абіотичних і біотичних стресорів під впливом статичного магнітного поля. Було встановлено, що обробка магнітними полями впливає на

стійкість рослин до біотичних і абіотичних стресорів. Наприклад, експонування насіння пшениці і звичайних бобів на магнітному полі напруженістю 7 мТл протягом 7 днів поліпшило ріст проростків і відсоток проростання навіть при сольовому стресі. Обробка насіння магнітними полями (100 мТл протягом 10 хв або 170 мТл протягом 3 хв) значно затримувала появу симптомів ранньої гнилі (викликаной *Alternaria solani*) і гемівірусу; більш того, така обробка знизилася рівень зараження рослин ранніми хворобами.

Яким є можливий механізм позитивного впливу статичних магнітних полів на рослини? Відомо, що живі організми, і в тому числі рослини, самі генерують і використовують в процесі своєї життєдіяльності різні електромагнітні поля. Вважають, що зовнішні електромагнітні поля взаємодіють з ендogenousними електромагнітними полями і таким чином впливають на розвиток і метаболізм рослин (цитовано за оглядом da Silva & Dobranszki, 2016).

Вплив високочастотного радіохвильового випромінювання на живі організми

Слід відзначити велику кількість і суперечливість результатів досліджень, пов'язаних з впливом високочастотних радіохвиль на живі організми. Відмінності в даних, отриманих різними науково-дослідними групами, пояснюються відмінностями в частотах, інтенсивностях і тривалостях впливу радіохвиль на живі системи, а також - видовими особливостями чутливості різних організмів до електромагнітного впливу. При цьому нелінійність залежностей між параметрами зовнішніх змінних електромагнітних полів і відповіддю живих систем, мабуть, пояснюється використанням в експериментах частот, резонансних з частотами ендogenousних електромагнітних полів клітин.

Радіохвилі частотою 100 МГц негативно впливають на ембріогенез рибок-зебр: вже на стадії 48 годин після запліднення проявляється інгібуючий ефект радіохвиль на розвиток ембріонів, проте, до 72 год після запліднення - ембріони виходять зі стану стресу. Дослідження, проведене Piccinetti С.С. з колегами (2018), показало, що радіохвилі частотою 100 МГц здатні впливати на ембріональний розвиток рибок-зебр (*Danio rerio*) в інтервалі від 24 до 72 годин після запліднення. Зокрема, на стадії 48 годин після запліднення були виявлені уповільнення росту, підвищена активність генів оксидативного стресу, початок апоптозних/аутофагічних процесів і зміна метаболізму холестерину.

При цьому у ембріонів рибок-зебр стрес, викликаний дією радіохвиль, запуслав захисні механізми, які вже до 72 год після запліднення призводили до відновлення клітинних процесів і забезпечували виживання експериментальної групи рибок одночасно з контрольними рибками, які не піддавалися впливу радіохвилями (Piccinetti et al., 2018).



Рис. 33. Рибка-зебра (*Danio rerio*) (<https://www.google.com.ua/search?q=zebrafish+pictures>).

Мікроядерний тест показав, що передекспозиція мишей на радіохвилях знизилася пошкоджуючий ефект гамма-випромінювання. Jiang В. з колегами (2013) піддавали дорослих самців мишей попередньому впливу радіохвилями частотою 900 МГц і потужністю 120 мкВт/см² тривалістю 4 години на день протягом 7 днів, а потім - діяли на них γ -випромінюванням в дозі 3 Гр. Для визначення ступеня генотоксичності зазначених впливів на незрілі еритроцити в периферичній крові та кістковому мозку мишей - був використаний аналіз накопичення мікроядер.

Отримані результати показали, що у мишей, які зазнали впливу гамма-випромінювання - значно збільшилася кількість мікроядерних клітин. Тоді як рівень мікроядерних клітин в контролі і у мишей, на яких діяли радіохвилями, був однаково низьким. Попереднє експонування мишей на радіохвилях з подальшим впливом гамма-променів забезпечило достовірне зниження рівня мікроядерних клітин в порівнянні з мишами, на яких діяли тільки гамма-променями.

Таким чином, отримані Jiang B. з колегами (2013) дані свідчать про те, що попередній вплив на мишей радіохвилями здатний захистити незрілі еритроцити в крові та кістковому мозку від генотоксичного ефекту подальшого γ -випромінювання. Таке захисне явище зазвичай описується як «адаптивна відповідь» і задокументовано для клітин людини і тварин, які попередньо піддавалися впливу дуже низьких доз іонізуючого випромінювання. Авторами роботи вперше було показано, що адаптивна відповідь на іонізуюче випромінювання може бути індукована радіохвильовим неіонізуючим випромінюванням (Jiang et al., 2013).

Радіохвилі є стресором, що активує захисні механізми клітин, які пом'якшують дію іонізуючого випромінювання. He Q. з колегами (2017) вивчали, чи здатний вплив радіохвиль активувати білок PARP-1 (полі-(ADP-рибозо)-полімераза-1), задіяний в репарації пошкоджень в ДНК, в клітинах кісткового мозку і чи відіграє цей білок роль в адаптивній відповіді, індукованій радіохвильовим випромінюванням.

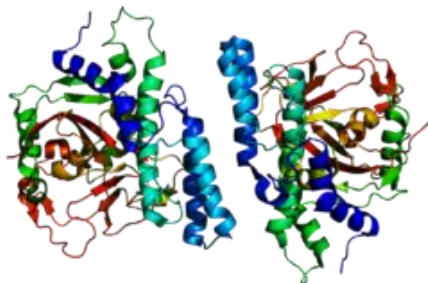


Рис. 34. Стрічкова модель будови білка PARP1 (<https://uk.wikipedia.org/wiki/PARP1>).

В ході дослідження на клітини кісткового мозку діяли радіохвилями частотою 900 МГц, потужністю 120 мкВт/см² і тривалістю 3 години на день протягом 5 днів. Після цього клітини кісткового мозку піддавали дії гамма-випромінювання в дозі 1,5 Гр, яка є генотоксичною. Крім того, деякі клітини також обробляли 3-амінобензамідом (інгібітором PARP-1) в концентрації 2 мМ.

Отримані дані свідчать про те, що: (1) клітини, які зазнали впливу тільки радіохвиль, показали значне посилення синтезу білка PARP-1 в порівнянні з необробленими клітинами і клітинами, опроміненими гамма-променями; (2) обробка клітин, опромінених радіохвилями, інгібітором PARP-1 зменшила таку активацію білка PARP-1; (3) клітини, які зазнали впливу радіохвиль і іонізуючого гамма-випромінювання, показали значно меншу кількість генетичних пошкоджень, а також більш швидку кінетику відновлення в порівнянні з клітинами, на які діяли тільки іонізуючим випромінюванням; (4) клітини, на які діяли радіохвилями, інгібітором PARP-1 і іонізуючим гамма-випромінюванням, не показали такого зниження рівня генетичних пошкоджень.

Таким чином, отримані He Q. з колегами (2017) дані, свідчать про те, що радіочастотний вплив здатний активувати білок PARP-1, який відіграє роль в радіаційній адаптації клітин, індукованій радіохвилями (He et al., 2017).

Передекспонування мишей на радіохвилях захистило їх ДНК від подальшого впливу агентами, які викликають пошкодження ДНК, за рахунок включення в клітинах механізмів адаптації до стресора. Проведені дослідження показали, що радіохвилі є стресором, який запускає захисні механізми в клітинах. З одного боку - це є корисною адаптацією, що захищає клітини від дії інших стресорів. Однак, з іншого боку, при лікуванні захворювань різної етіології, - передаптація клітин до стресового впливу може знижувати ефект лікарських препаратів.

Zong C. з колегами (2015) на лабораторних мишах вивчали вплив радіохвильового випромінювання на цитотоксичний ефект протиракового антибіотика блеоміцину. Для цього дорослих мишей піддавали впливу радіохвилями частотою 900 МГц, потужністю 120 мкВт/см² і тривалістю 4 години на день протягом 7 днів. Через 4 години після останнього впливу - мишам ін'єктували блеоміцин.

*NB! Блеоміцин - антибіотик, який синтезується бактеріями *Streptomyces verticillus*. Цей антибіотик викликає появу розривів в ДНК, блокує поділ клітин і використовується в хіміотерапії ракових захворювань (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

В результаті проведених Zong C. з колегами (2015) досліджень у мишей, які зазнали впливу тільки радіохвильовим випромінюванням, не було виявлено збільшення рівня пошкоджень ДНК і рівня оксидативних пошкоджень, на відміну від мишей, які отримували тільки блеоміцин.

Миші, які проходили передобробку радіохвилями та подальший вплив блеоміцином, показали: (а) значне зниження кількості пошкоджень ДНК, індукованих блеоміцином, і (б) значне зниження рівня малондіальдегіда в плазмі крові і в клітинах печінки, а також - збільшення рівня супероксиддисмутази в клітинах легенів.

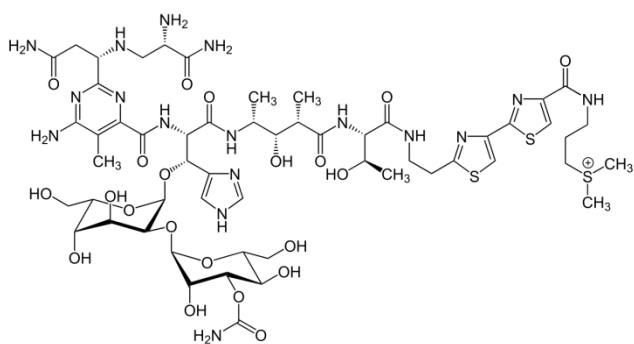


Рис. 35. Структурна формула антибіотика блеоміцину (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 36. Бактерії *Streptomyces verticillus*, які продукують блеоміцин (<http://www.actino.jp/DigitalAtlas/subwin.cgi?target=8-55>). Ці бактерії відносяться до порядку актиноміцетів, здатних формувати на деяких стадіях розвитку розгалужений міцелій, схожий на міцелій грибів.

Отримані Zong C. з колегами (2015) дані свідчать про те, що радіохвильовий вплив здатний викликати адаптивну відповідь і пом'якшувати викликані блеоміцином пошкодження ДНК і оксидативні пошкодження в клітинах шляхом активації відповідних захисних клітинних процесів (Zong et al., 2015).

Виявлений феномен дозволяє припустити, що експонування сучасних людей на радіохвилях мобільного телефонного зв'язку може призводити до зниження чутливості ракових пухлин до хіміотерапії.

Вплив радіохвиль мобільного телефонного зв'язку на сигнальні шляхи глутаматних рецепторів гіпокампу. Мобільні телефони генерують радіохвилі частотою від 800 МГц до 2200 МГц. Ці прилади використовуються в безпосередній близькості від головного мозку, що може мати негативні наслідки для його роботи. Гіпокамп - це частина лімбічної системи головного мозку (т.зв. нюхового мозку), яка бере участь в механізмах формування емоцій, в навчанні і в консолідації пам'яті (тобто переходу короточасної пам'яті в довготривалу) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Goksek-Sarac C. з колегами (2017) вивчали вплив гострого та хронічного радіохвильового випромінювання частотою 900 МГц і 2100 МГц на активність ферментів гіпокампу щурів (включаючи РКА, СаМКII α , CREB і p44/42 MAPK), задіяних в сигнальних шляхах N-метил-D-аспартатних рецепторів (глутаматних рецепторів), які відіграють провідну роль в процесах формування пам'яті.

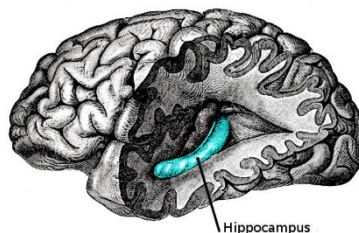


Рис. 37. Розташування гіпокампу в головному мозку людини (за <https://www.google.com.ua/search?q>).

В ході експерименту лабораторних щурів піддавали впливу радіохвилями по 2 години в день протягом 1 тижня (гострий експеримент) або 10 тижнів (хронічний експеримент). Отримані результати показали, що активність ферментів гіпокампу була значно вище в хронічних групах в порівнянні з гострими групами при дії радіохвиль частотою 900 МГц і 2100 МГц. Крім того, активність ферментів гіпокампу була значно вище при 2100 МГц радіохвильовому впливі, ніж 900 МГц як в гострій, так і в хронічній групах.

В ряді робіт було встановлено, що радіохвильове випромінювання порушує когнітивні функції мозку. Авторами даного дослідження були отримані експериментальні докази того, що радіохвилі впливають на експресію білків в гіпокампі щурів, який відповідає за формування пам'яті і навчання, і що рівень експресії білків, задіяних в сигнальних шляхах нейронів гіпокампу, залежить як від тривалості, так і від частоти радіохвильового впливу на мозок. Отримані авторами роботи дані важливі для проведення досліджень щодо захисту людей від радіохвильового випромінювання (Gokcek-Sarac et al., 2017).

Радіохвилі мобільного телефонного зв'язку посилюють в статевих клітинах самців щурів синтез білків, які пов'язані з ризиком розвитку злоякісних пухлин. Для виявлення можливого впливу на клітини ссавців радіохвиль, які використовуються в мобільному телефонному зв'язку, Sepehrimanesh M. з колегами (2017) експонували лабораторних щурів на радіохвилях частотою 900 МГц (частота мобільного зв'язку) тривалістю 0, 1, 2 або 4 годин в день протягом 30 днів. Після чого виділяли білки з статевих клітин самців щурів і розділяли їх за допомогою двомірного гель-електрофорезу.

Проведені дослідження показали, що після 4 годин щоденного впливу протягом 30 днів поспіль відбувається значне посилення експресії двох білків: АТФ-синтази бета-субодиниці (ASBS) і попередника гіпоксії, що підвищує рівень білка 1 (HYOU1). Ці білки впливають на сигнальні шляхи, задіяні в сперматогенезі щурів і відіграють критичну роль в упаковці і секретії білків ендоплазматичного ретикулулу клітин.

Отримані Sepehrimanesh M. з колегами (2017) дані свідчать про те, що вплив радіохвиль, які використовуються в мобільному телефонному зв'язку, призводить в яєчках дорослих самців щурів до посилення синтезу білків, які пов'язані з ризиком розвитку злоякісних пухлин і з репродуктивними пошкодженнями (Sepehrimanesh et al., 2017).

Радіохвилі мобільного телефонного зв'язку викликають пошкодження ДНК мітохондрій в результаті індукції в клітинах оксидативного стресу. Sun Y. з колегами (2017) було показано, що радіохвилі частотою 900 МГц і потужністю 120 мкВт/см², які використовуються в мобільному телефонному зв'язку, при впливі на культуру клітин тривалістю 4 години на день протягом п'яти днів викликають пошкодження в ДНК мітохондрій в наслідок індукції в клітинах оксидативного стресу (Sun et al., 2017).

Радіохвилі - це стрес, який активує процеси аутофагії в клітинах мозку мишей. Дослідження, проведені Kim J.H. з колегами (2016), показали, що радіохвилі частотою 835 МГц при впливі на мишей тривалістю 4 години в день протягом 12 тижнів індукують аутофагію (тобто процеси самоперетравлення клітинних компонентів) в клітинах смугастого тіла і гіпоталамуса мозку мишей. Таким чином, під впливом радіохвиль в клітинах мозку

активуються захисні механізми, які, вочевидь, захищають клітини від накопичення пошкоджених молекул (Kim et al., 2016).

Експозиція на радіохвилях знижує здатність щурів до навчання. Narayanan S.N. з колегами (2015) за допомогою тесту в водному лабіринті Моріса було встановлено, що експозиція на радіохвилях частотою 900 МГц, потужністю 146,60 мкВт/см² тривалістю 1 година в день протягом 28 днів порушує просторову орієнтацію молодих статево незрілих самців щурів. При цьому у щурів були виявлені структурні зміни в гіпокампі.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що у щурів, які зазнали впливу радіохвиль, знижується здатність до навчання. Тест на збереження пам'яті, виконаний через 24 години після останнього тренування, виявив незначний просторовий дефіцит пам'яті в групі, що зазнала радіохвильового впливу. Однак щури, які зазнали впливу радіохвилями, продемонстрували погане утримання просторової пам'яті при тестуванні через 48 годин після останнього випробування.

Гістологічний аналіз показав, що дія радіохвилями вплинула на кількість життєздатних клітин в дорсальній області гіпокампу. Крім того, радіохвильове випромінювання змінило характер розгалуження відростків дендритів у нейронів щурів, які зазнали впливу радіохвилями.

Narayanan S.N. з колегами (2015) вважають, що структурні зміни, виявлені в гіпокампі щурів після впливу радіохвилями, є однією з можливих причин погіршення їх здатності до навчання (Narayanan et al., 2015).

Вплив радіохвиль Wi-Fi системи може призводити до розвитку нейродегенеративних захворювань. МікроРНК відіграють найважливішу роль в процесах росту, спеціалізації, поділу і загибелі клітин, оскільки здатні пригнічувати роботу своїх генів-мішеней. Dasdag S. з колегами (2015) вивчали експресію мікроРНК в клітинах мозку щурів у відповідь на радіохвильове випромінювання частотою 2,4 ГГц, тривалістю 24 години в день протягом 12 місяців (випромінювання, аналогічне випромінюванню Wi-Fi системи).

В результаті проведених експериментів було показано, що вплив радіохвилями призводить у піддослідних щурів до зниження в 3,3 - 3,6 рази експресії мікроРНК miR-106b-5p і miR-107. Dasdag S. з колегами (2015) прийшли до висновку, що тривала експозиція на радіохвилях частотою 2,4 ГГц може сприяти розвитку нейродегенеративних захворювань внаслідок порушення експресії молекул мікроРНК (Dasdag et al., 2015).

Вплив радіохвилями частотою 900 МГц призводить до цитогенотоксичного пошкодження клітин кісткового мозку щурів. Atli Sekeroglu Z. з колегами (2013) досліджували цитогенотоксичну дію радіохвиль частотою 900 МГц при тривалості впливу 2 години в день протягом 45 днів і вплив періоду відновлення (15 днів) після дії цього поля на клітини кісткового мозку незрілих і зрілих щурів.

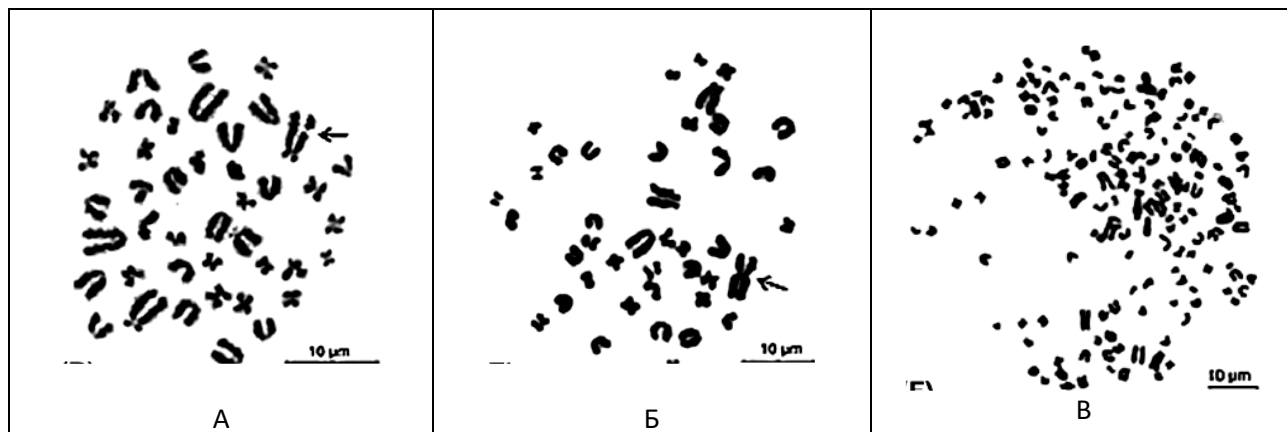


Рис. 38. Приклади генотоксичного впливу радіохвиль на клітини кісткового мозку щурів. Де: (А) - стрілкою вказано розрив хроматиди; (Б) - стрілкою вказано злиття центромер двох хромосом; (В) - поліплоїдія. 1 бар = 10 мкм (Atli Sekeroglu et al., 2013).

Після впливу радіохвилями спостерігалось зростання кількості аберацій хромосом і збільшення частоти появи мікроядер. При цьому рівень цитогенотоксичних пошкоджень у незрілих щурів був статистично вищим, ніж у зрілих щурів. Період відновлення не знижував рівень пошкоджень до значень у контрольній групі.

Таким чином, отримані Atli Sekeroglu Z. з колегами (2013) дані показали, що вплив радіохвильового випромінювання призводить до цитотоксичних і генотоксичних пошкоджень в клітинах незрілих і зрілих щурів, що представляє можливий канцерогенний ризик впливу радіохвиль на людей, особливо дітей (Atli Sekeroglu et al., 2013).

І низькочастотні, і високочастотні радіохвилі мають генотоксичний ефект. Однак, цей ефект - різний. Duan W. з колегами (2015) на клітинній лінії мишачих сперматоцитів була проведена оцінка генотоксичного ефекту низькочастотних (50 Гц) і високочастотних радіохвиль (1800 МГц).

Отримані авторами дослідження дані свідчать про те, що низькочастотне електромагнітне поле при напруженості поля в 3 мТл викликає розриви в ДНК, тоді як для дії високочастотних радіохвиль не виявлено порушень такого типу.

З іншого боку, високочастотне радіохвильове випромінювання - призводить до оксидативного пошкодження азотистих основ ДНК. Тоді як низькочастотні радіохвилі - таким ефектом не володіють. Таким чином, інтенсивні поля обох типів здійснюють генотоксичний вплив на молекули ДНК. Але при цьому - призводять до різних типів пошкодження ДНК (Duan et al., 2015).

Вплив радіохвиль від мобільних телефонів на інтенсивність і циркадіанний ритм синтезу антиоксидантних молекул в клітинах. Відомо, що клітини для самозахисту від реактивних форм кисню синтезують антиоксидантні молекули і ензими. При цьому має місце добовий ритм активності синтезу таких речовин. Сао Н. з колегами (2015) досліджували питання, чи впливає радіохвильове випромінювання від мобільних телефонів на інтенсивність і добовий ритм синтезу в клітинах антиоксидантних молекул (мелатоніну) та антиоксидантних ензимів (супероксиддисмутази і глутатіон пероксидази).

Отримані авторами роботи дані свідчать про те, що експозиція щурів на радіохвилях частотою 1,8 ГГц і потужністю 201,7 мкВт/см² тривалістю 2 години в день (в різний час доби), протягом 32 днів призводить до зниження рівня синтезу і мелатоніну, і антиоксидантних ензимів, а також - змінює добовий ритм синтезу цих речовин. При цьому опромінення радіохвилями в нічний час доби сприяє найбільш істотному зниженню рівня антиоксидантних молекул в крові піддослідних щурів (Сао et al., 2015).

Вплив мобільних телефонів може супроводжуватися розвитком запальних процесів в нервовій тканині мозку: дослідження показали, що клітини мікроглії і астроцити в центральній нервовій системі у відповідь на радіохвильовий вплив частотою 1800 МГц виділяють проінфламаторні цитокіни і демонструють проінфламаторну відповідь. Вважають, що радіочастотні електромагнітні поля здатні викликати порушення в роботі центральної нервової системи. З огляду на важливу роль запалення в нервових фізіопатологічних процесах, автори роботи досліджували прозапальні реакції мікроглії і астроцитів у відповідь на дію радіочастотних полів.

Для цього Lu Y. з колегами (2014) піддавали клітини мікроглії N9 і астроглії C8-D1A впливу радіохвилями частотою 1800 МГц протягом різного часу з попередньою обробкою інгібітором транскрипційного фактора STAT3 або без нього. *NB! Однією з функцій транскрипційних факторів родини STAT є активування захисної реакції клітин від патогенів. STAT3 є одним з білків-посередників, які забезпечують відповідь клітини на сигнали, що надходять через рецептори інтерлейкінів і факторів росту (<https://ru.wikipedia.org/wiki/STAT3>).

Проведені дослідження показали, що клітини мікроглії і астроцити активувалися під впливом радіохвиль, на що вказує підвищений рівень CD11b і гліального фібрилярного кислого білка (GFAP). Було встановлено, що радіохвилі індукували різні прозапальні реакції в астроцитах і мікроглії, які характеризуються різними профілями експресії і вивільнення IL-1 β , TNF- α , IL-6, PGE2, оксиду азоту (NO), індукційної синтази оксиду азоту (iNOS) і циклооксигенази 2 (COX2). Слід зазначити, що радіохвильовий вплив активував STAT3 в мікроглії, але не в астроцитах. Крім того, STAT3 інгібітор Stattic зменшував викликане радіохвилями вивільнення прозапальних цитокінів в мікроглії, але не в астроцитах.

Отримані Lu Y. з колегами (2014) результати показали, що радіохвильовий вплив по-різному активував прозапальні реакції в мікроглії і астроцитах, які включали диференціальну активацію STAT3 в мікроглії і астроцитах. Ці дані дають нове уявлення про потенційні механізми впливу радіохвиль мобільних телефонів на центральну нервову систему (Lu et al., 2014).

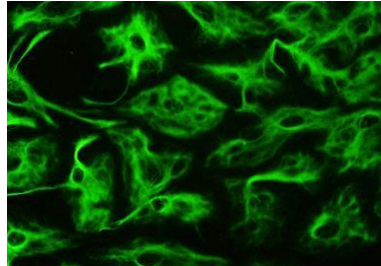


Рис. 39. Клітини астроцити в центральній нервовій системі (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

*NB! Мікроглія - це резидентні макрофаги центральної нервової системи. Історично мікроглію класифікували як підтип гліальних клітин центральної нервової системи. Мікроглія відіграє важливу роль у формуванні мозку, особливо в формуванні та підтримці контактів між нервовими клітинами - синапсів. Оскільки в нормі центральна нервова система стерильна, роль мікроглії в боротьбі з інфекційними агентами незначна (в разі інфекції або травми моноцити рекрутуються в ЦНС з крові) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

*NB! Астроцити – нейрогліальні клітини зірчастої форми з численними відростками. Сукупність астроцитів називається астроглією. Одна з функцій астроцитів - формування гемато-енцефалічного бар'єру, який захищає нервову тканину від шкідливих речовин, здатних проникнути з кровоносної системи. Астроцити служать специфічним «шлюзом» між кровоносним руслом і нервовою тканиною, не допускаючи їх прямого контакту (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Зовнішнє змінне електромагнітне поле частотою 3,2 кГц прискорило ембріональний розвиток риб і сприяло формуванню у них поведінки занепокоєння. В сучасних умовах все більше морських організмів піддаються дії техногенних електромагнітних полів: підводні кабелі, підводне обладнання, підводний радіозв'язок і т.н.

Lee W. і Yang K.L. (2014) використовували ембріони рибки японської оризії (*Oryzias latipes*) для вивчення впливу електромагнітних полів на процеси розвитку організму і спеціальні біотести для виявлення можливих поведінкових наслідків негативного впливу електромагнітних полів на ембріогенез риб.



Рис. 40. Японская оризія або медака японська (*Oryzias latipes*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

В ході експериментів запліднені ембріони риб піддавалися впливу електромагнітних полів частотою 3,2 кГц з інтенсивністю 0, 12, 15, 25 або 60 мкТл до моменту вилуплення. На четвертий день після вилуплення - потомство піддавали поведінковим тестам на виявлення поведінки занепокоєння.

Отримані результати показали, що ембріони, які зазнали впливу електромагнітних полів всіх трьох рівнів інтенсивності, розвивалися значно швидше контрольних ембріонів. Крім того, в групі, яка піддавалася впливу електромагнітного поля інтенсивністю 60 мкТл, у рибок спостерігався значно вищий рівень тривожної поведінки, ніж в інших групах (Lee & Yang, 2014).

Експозиція на радіохвилях частотою 1800 МГц, яка використовується в мобільному зв'язку, порушує ріст аксонів ембріональних нервових стовбурових клітин, що може призводити до порушень в розвитку мозку. Радіохвилі частотою 1800 МГц широко використовуються у мобільному зв'язку. Однак вплив радіохвиль на клітинну біологію до кінця не з'ясований.

Відомо, що ембріональні нервові стовбурові клітини відіграють критичну роль у розвитку мозку. Тому, встановлення впливу радіохвиль на ці клітини важливо для розуміння впливу радіочастотних полів на розвиток мозку.

Chen С. з колегами (2014) піддавали ембріональні нервові стовбурові клітини радіохвильовому впливу частотою 1800 МГц при значеннях питомої швидкості поглинання 1, 2 і 4 Вт/кг протягом 1, 2 і 3 днів.

В ході проведених експериментів було показано, що дія радіохвилями частотою 1800 МГц не впливала на апоптоз ембріональних стовбурових нервових клітин, їх проліферацію (поділ), клітинний цикл або експресію відповідних мРНК. Вплив радіохвилями також не змінив співвідношення нейронів і астроцитів, які диференціюються з ембріональних стовбурових нервових клітин.

Однак, ріст аксонів (одного з типів відростків нервових клітин) у ембріональних стовбурових нервових клітин, які диференціюються в нейрони, був заінгібований після впливу 4 Вт/кг радіохвилями протягом 3 днів. Крім того, експресія мРНК і білків пронеуральних генів *Ngn1* і *NeuroD*, які мають вирішальне значення для росту аксонів, була знижена після впливу радіохвилями. Було також показано, що експресія їх інгібітора *Hes1* активізувалася при впливі радіохвилями.

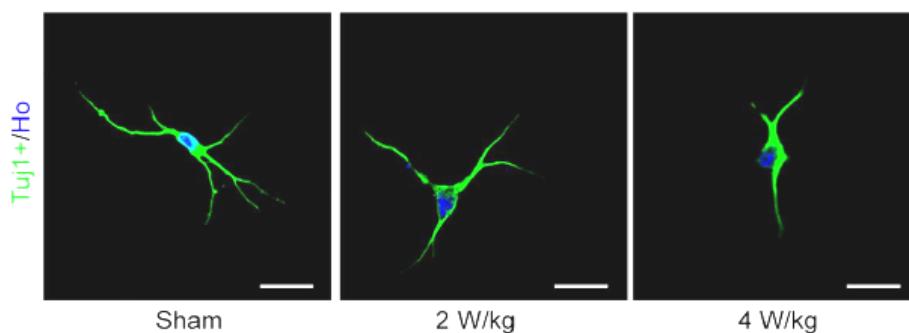


Рис. 41. Вплив експозиції на радіохвилях частотою 1800 МГц протягом 3 днів на ріст аксонів в нейронах, що диференціюються з ембріональних стовбурових нервових клітин. Де: Sham - контроль, який не був експонований на радіохвилях; 2 W/kg та 4 W/kg - питома швидкість поглинання випромінювання 2 Вт/кг і 4 Вт/кг, відповідно. Експозиція ембріональних стовбурових нервових клітин на радіохвилях частотою 1800 МГц при питомій швидкості поглинання випромінювання 4 Вт/кг - зменшує число і довжину нервових відростків, які формуються, т.т. аксонів. 1 бар = 25 мкм (Chen et al., 2014).

Отримані Chen С. з колегами (2014) результати, свідчать про те, що вплив радіохвилями на частоті 1800 МГц погіршує ріст аксонів ембріональних стовбурових нервових клітин, що може мати потенційно негативний вплив на розвиток мозку (Chen et al., 2014).

Радіохвилі частотою 900 МГц знижують рівень тестостерону в організмі щурів.

Sepahimanesh M. з колегами (2014) було встановлено, що радіохвильове випромінювання частотою 900 МГц при тривалості експозиції 1, 2 і 4 годин в день протягом 30 днів знижує рівень тестостерону в організмі піддослідних щурів, що може вплинути на їх фертильність (т.т., на їх здатність лишити потомство) (Sepahimanesh et al., 2014).

Рослини і високочастотні радіохвилі

Високочастотні електромагнітні поля сприяють проростанню насіння рослин.

В ряді робіт було показано, що не тільки низькочастотні, але також і високочастотні електромагнітні хвилі - здатні істотно впливати на живі організми. Джерелами високочастотних електромагнітних хвиль є об'єкти радіомовлення, мобільний телефонний зв'язок, робота деяких приладів (мікрохвильові печі і т.н.).

Jinapang P. з колегами (2010) досліджували вплив високочастотного електромагнітного поля (425 МГц) на розвиток проростків бобів мунг (*Vigna radiata* L.) і іпомеї водяної (*Ipomoea aquatica* Forssk). Оцінювався ефект різної тривалості експозиції (1 год, 2 год, 4 год) і різної сили поля (1 мВт, 100 мВт, 10 Вт) на проростки, що формуються.

Отримані дані свідчать про те, що проростання насіння *Vigna radiata* L. посилилося при впливі високочастотним полем 425 МГц протягом 1 год при силі поля 100 мВт. Тоді як для рослин *Ipomoea aquatic* оптимальними умовами для проростання стала дія високочастотним полем впродовж 2 годин при силі поля 1 мВт (Jinapang et al., 2010).



Рис. 42. Боби мунг (*Vigna radiata* L.)
(https://en.wikipedia.org/wiki/Mung_bean).



Рис. 43. Іпомея водяна (*Ipomoea aquatica*)
(<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Радіохвилі частотою 400 МГц і 900 МГц викликають порушення поділу клітин в коренях проростків цибулі.

Використання мобільних телефонів і бездротових мереж викликає суперечки серед науковців стосовно можливої канцерогенної дії радіочастотного електромагнітного поля, яке генерується в процесі роботи цих пристроїв. Результати, які повідомляються в науковій літературі, про здатність радіохвиль викликати пошкодження в ДНК – є досить суперечливими.

Ткалес М. з колегами (2009) експонували насіння цибулі (*Allium cepa* L.) на радіохвилях частотою 400 МГц і 900 МГц при напруженості поля 10, 23, 41 і 120 В/м протягом 2 годин.

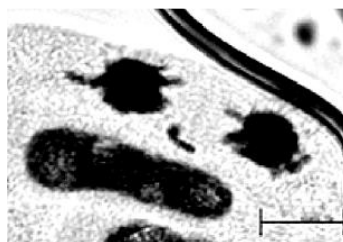


Рис. 44. Втрата хромосоми в телофазі мітозу після впливу радіохвилями на насіння цибулі (*Allium cepa* L.). 1 бар = 10 мкм (Ткалес et al., 2009).

Після пророщування насіння, порівнювали енергію проростання, довжину проростків і порушення поділу клітин в корневих меристемах контрольних і оброблених радіохвилями рослин.

Проведені дослідження показали, що після впливу радіохвилями ні енергія проростання насіння, ні довжина коренів проростків цибулі істотно не змінилися. У той час як відсоток мітотичних порушень збільшився після всіх типів впливу радіохвилями. Аберації, викликані електромагнітними полями, в основному були представлені відстаючими хромосомами, порушеними анафазами і хромосомами, які злиплися.

Таким чином, отримані Tkalec M. з колегами (2009) дані свідчать про те, що радіохвилі здатні викликати порушення поділу в клітинах кінчиків коренів проростків цибулі *Allium cepa* L. При цьому ефекти, які спостерігалися, помітно залежали від частоти і напруженості електромагнітного поля. Характер виявлених порушень поділу клітин вказує на те, що мітотичні ефекти радіохвиль можуть бути пов'язаними з порушенням мітотичного веретена (Tkalec et al., 2009).

Експонування проростків кінських бобів (*Vicia faba*) на радіохвилях частотою 915 МГц індукує появу мікроядер в клітинах кінчиків коренів рослин. Gustavino B. з колегами (2016) проводили експозицію коренів кінських бобів протягом 72 год на радіохвилях частотою 915 МГц (які відповідають частотам мобільного телефонного зв'язку) при трьох значеннях потужності плоскої хвилі (23, 35 і 46 Вт/м²).



Рис. 45. Кінські боби (*Vicia faba*) (<https://uk.wikipedia.org/wiki/>).

Результати трьох незалежних експериментів показали значне збільшення частоти мікроядер у клітинах коренів кінських бобів після впливу радіохвилями в порівнянні з необробленим контролем. Таким чином, отримані дані чітко показали здатність радіочастотних електромагнітних хвиль викликати пошкодження ДНК у рослин, які розвиваються (Gustavino et al., 2016).

Високочастотні радіохвилі мікрохвильового діапазону (2,45 ГГц) володіють мутагенним ефектом. Qian X.W. з колегами (2006) вивчали мутагенний ефект мікрохвильового випромінювання і триоксиду хрому на проростки кінських бобів (*Vicia faba*).

Дія радіохвилями мікрохвильового діапазону (2,450 ГГц) протягом 5 сек і 25 сек призводила до зростання кількості мікроядерних клітин в кінчиках коренів тестованих рослин з $2,2 \pm 0,79$ в контролі до $10,60 \pm 0,97$ і $15,40 \pm 0,97$ після впливу мікрохвилями протягом 5 сек і 25 сек, відповідно.

У присутності триоксиду хрому - також збільшувалася кількість мікроядерних клітин (до $10,40 \pm 1,35$ в присутності 12,5 мг/л триоксиду хрому). Вплив і мікрохвилями, і триоксидом хрому мав синергетичний ефект на накопичення мікроядерних клітин в кінчиках коренів кінських бобів: до $25,10 \pm 1,79$ при дії 5 сек мікрохвилями і 12,5 мг/л триоксиду хрому (Qian et al., 2006).

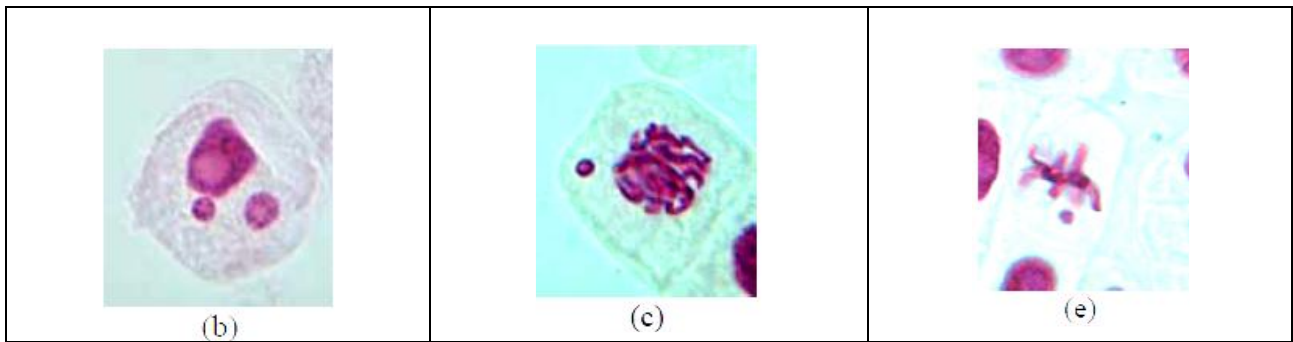


Рис. 46. Мікроядра в клітинах кінчиків коренів кінських бобів (*Vicia faba*) після впливу радіохвилями частотою 2,45 ГГц протягом 5 секунд і триоксидом хрому в концентрації 50 мг/л. Де: (b) - два мікроядра в інтерфазній клітині; (c) - мікроядро в профазній клітині; (e) - мікроядро в метафазній клітині (Qian et al., 2006).

Радіохвилі частотою 400 МГц і 900 МГц призводять до розвитку оксидативного стресу в клітинах ряски. Отримані Tkalec M. з колегами (2007) результати показали, що вплив радіохвильового випромінювання частотою 400 МГц та 900 МГц викликає оксидативний стрес у рослин ряски, а також неспецифічні реакції на стрес, особливо антиоксидантних ферментів. Ефекти, які спостерігалися, помітно залежали від частоти поля, а також від інших параметрів впливу (сила, модуляція і час впливу).

Вплив електромагнітних полів, особливо на частоті 900 МГц, призводить до підвищення рівня перекисного окислення ліпідів і до зростання вмісту пероксиду водню в клітинах, що супроводжується зниженою активністю антиоксидантних ферментів. Отримані дані вказують на те, що оксидативний стрес може бути частково обумовлений зміненою активністю антиоксидантних ферментів (Tkalec et al., 2007).

У рослин радіохвильове випромінювання частотою 900 МГц впливає на експресію генів, пов'язаних зі стресом. При цьому молекулярна відповідь рослин на радіохвилі була аналогічною їх відповіді на дію механічного стресу. Vian A. з колегами (2006) було встановлено, що радіохвилі частотою 900 МГц призводять до накопичення мРНК транскриптів bZIP транскрипційних факторів, пов'язаних зі стресом. Таким чином, радіохвилі впливають на експресію генів, пов'язаних зі стресом. При цьому молекулярна відповідь була аналогічною відповіді рослин на дію механічного стресу (Vian et al., 2006).

Міжклітинне спілкування у рослин здійснюється з використанням радіохвиль. Veaubois E. з колегами (2007) було встановлено, що локальна дія електромагнітного випромінювання на лист рослини томата дикого типу - викликає в просторово віддаленому листі швидке і значне накопичення молекул мРНК фактора транскрипції bZIP, пов'язаного зі стресом, з кінетикою, дуже схожою на відповідь на раньове пошкодження листа.

На схемі представлена модель, яка пояснює викликану електромагнітним полем передачу сигналів і системну експресію раньових генів у рослин томата. Ця модель дозволяє пояснити те, як слабе електромагнітне поле може викликати як локальне, так і системне накопичення транскриптів, пов'язаних зі стресом.

Електромагнітне випромінювання може сприйматися (1) всім листом, однією або декількома клітинами або безпосередньо цитоплазматичною мембраною. Електромагнітне поле, прикладене до найстарішого листа (1), викликає швидке накопичення транскриптів, пов'язаних зі стресом (місцева відповідь, 2), якій можливо запобігти, обприскуючи лист препаратами, які протидіють Ca^{2+} (3), це вказує на те, що кальцій є необхідним для передачі сигналу в ядро клітини (можливо, через каскад фосфорилування).

Віддалений, неопромінений електромагнітним полем лист, демонструє майже одночасну відповідь (віддалена відповідь, 5), що свідчить про дуже швидку передачу системного сигналу (4) від листа, опроміненого електромагнітним полем, до листа віддаленого, захищеного від електромагнітного поля (5).

Віддалена відповідь не виникає при використанні в експерименті рослин томата, дефіцитних по синтезу абсцизової кислоти (ABA) або жасмонової кислоти (JA) (мутантні лінії *Sitiens* і *JL-5*, 6), а також при обробці рослин томата дикого типу до впливу радіохвилями напроксом - інгібітором біосинтезу абсцизової кислоти (6); слід підкреслити, що при цьому місцева відповідь залишається нормальною.

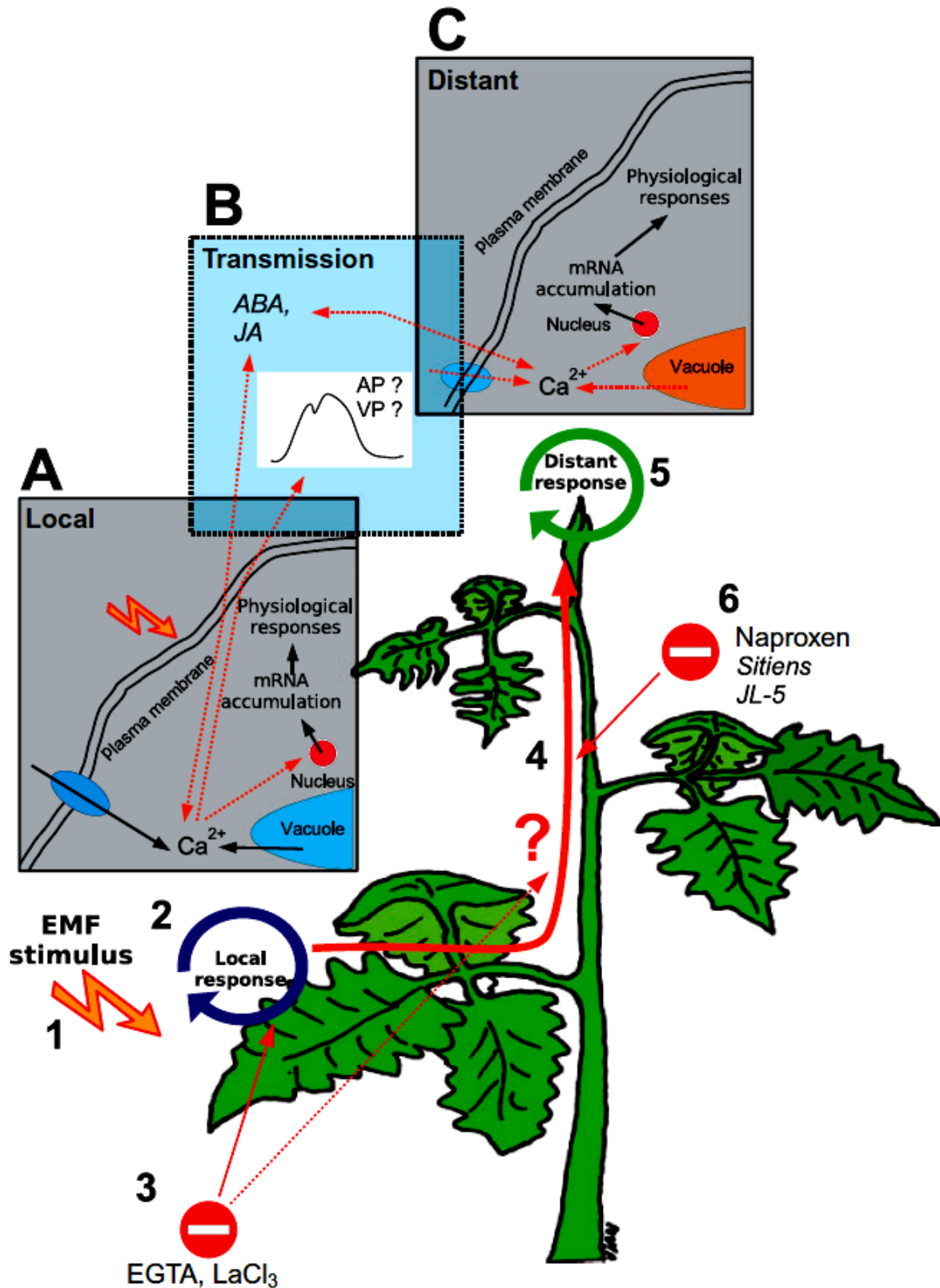


Рис. 47. Модель, яка пояснює викликану електромагнітним полем передачу сигналів і системну експресію раньових генів у рослин томата. На схемі підтверджені факти позначені суцільними лініями, а припущення - пунктирними (Beaubois et al., 2007).

Ці результати переконливо свідчать про те, що для генерації і/або передачі системного сигналу потрібні абсцизова кислота, жасмонова кислота і іони кальцію Ca^{2+} .

Надходження Ca^{2+} в цитоплазму може відбуватися з внутрішньо- або позаклітинних запасів. В цей процес, очевидно, залучені механочутливі, потенціал-залежні або ліганд-залежні канали. В результаті розвивається як локальна молекулярна відповідь (вставка А), так і виникає/передається електрична хвиля деполяризації (вставка В), яка може бути потенціалом дії (АР) або варіаційним потенціалом (VP).

Генерування та/або передача електричного сигналу (сигналів) залежить від нормального метаболізму абсцизової кислоти/жасмонової кислоти в клітинах (вставка В, б). Цей сигнал швидко поширюється через рослину до віддалених (неекспонованих) листків, де він викликає безпосередньо (через кальцій) або опосередковано (через інші вторинні месенджери, такі як IP3) накопичення транскриптів раньової відповіді (Beaubois et al., 2007).

10.2. Практична робота

Завдання 1. Екранування геомагнітного поля Землі негативно впливає на розвиток і репродукцію комах бурих рисових цикадок. Магнітні поля здатні впливати на ріст і розвиток багатьох видів живих організмів завдяки присутності в клітинах сенсорів електромагнітних полів - білків-криптохромів і ендогенних магнітоактивних речовин. Wan G.J. з колегами (2014) вивчали вплив близько-нульового магнітного поля на ріст, розвиток і репродукцію мігруючих цикадок двох видів *Laodelphax striatellus* і *Nilaparvata lugens* в порівнянні з впливом природного геомагнітного поля Землі.



Рис. 1. Цикадка *Laodelphax striatellus*
(<https://www.plantwise.org/KnowledgeBank/Datasheet.aspx?dsid=10935>).



Рис. 2. Цикадка *Nilaparvata lugens*
(<https://www.google.com.ua/search?q=Nilaparvata+lugens>).

Отримані дані показали, що вирощування цикадок обох видів на близько-нульовому магнітному полі призводило до затримки розвитку яєць і німф, до зменшення маси тіла дорослих цикадок і до зниження плодючості самок. Результати дослідження Wan G.J. з колегами (2014) впливу екранування геомагнітного поля Землі на плодючість самок цикадок двох видів наведені на рисунку 3 (за Wan et al., 2014).

- 1) Використовуючи дані рисунка 3, вкажіть рівень плодючості самок цикадок *Laodelphax striatellus* в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі _____ і в умовах екранування геомагнітного поля Землі _____.
- 2) Вкажіть рівень плодючості самок цикадок *Nilaparvata lugens* в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі _____ і в умовах екранування геомагнітного поля Землі _____.
- 3) Як вплинуло екранування геомагнітного поля Землі на плодючість самок комах цикадок?
_____.
- 4) Поясніть, яким чином геомагнітне поле Землі може впливати на роботу клітин живих організмів _____.
- 5) Зниження плодючості організмів - одна з форм стресової відповіді на фактори навколишнього середовища. Як Ви вважаєте, чому екранування геомагнітного поля Землі призвело до зниження плодючості комах цикадок? _____.

*NB! В геологічній історії Землі багаторазово відбувалася зміна полярності геомагнітних полюсів, яка супроводжувалася збуреннями геомагнітного поля Землі і різким зниженням рівня його напруженості. У ряді досліджень було показано, що такі умови здатні надавати мутагенну дію і, як наслідок, призводити до вимирання організмів. Цілком можливо, що гальмування розмноження організмів в умовах зниження напруженості геомагнітного поля Землі закріпилося еволюційно, як адаптація, що забезпечує стабільність існування видів живих організмів.

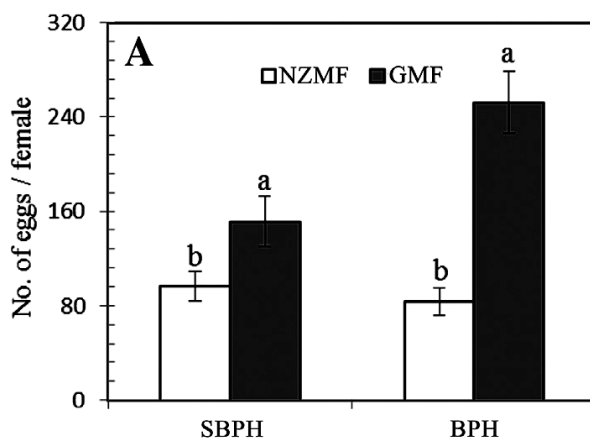


Рис. 3. Плодючість (А) дорослих самок цикадок видів *Laodelphax striatellus* (SBPH) і *Nilaparvata lugens* (BPH) під впливом близько-нульового магнітного поля (NZMF) в порівнянні з геомагнітним полем Землі (GMF). Де: по осі ОУ - плодючість дорослих самок цикадок, (No. of eggs / female, кількість яєць на самку); SBPH - самки виду *Laodelphax striatellus*; BPH - самки виду *Nilaparvata lugens*; NZMF - близько-нульове магнітне поле; GMF - геомагнітне поле Землі (Wan et al., 2014).

Завдання 2. Екранування магнітного поля Землі порушує ембріогенез гладкої шпорцевої жаби. Мо W.-С. з колегами (2012) було встановлено, що екранування магнітного поля Землі призводить у гладких шпорцевих жаб (*Xenopus laevis*) до порушення ембріогенезу вже на стадії третього поділу зародкових клітин. При цьому імуофлуоресцентне забарвлення на α -тубулін показало переорієнтацію веретена поділу бластомерів на чотирьох-клітинній стадії розвитку ембріона.



Рис. 4. Гладка шпорцева жаба (*Xenopus laevis*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Отримані дані свідчать про те, що навіть короткочасне екранування геомагнітного поля Землі (2 години) є достатнім для впливу на розвиток ембріонів жаб *Xenopus* на стадії дроблення; при цьому ключовою структурою, яка є найбільш чутливою до гіпогеомагнітних умов, є веретено поділу в зародкових клітинах (Мо et al., 2012). Результати дослідження Мо W.-С. з колегами (2012) наведені на рисунку 5.

1) Використовуючи дані рисунка 5 (F-I), перерахуйте типи аномалій розвитку ембріонів гладких шпорцевих жаб, виявлені в умовах екранування геомагнітного поля Землі:

2) Використовуючи дані рисунка 5 (J), вкажіть відсоток аномалій розвитку ембріонів гладких шпорцевих жаб:

- а) на другу добу розвитку ембріонів в умовах присутності геомагнітного поля Землі _____ і в умовах його екранування _____;
- б) на четверту добу розвитку ембріонів в умовах присутності геомагнітного поля Землі _____ і в умовах його екранування _____.

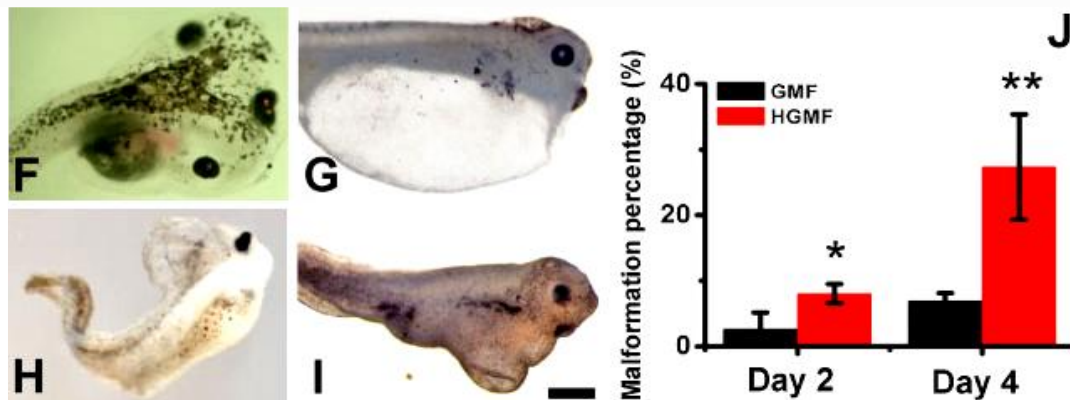


Рис. 5. Порушення ембріонального розвитку гладких шпорцевих жаб (*Xenopus laevis*) в умовах екранування геомагнітного поля Землі. Де: (F) - двоголовий ембріон; (G) - ембріон з роздутим черевним відділом тулуба; (H) - викривлення хребта у ембріона; (I) - патологічний розвиток шлунково-кишкового тракту у ембріона; (J) - відсоток аномалій розвитку ембріонів жаб *Xenopus laevis* (Malformation percentage, %) на 2-у і на 4-у добу розвитку ембріонів в умовах звичайного геомагнітного поля Землі (GMF, чорні стовпчики гістограм) і в умовах екранування геомагнітного поля Землі (HGMF, червоні стовпчики гістограм). 1 бар = 1,25 мм (Mo et al., 2012).

- 3) Як вплинуло екранування геомагнітного поля Землі на відсоток аномалій розвитку ембріонів гладких шпорцевих жаб? _____.
- 4) Як Ви вважаєте, яким чином екранування геомагнітного поля Землі може вплинути на розвиток ембріонів тварин? _____.

*NB! На сьогоднішній день встановлено, що ембріональна закладка органів багато в чому регулюється градієнтами (змінами напруженості) і орієнтацією силових ліній ендогенних електромагнітних полів в зародках, які формуються.

Завдання 3. Відсутність магнітного поля Землі впливає на виживання тихоходок на стадіях входу-виходу зі стану ангідробіозу. В ряді досліджень, проведених на рослинах і тваринах, було встановлено, що магнітне поле Землі значно впливає на метаболізм живих організмів. Одними з найбільш стійких до стресів тварин є тихоходки (*Tardigrada*) завдяки їх здатності в несприятливих умовах навколишнього середовища входити в стан ангідробіозу (тобто в стан дуже глибокої сплячки, на межі між життям і смертю).



Рис. 6. Тихоходка *Hypsibius dujardini* (<https://www.google.com.ua/search?q=Hypsibius+dujardini>).

Erdmann W. з колегами (2017) на тихоходках *Hypsibius dujardini* вивчали вплив відсутності геомагнітного поля Землі на виживання цих організмів. Отримані дані свідчать про те, що в активному стані і в стані ангідробіозу - рівень смертності тихоходок не залежав

від присутності магнітного поля Землі. Однак, смертність тихоходок значно збільшувалася в умовах відсутності магнітного поля Землі під час процесу входу в ангідробіоз і повернення до активного життя після ангідробіозу. Автори дослідження вважають, що ці переходи перебувають під контролем складних метаболічних механізмів, на проходження яких впливає геомагнітне поле Землі (Erdmann et al., 2017).



Рис. 7. Антимагнітна камера (зовнішній вигляд) - камера, ізольована від магнітного поля Землі (Erdmann et al., 2017).

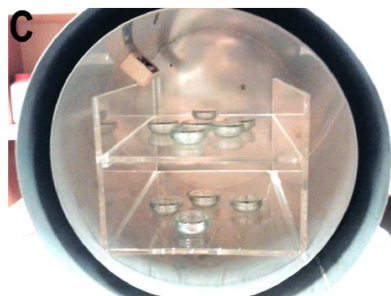


Рис. 8. Усередині антимагнітної камери розташовуються чашки Петрі з тихоходками (Erdmann et al., 2017).

Результати досліджень, проведених Erdmann W. з колегами (2017), наведені на рисунках 7-10 (Erdmann et al. 2017).

1) Що таке «ангідробіоз»? _____

2) Використовуючи дані рисунка 9, вкажіть рівень смертності тихоходок на стадії входу в ангідробіоз в присутності геомагнітного поля Землі _____ і в умовах його екранування _____.

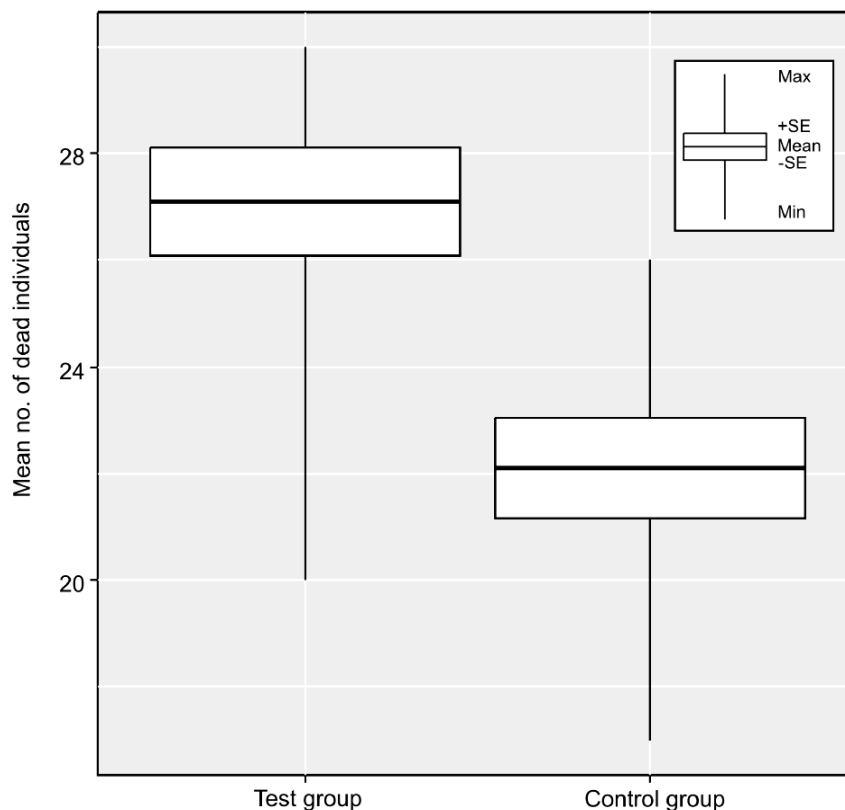


Рис. 9. Смертність тихоходок *Hypsibius dujardini* на стадії входу в ангідробіоз в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі (Control group) і в умовах екранування геомагнітного

поля Землі антимагнітною камерою (Test group). Де: по осі ОУ - смертність тихоходок, (Mean no. Of individuals); по осі ОХ - магнітні умови експерименту (Erdmann et al., 2017).

3) Використовуючи дані рисунка 10, вкажіть рівень смертності тихоходок на стадії виходу зі стану ангідробіозу в присутності геомагнітного поля Землі _____ і в умовах його екранування _____.

4) Як вплинуло екранування геомагнітного поля Землі на виживаність тихоходок на стадіях входу і виходу зі стану ангідробіозу? _____

5) Вкажіть рівень смертності тихоходок в умовах екранування геомагнітного поля Землі на стадії входу в ангідробіоз _____ і на стадії виходу з ангідробіозу _____. Яка зі стадій є більш чутливою до відсутності геомагнітного поля? _____

б) Проведені Erdmann W. з колегами (2017) дослідження показали, що екранування геомагнітного поля Землі підвищує рівень смертності тихоходок тільки під час входу і виходу зі стану ангідробіозу, але не в звичайних умовах і не в стані самого ангідробіозу. Поясніть отримані дані _____

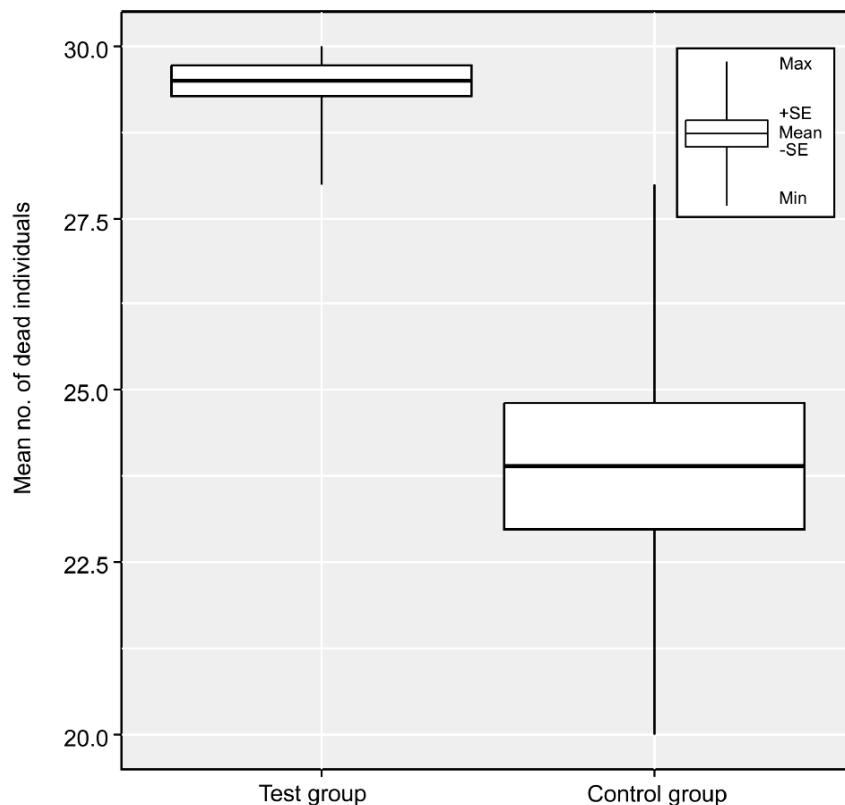


Рис. 10. Смертність тихоходок *Hypsibius dujardini* на стадії виходу зі стану ангідробіозу в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі (Control group) і в умовах екранування геомагнітного поля Землі антимагнітною камерою (Test group). Де: по осі ОУ - смертність тихоходок, (Mean no. Of individuals); по осі ОХ - магнітні умови експерименту (Erdmann et al., 2017).

Завдання 4. Екранування геомагнітного поля Землі призводить в клітинах нейробластоми до зниження синтезу реактивних форм кисню і активує поділ цих клітин. У ряді робіт було показано несприятливий вплив екранування геомагнітного поля Землі на метаболічні процеси і рівень оксидативного стресу в клітинах організмів. Однак, механізми впливу гіпомагнітних умов на організми, залишаються нез'ясованими.

Zhang Н.Т. з колегами (2017) переносили клітини нейробластоми людини в гіпомагнітні умови і вивчали вплив таких магнітних умов на поділ клітин і на концентрацію

в клітинах реактивних форм кисню. *NB! Нейробластома - це злоякісна недиференційована пухлина нервової системи, яка складається з дрібних круглих клітин з темно-плямистими ядрами (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

*NB! В стресових умовах клітини всіх живих організмів синтезують реактивні форми кисню (пероксид водню, синглетний кисень, вільнорадикальний гідроксид-іон). В малих концентраціях - це сигнальні молекули, які включають захисні механізми клітин; тоді як у високих концентраціях (які спостерігаються при сильному стресі) - ці молекули викликають пошкодження в клітинах, оскільки за своєю структурою є агресивними вільними радикалами. При цьому для самозахисту від пошкодження реактивними формами кисню - клітини синтезують захисні молекули і ферменти (в т.ч. супероксид-дисмутазу, каталазу і т.н.).

Проведені Zhang Н.Т. з колегами (2017) дослідження показали, що екранування геомагнітного поля Землі (гіпомагнітні умови) призводить до зниження рівня реактивних форм кисню в клітинах і до активування процесів їх поділу. При цьому відновлення рівня реактивних форм кисню в клітинах за допомогою додавання пероксиду водню (H_2O_2) - зупиняло посилений поділ клітин нейробластоми. *NB! Слід підкреслити, що низький рівень реактивних форм кисню не був пов'язаний з посиленням синтезом захисних ферментів - їх рівень також виявився дуже низьким. Це підтверджує той факт, що гіпомагнітні умови дійсно пригнічують синтез реактивних форм кисню (Zhang et al., 2017).

Результати досліджень Zhang Н.Т. з колегами (2017) наведені на рисунку 11.

1) Використовуючи дані рисунка 11 А, вкажіть рівень реактивних форм кисню в клітинах нейробластоми в умовах дії нормального геомагнітного поля Землі _____ і в умовах екранування геомагнітного поля Землі (гіпомагнітні умови) _____.

2) Відомо, що реактивні форми кисню синтезуються в клітинах у відповідь на стресові умови навколишнього середовища. Чи можна на підставі даних, отриманих Zhang Н.Т. з колегами (2017), зробити висновок про те, що екранування геомагнітного поля Землі не є стресом для клітин живих організмів? *NB! Зверніть увагу на той факт, що ферменти, які синтезують реактивні форми кисню, є чутливими до магнітного поля Землі _____

3) Використовуючи дані рисунка 11В, вкажіть кількість клітин нейробластоми в культуральному середовищі в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі _____ і в умовах екранування геомагнітного поля Землі (гіпомагнітні умови) _____.

4) Як вплинуло екранування геомагнітного поля Землі на інтенсивність поділу клітин нейробластоми? _____.

*NB! Кількість клітин опосередковано свідчить про швидкість поділу клітин.

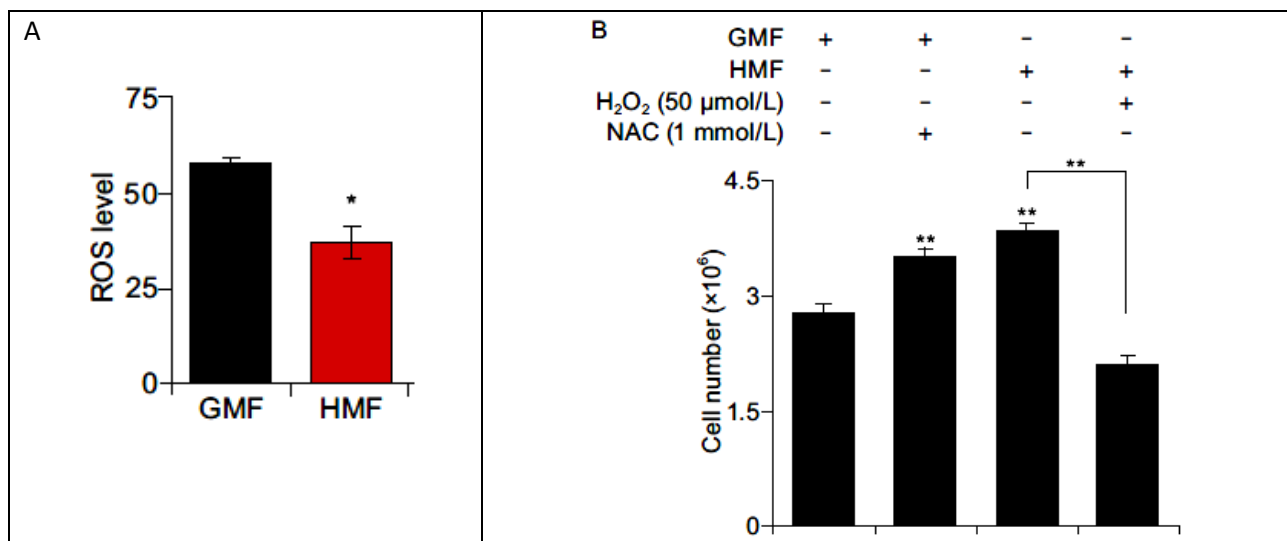


Рис. 11. Вплив екранування геомагнітного поля Землі (гіпомагнітні умови) на рівень реактивних форм кисню і на швидкість поділу клітин нейробластоми. Де: (А) - рівень реактивних форм кисню в клітинах нейробластоми (ROS level) в умовах дії геомагнітного

поля Землі (GMF) і в гіпомагнітному полі (НMF); (В) - зміна кількості клітин нейробластоми (Cell number $\times 10^6$) в різних експериментальних умовах; GMF - геомагнітне поле Землі; НMF - гіпомагнітне поле; H_2O_2 (50 $\mu\text{mol/L}$) - додавання до культурального середовища пероксиду водню в концентрації 50 $\mu\text{mol/L}$; NAC (1 mmol/L) - додавання до культурального середовища антиоксиданту NAC (ацетилцистеїну) в концентрації 1 mmol/L ; *NB! Ацетилцистеїн знижує рівень реактивних форм кисню в клітинах і мімікрує вплив гіпомагнітного поля на поділ клітин нейробластоми. Додавання до культурального середовища 50 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 в умовах дії гіпомагнітного поля усуває індуковані гіпомагнітним полем ефекти на рівень реактивних форм кисню в клітинах і на швидкість поділу клітин до рівня контролю, тобто впливу геомагнітним полем Землі (GMF) (Zhang et al., 2017).

5) Попередні дослідження показали, що гіпомагнітні умови супроводжувалися зниженням рівня реактивних форм кисню в клітинах. Для встановлення можливого впливу реактивних форм кисню на швидкість поділу клітин нейробластоми - автори додали пероксид водню (одну з реактивних форм кисню) до клітин нейробластоми в умовах екранування геомагнітного поля Землі. Використовуючи дані рисунка 11В, вкажіть кількість клітин нейробластоми в поживному середовищі в умовах екранування геомагнітного поля Землі (гіпомагнітні умови) _____ і в умовах додавання пероксиду водню (реактивні форми кисню) до клітин в гіпомагнітних умовах _____.

6) Як вплинуло додавання пероксиду водню (реактивних форм кисню) в умовах екранування геомагнітного поля Землі на інтенсивність поділу клітин нейробластоми?

7) Зробіть висновок про те, чому в гіпомагнітних умовах підвищується швидкість поділу клітин нейробластоми? _____

8) Для підтвердження своїх висновків про роль реактивних форм кисню в поділі клітин, автори дослідження, в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі, додали до клітин нейробластоми ацетилцистеїн (NAC), який знижує рівень реактивних форм кисню в клітинах. Використовуючи дані рисунка 11В, вкажіть кількість клітин нейробластоми в культуральному середовищі в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі _____ і в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі і додавання до клітин ацетилцистеїну (NAC), який знижує рівень реактивних форм кисню в клітинах _____.

9) Як вплинуло зниження рівня реактивних форм кисню за допомогою ацетилцистеїну на інтенсивність поділу клітин нейробластоми? _____

10) Чи підтверджує даний експеримент висновки про те, що зниження рівня реактивних форм кисню в клітинах супроводжується підвищенням швидкості їх поділу? _____

11) Як Ви вважаєте, чому після додавання до клітин пероксиду водню - інтенсивність поділу клітин впала навіть нижче контрольних значень (тобто рівня поділів, характерного для умов дії нормального геомагнітного поля Землі)? _____

*NB! Подальші дослідження Zhang H.T. з колегами (2017) показали, що гіпомагнітні умови стимулюють поділ клітин нейробластоми за рахунок полегшення переходу між G1/S фазами клітинного циклу, який в нормі супроводжується зниженням рівня реактивних форм кисню в клітинах. В ході експерименту, клітини нейробластоми синхронізували в G1-фазі клітинного циклу. Через 16 годин клітини почали входити в S-фазу клітинного циклу. При цьому після дії експериментального гіпомагнітного поля - в S-фазу увійшло більше клітин, ніж за умови дії геомагнітного поля Землі. Одночасно, рівень реактивних форм кисню був нижче в групі, яка піддавалася впливу гіпомагнітного поля.

Завдання 5. Екранування геомагнітного поля Землі призводить до пригнічення гравітропічної реакції стебел льону. Сьогодні з гіпогеомагнітними умовами людина стикається в метро, в спеціальних екранованих приміщеннях, в умовах космічного польоту і

т.н. Однак, механізм впливу близьконульового геомагнітного поля на живі організми - залишається практично не вивченим.

Батракова А.А. з колегами (2018) вивчали вплив екранування геомагнітного поля Землі (гіпомагнітні умови) на величину гравітропічного вигину у відрізків стебел льону. Результати проведених досліджень наведені на рисунку 13.



Рис. 12. Льон дворічний (*Linum bienne*) (https://species.wikimedia.org/wiki/Linum_bienne).

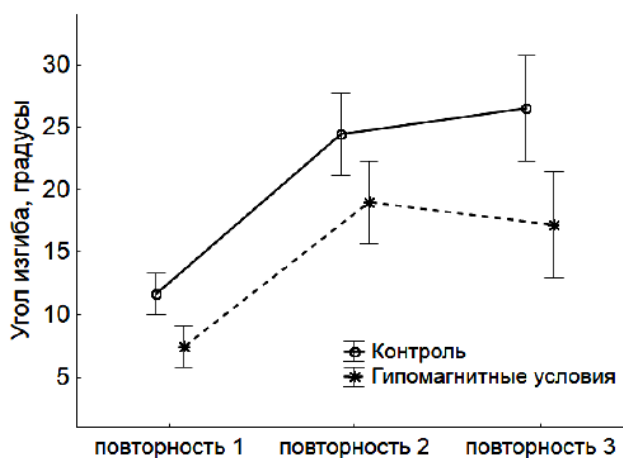


Рис. 13. Кут вигину відрізків стебел льону в експериментальних і контрольних варіантах для кожної повторності дослідження (Батракова та ін., 2018).

- 1) Що таке гравітропізм? _____
- 2) Використовуючи дані рисунка 13, вкажіть величину гравітропічного вигину у відрізків стебел льону в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі (контроль) для кожної з трьох повторностей експерименту: _____
- 3) Розрахуйте середнє значення величини гравітропічного вигину відрізків стебел льону в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі _____
- 4) Використовуючи дані рисунка 13, вкажіть величину гравітропічного вигину у відрізків стебел льону в умовах екранування геомагнітного поля Землі (гіпомагнітні умови) для кожної з трьох повторностей експерименту: _____
- 5) Розрахуйте середнє значення величини гравітропічного вигину стебел льону в умовах екранування геомагнітного поля Землі (гіпомагнітні умови) _____
- 6) Як вплинуло екранування геомагнітного поля Землі на величину гравітропічного вигину у відрізків стебел льону? _____
- 7) Для пагонів рослин характерний негативний гравітропізм: якщо пагон розташувати горизонтально на поверхні Землі, то під дією сили тяжіння в клітинах нижньої частини пагону накопичується фітогормон ауксин, який активує ріст нижніх клітин пагону. Це призводить до згинання пагону і він починає рости вгору (<https://en.wikipedia.org/wiki/Gravitropism>). Використовуючи цю інформацію, спробуйте пояснити, яким є можливий механізм ослаблення гравітропічної реакції у відрізків стебел льону в умовах екранування геомагнітного поля Землі _____

*NB! Багато біохімічних реакцій в клітинах є магнітозалежними (тобто, такими, що залежать від параметрів електромагнітних полів в клітинах). Батракова А.А. з колегами (2018) вважають, що екранування геомагнітного поля Землі могло привести до пригнічення проходження магнітозалежних біохімічних реакцій, задіяних у формуванні гравітропічної реакції.

Завдання 6. Техногенні пульсуючі низькочастотні електромагнітні поля активують в клітинах тварин продукцію реактивних форм кисню (ROS) через механізм, який включає білки кріптохроми; при цьому синтезовані ROS змінюють транскрипцію значної кількості генів в клітинах. Не дивлячись на значну стурбованість і населення, і фахівців з приводу шкідливого впливу техногенних електромагнітних полів на здоров'я людини, магнітні поля сьогодні широко застосовуються в якості терапевтичних інструментів в регенеративній медицині, онкології, ортопедії та неврології. Цей парадокс не може бути вирішений до тих пір, поки не будуть встановлені клітинні механізми, які лежать в основі таких ефектів.

Sherrard R.M. з колегами (2018) було показано, що експонування клітин тварин на пульсуючому низькочастотному електромагнітному полі (PEMFs, з піковою амплітудою 1,8 мТл, частотою 10 Гц - параметри поля, які використовуються в терапевтичній медицині) стимулює швидке накопичення в клітинах реактивних форм кисню (т.зв. ROS) - потенційно небезпечних метаболітів, які відіграють важливу роль в ході стресової відповіді і старіння клітин. Після впливу PEMF - ріст клітин сповільнюється і індуються гени, чутливі до реактивних форм кисню (т.зв. ROS-чутливі гени). Ці ефекти вимагають наявності кріптохрому, білка-магнітосенсора, який синтезує реактивні форми кисню (ROS).

В результаті проведених досліджень, Sherrard R.M. з колегами (2018) дійшли до висновку, що зміни вмісту внутрішньоклітинних реактивних форм кисню (ROS) через активування кріптохромів є загальною реакцією на низькочастотні електромагнітні поля, яка може пояснити терапевтичний або патологічний ефекти електромагнітних полів в залежності від інтенсивності і тривалості впливу поля (Sherrard et al., 2018).

Результати досліджень, проведених Sherrard R.M. з колегами (2018), наведені на рисунках 14-17. На рисунку 14А показана природна реакція уникнення личинками мушок дрозофіл статичних магнітних полів. Личинки, що вилупилися з яєць, здатні вільно переміщатися по експериментальній камері протягом декількох днів перед тим, як вони сформують нерухому лялечку для проходження подальшого метаморфоза. При впливі зовнішніх електромагнітних полів - розташування лялечок в експериментальній камері втрачає випадковий характер: показано уникнення кута, на який впливали зовнішнім полем (пульсуюче низькочастотне електромагнітне поле з піковою амплітудою 1,8 мТл і частотою поля 10 Гц).

1) Використовуючи дані рисунка 14В, вкажіть для дикої лінії мушок дрозофіл (лінія WTS) відсоток личинок мушок дрозофіл в кутку експериментальної камери, який піддавався впливу електромагнітним полем, _____ і в кутах (середнє зі значень для інших трьох кутів), що не піддавалися впливу електромагнітним полем _____.

2) Вкажіть для мутантної по гену кріптохрому лінії мушок дрозофіл (лінія cry02) відсоток личинок мушок дрозофіл в кутку експериментальної камери, який піддавався впливу електромагнітним полем, _____ і в кутах (середнє зі значень для інших трьох кутів), що не піддавалися впливу електромагнітним полем _____.

3) Чи здатні личинки, дефектні по гену кріптохрому, уникати кут експериментальної камери, на який діють електромагнітним полем? _____.

4) Личинкам лінії, яка є дефектною по двом власним генам кріптохромів, методами генної інженерії було перенесено робочий ген кріптохрому-1 людини (лінія Hs Cry1). Вкажіть для цієї лінії Hs Cry1, яка експресує ген кріптохрому-1 людини, відсоток личинок мушок дрозофіл в кутку експериментальної камери, який піддавався впливу електромагнітним полем, _____ і в кутах (середнє зі значень для інших трьох кутів), що не піддавалися впливу електромагнітним полем _____.

5) Зробіть висновок про необхідність роботи гена кріптохрому для формування реакції уникнення електромагнітних полів у личинок мушок дрозофіл _____.

*NB! Слід зазначити, що уникнення кута з надмірною дією електромагнітного поля відбувається лише в присутності блакитного світла, яке активує кріптохроми мушки дрозофіли. В умовах дії червоного світла - уникнення не відбувається, оскільки червоне світло не активує кріптохроми дрозофіл (Sherrard et al., 2018).

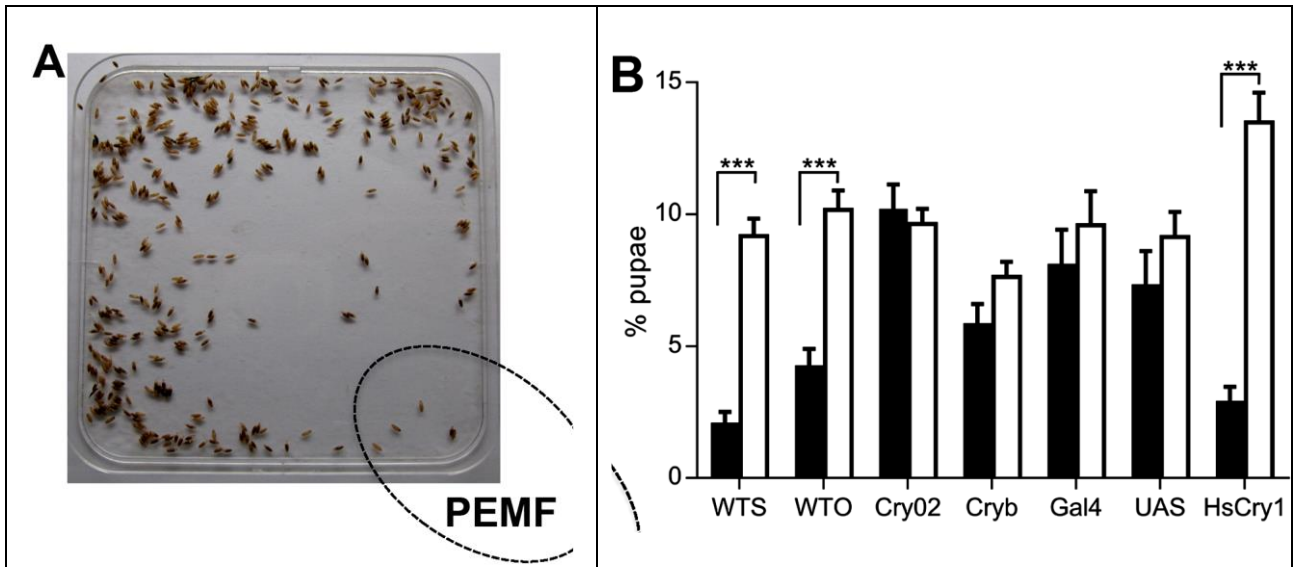


Рис. 14. Поведінка уникнення у личинок мушок дрозофіл (*Drosophila*) у відповідь на вплив пульсуючого низькочастотного електромагнітного поля (PEMF). Де: (A) - розподіл личинок дикої лінії мушок дрозофіл в експериментальній камері після 96 годин впливу експериментальним електромагнітним полем в зазначеному (PEMF) кутку камери; (B) - відповідь на дію експериментального електромагнітного поля, виражена у відсотках від личинок в кутах чашки Петрі: чорні стовпці - відсоток личинок в кутку, який піддавався впливу електромагнітного поля (PEMF), білі стовпці - середня кількість личинок (у відсотках) в неекспонованих на електромагнітному полі кутах (середнє значення з 3 неекспонованих кутів); WTS - дика лінія мушок дрозофіл Canton S; WTO - дика лінія мушок дрозофіл Oregon; cry02 і cryb - мутантні лінії мушок дрозофіл, дефектні по генам білків кріптохромів; Gal4 і UAS – штами, які не експресують кріптохроми, і які є батьківськими для гібрида (tim-gal4; cry02 × UAS-Hscry1; cry02) (HsCry1), який експресує білок кріптохром-1 людини HsCry1 (Sherrard et al., 2018).

Подальші дослідження Sherrard R.M. з колегами (2018) дозволили пояснити причину поведінки уникнення експериментального електромагнітного поля личинками мушок. Було встановлено, що побічним продуктом активування кріптохромів є синтез реактивних форм кисню (ROS), вочевидь, задіяних в сигнальних шляхах цих молекул.

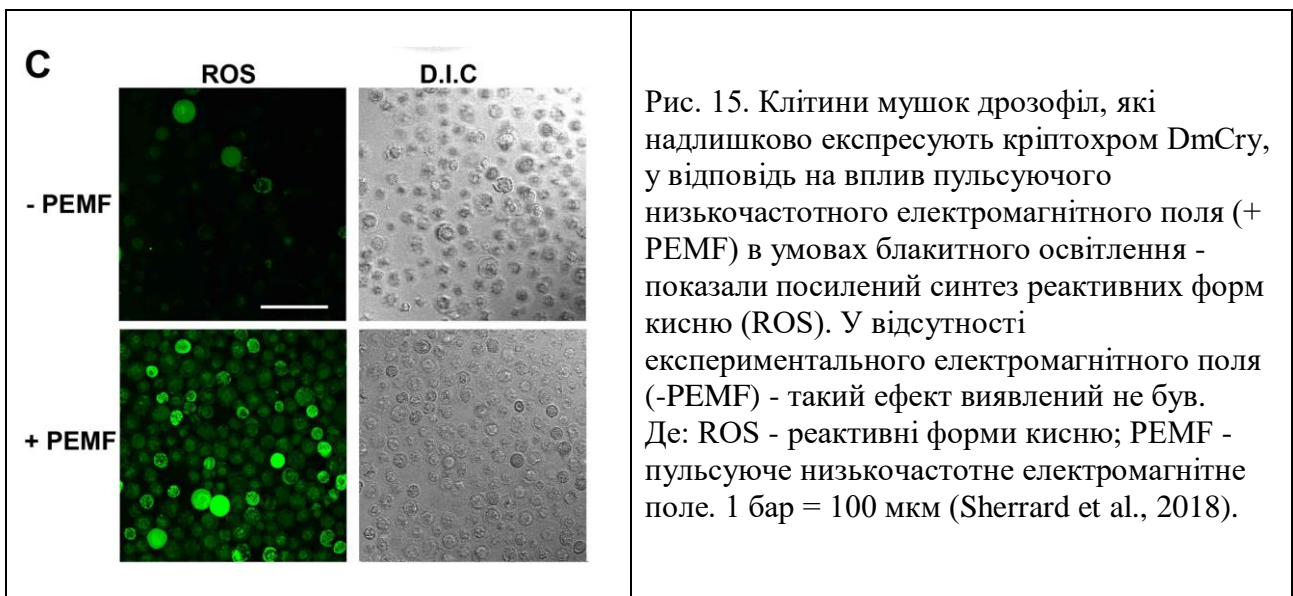


Рис. 15. Клітини мушок дрозофіл, які надлишково експресують кріптохром DmCry, у відповідь на вплив пульсуючого низькочастотного електромагнітного поля (+PEMF) в умовах блакитного освітлення - показали посилений синтез реактивних форм кисню (ROS). У відсутності експериментального електромагнітного поля (-PEMF) - такий ефект виявлений не був. Де: ROS - реактивні форми кисню; PEMF - пульсуюче низькочастотне електромагнітне поле. 1 бар = 100 мкм (Sherrard et al., 2018).

А оскільки високі концентрації ROS є токсичними для клітин - це пояснює поведінку уникнення у личинок мушок дрозофіл. *NB! Тоді як фізіологічні концентрації ROS -

володіють позитивною дією на організми. І цим можна пояснити терапевтичний ефект використання електромагнітних полів в медицині.

*NB! Sherrard R.M. з колегами (2018) було показано, що в клітинах комах, які не експресують кріптохроми, - вплив експериментальним електромагнітним полем не призводив до посилення продукції ROS.

Отримані дані свідчать про те, що пульсуюче низькочастотне електромагнітне поле сприяє накопиченню в клітинах комах молекул ROS і цей ефект вимагає присутності кріптохромів. При цьому вважають, що кріптохроми здатні самі продукувати молекули ROS.

б) Аналогічні результати були отримані Sherrard R.M. з колегами (2018) і на культурі клітин людини. Використовуючи дані рисунка 16А, вкажіть рівень продукції пероксиду водню (одна з реактивних форм кисню в клітинах) ембріональними клітинами нирок людини (лінія WT, яка експресує кріптохром) в умовах впливу експериментальним пульсуючим низькочастотним електромагнітним полем (PEMF) _____ і в звичайних умовах (Sham) _____.

7) Як вплинуло пульсуюче низькочастотне електромагнітне поле на рівень реактивних форм кисню в клітинах людини, які синтезують білки кріптохроми? _____.

8) Вкажіть рівень продукції пероксиду водню ембріональними клітинами нирок людини (лінія HsCry KD, дефектна по синтезу кріптохрому) в умовах впливу експериментальним пульсуючим низькочастотним електромагнітним полем (PEMF) _____ і в звичайних умовах (Sham) _____.

9) Як вплинуло пульсуюче низькочастотне електромагнітне поле на рівень реактивних форм кисню в мутантних клітинах людини, які не синтезують білки кріптохроми? _____.

10) На рисунку 16В показана кількість клітин в різних умовах їх вирощування, яка опосередковано свідчить про швидкість поділу клітин. Вкажіть кількість клітин лінії WT, яка експресує кріптохром, в умовах впливу експериментальним електромагнітним полем (PEMF) _____ і в звичайних геомагнітних умовах (Sham) _____.

11) Як вплинула дія пульсуючим низькочастотним електромагнітним полем на швидкість поділу клітин людини? _____.

12) Чому в умовах дії експериментального поля - клітини уповільнюють свій поділ? _____.

13) Вкажіть кількість клітин мутантної HsCry KD лінії, яка не експресує кріптохроми, в умовах впливу експериментальним електромагнітним полем (PEMF) _____ і в звичайних умовах (Sham) _____.

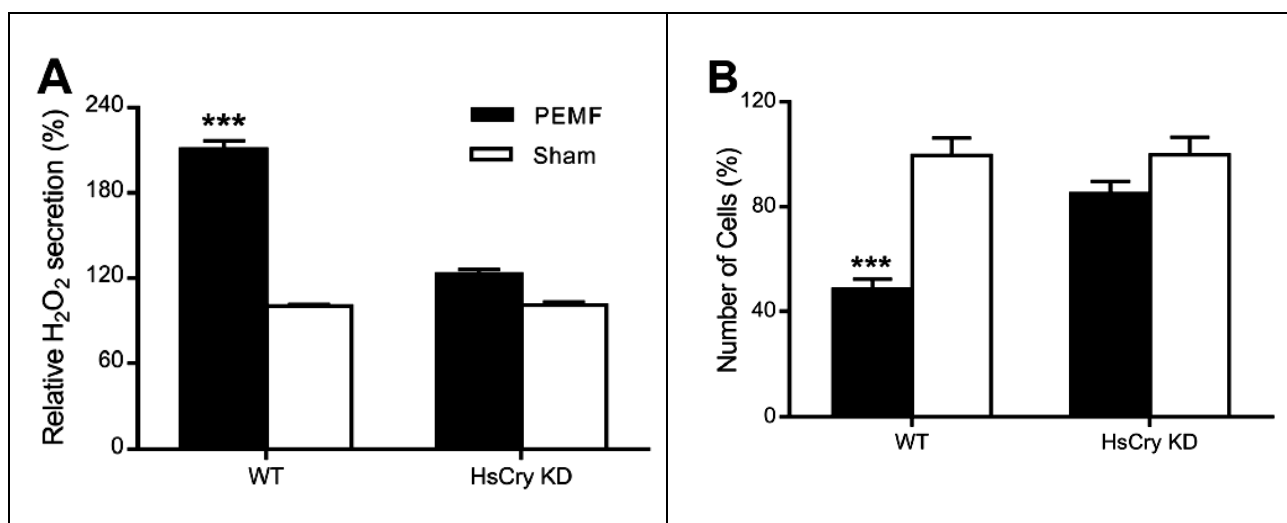


Рис. 16. Відповідь культури клітин ссавців (НЕК293) на вплив пульсуючим низькочастотним електромагнітним полем (PEMF). Де: (А) - рівень секреції пероксиду водню клітинами

культури (Relative H₂O₂ secretion,%) вихідної лінії (WT) і лінії, що не експресує кріптохроми (HsCry KD, лінія з подвійним нокдауном генів кріптохромів), які вирощувалися протягом 48 годин в присутності експериментального електромагнітного поля (PEMF, чорні стовпчики) або за його відсутності (Sham, білі стовпчики). Концентрацію H₂O₂ в культуральному середовищі визначали з використанням флуоресцентної системи виявлення Amplex Red і нормалізували щодо кількості клітин. На графіку представлена відносна концентрація H₂O₂ в клітинах, оброблених PEMF (PEMF, чорні стовпчики), в порівнянні з необробленим експериментальним полем контрольним зразком (Sham, білі стовпчики). Де: HEK293 - ембріональні ниркові клітини людини; HsCry, human cryptochrome - кріптохром людини; KD, knockdown - нокдаун гена; PEMF, pulsed electromagnetic field - пульсуюче електромагнітне поле; WT, wild-type - дикий тип. (В) Відносна кількість клітин на лунку в PEMF-оброблених клітинах (PEMF, чорні стовпчики) в порівнянні з контрольним (Sham, білі стовпчики) необробленим експериментальним полем зразком (Sherrard et al., 2018).

- 14) Як вплинула дія пульсуючим низькочастотним електромагнітним полем на швидкість поділу клітин людини, мутантних по кріптохромам? _____.
- 15) Чому в умовах дії експериментального електромагнітного поля - мутантні по кріптохромам клітини не уповільнили свій поділ? _____.

Таким чином, клітинні лінії ссавців, дефектні по синтезу кріптохромів, не продемонстрували зростання концентрації ROS і пригнічення поділу клітин у відповідь на вплив імпульсним низькочастотним електромагнітним полем, на відміну від диких ліній, що синтезують кріптохроми. Вочевидь, виявлені ефекти експериментального електромагнітного поля, опосередковуються через активність білків кріптохромів і через формування ROS в клітинах людини.

Щоб додатково визначити ефекти імпульсних низькочастотних електромагнітних полів (PEMF) і зв'язати їх з терапевтичними наслідками, які спостерігаються у людей, Sherrard R.M. з колегами (2018) провели ДНК-мікрочіп аналіз експресії генів в ембріональних ниркових клітинах людини (лінія HEK293), культивованих з або без 3-годинного стимулювання PEMF.

Проведені дослідження показали, що експресія кількох сотень генів була посилена або пригнічена в результаті впливу PEMF. Серед цих транскриптів - значна частина кодувала білки, локалізовані в компартментах ядра, апарату Гольджі і ендоплазматичному ретикулумі.

Крім того, промоторний аналіз PEMF-індукованих генів показав, що більшість (75%) містила промоторні елементи, про які відомо, що вони взаємодіють з ROS-чутливими факторами транскрипції. Ці дані узгоджуються з тим, що після впливу PEMF - в клітинах відбувається стимуляція роботи ROS-чутливих генів (Sherrard et al., 2018).

Завдання 7. Сильне магнітне поле - уповільнює ріст ракових пухлин. Raylman R.R. з колегами (1996) вивчали можливий ефект інтенсивного постійного магнітного поля на ріст ракових пухлин. Для цього, автори роботи експонували клітини ракових пухлин на постійному магнітному полі напруженістю 7 Тл протягом 64 годин. Після впливу визначали кількість життєздатних клітин пухлин, структуру їх клітинного циклу і можливість фрагментації ДНК в присутності інтенсивного магнітного поля.

Проведені дослідження показали, що 64-годинний вплив сильним магнітним полем призводив до зменшення кількості життєздатних клітин в кожній з трьох тестованих клітинних ліній ракових пухлин. При цьому проточна цитометрія не виявила змін в клітинному циклі пухлинних клітин.

Не було також виявлено збільшення кількості розривів ДНК, пов'язаних з впливом магнітного поля. Таким чином, механізм, який лежить в основі інгібування життєздатності ракових клітин під впливом сильного магнітного поля - є поки що невстановленим.

Однак, подальші дослідження Raylman R.R. з колегами (1996) показали, що після зняття дії сильного магнітного поля вже на другий-третій день швидкість поділу ракових клітин відновилася і відповідала швидкості поділу ракових клітин, які вирощувалися в умовах звичайного геомагнітного поля Землі напруженістю 50 мкТл (Raylman et al., 1996).

Результати експериментальної роботи Raylman R.R. з колегами (1996) наведені на рисунках 17-18.

1) Використовуючи дані рисунка 17, вкажіть кількість життєздатних клітин пухлини лінії НТВ 77 IP3, яку було експоновано в умовах звичайного геомагнітного поля Землі, напруженістю 50 мкТл, _____ і клітин пухлини лінії НТВ 77 IP3, яку було експоновано в умовах інтенсивного магнітного поля, напруженістю 7 Тл _____.

2) Як вплинуло інтенсивне магнітне поле на кількість життєздатних клітин ракової пухлини лінії НТВ 77 IP3? _____.

3) У наступній серії експериментів - автори роботи вивчали, як впливає тривалість відновного періоду після впливу сильним магнітним полем на життєздатність клітин ракової пухлини. Використовуючи дані рисунка 18, вкажіть кількість життєздатних клітин пухлини лінії Raji, яка експонувалася в умовах звичайного геомагнітного поля Землі, напруженістю 50 мкТл, _____ і пухлини лінії Raji, яка вирощувалася в умовах інтенсивного магнітного поля, напруженістю 7 Тл, _____ відразу після завершення експерименту. Як вплинуло інтенсивне магнітне поле на кількість життєздатних клітин ракової пухлини лінії Raji? _____.

4) Вкажіть кількість життєздатних клітин пухлини лінії Raji, яка експонувалася в умовах звичайного геомагнітного поля Землі, напруженістю 50 мкТл, _____ і пухлини лінії Raji, яка вирощувалася в умовах інтенсивного магнітного поля, напруженістю 7 Тл _____ через два дні після завершення експерименту.

5) Як Ви вважаєте, на підставі отриманих результатів - чи можна рекомендувати використання сильних магнітних полів для лікування ракових пухлин у людей? Поясніть свою відповідь. _____.

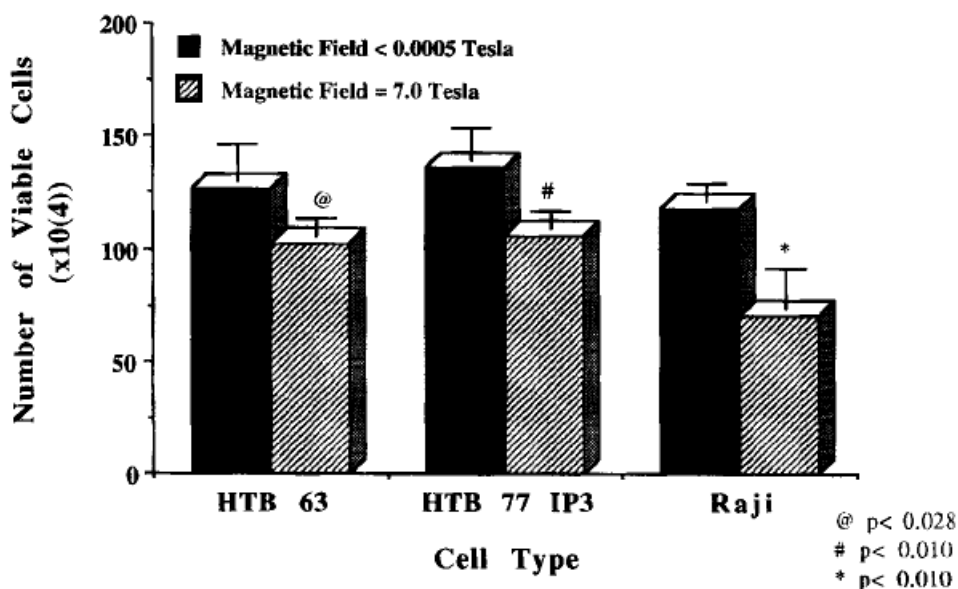


Рис. 17. Кількість життєздатних клітин трьох різних ракових ліній в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі (Magnetic Field <math>< 0,0005\text{ Tesla}</math>, чорні стовпчики гістограм) і в умовах дії інтенсивного магнітного поля, напруженістю 7 Тл (Magnetic Field = 7,0 Tesla, сірі стовпчики гістограм зі штрихуванням). Де: по осі ОУ - кількість життєздатних клітин, (Number of Viable Cells x 104); по осі ОХ - досліджені клітинні лінії ракових пухлин (HTB 63, HTB 77 IP3, Raji); Cell Type - клітинні лінії (Raylman et al., 1996).

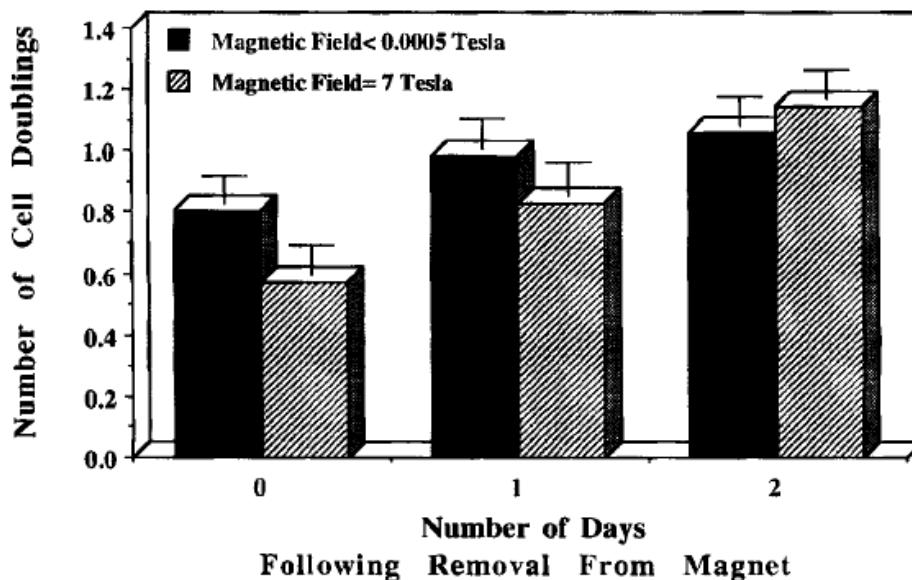


Рис. 18. Швидкість росту пухлинної клітинної лінії Raji після зняття впливу інтенсивного експериментального магнітного поля на 1-2 добу після експерименту. Де: по осі ОУ - швидкість подвоєння кількості клітин, (Number of Cell Doublings); по осі ОХ - дні після закінчення впливу на клітини експериментальним магнітним полем, (Number of Days Following Removal From Magnet); чорні стовпчики гістограм - клітинна лінія, яка вирощувалася в умовах дії звичайного геомагнітного поля Землі (Magnetic Field < 0,0005 Tesla); сірі стовпчики гістограм зі штрихуванням - клітинна лінія, яка піддавалася впливу інтенсивним магнітним полем, напруженістю 7 Тл (Magnetic Field = 7,0 Tesla) (Raylman et al., 1996).

Завдання 8. Антропогенні електромагнітні поля порушують міграційний магнітний компас птахів. Електромагнітний шум є всюди, де люди використовують електронні пристрої. Engels S. з колегами (2014) було встановлено, що перелітні птахи не спроможні використовувати свій магнітний компас в присутності міського електромагнітного шуму.

Коли європейські малинівки, *Erithacus rubecula*, піддавалися впливу фонового електромагнітного шуму, присутнього в неекраниваних дерев'яних будиночках в університетському містечку Ольденбурзького університету, вони не могли орієнтуватися, використовуючи свій магнітний компас.

Однак, їх здатність до магнітної орієнтації знову з'являлася в електрично заземлених будиночках з алюмінієвим екраном, який послаблював електромагнітні шуми в діапазоні частот від 50 кГц до 5 МГц приблизно на два порядки.



Рис. 19. Європейська малинівка (*Erithacus rubecula*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Erithacus+rubecula>).

Коли заземлення було знято або коли всередині екраниваних і заземлених будиночків навмисне створювався широкосмуговий електромагнітний шум, птахи знову втрачали свої магнітні орієнтаційні можливості. Птахи, протестовані далеко від джерел електромагнітного шуму, не потребували екранування, щоб орієнтуватися за допомогою свого магнітного компаса. Результати досліджень Engels S. з колегами (2014) наведено на рисунку 20.

1) За допомогою яких двох механізмів птахи здатні орієнтуватися в геомагнітному полі Землі під час міграцій? _____

2) Навесні мігруючі птахи Північної півкулі летять на північ, повертаючись додому. Використовуючи дані рисунка 20, вкажіть середній напрямок польоту мігруючих європейських малинівок (*Erithacus rubecula*) в умовах весняного експерименту в дерев'яних будиночках неекраниваних (рис. 20а) _____ і екраниваних (рис. 20б) _____ від міського електромагнітного шуму.

3) Поясніть, чому в умовах міського електромагнітного шуму середній напрямок польотів європейських мігруючих малинівок відрізнявся від північного? _____

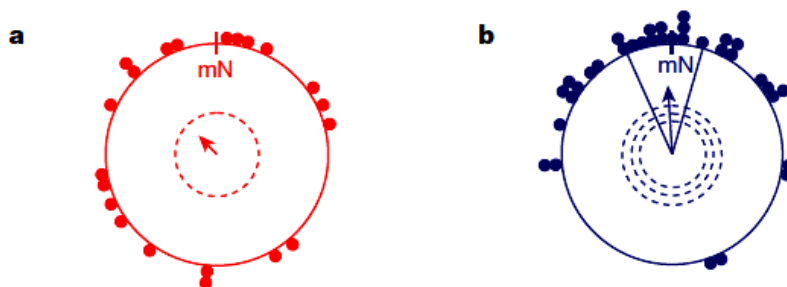


Рис. 20. Орієнтація за допомогою магнітного компаса у мігруючих європейських малинівок (*Erithacus rubecula*), протестованих в університеті Ольденбурга в умовах дії електромагнітних шумів, вимагає екранування алюмінієм. В умовах весняного експерименту в неекраниваних дерев'яних будиночках університетського містечка європейські малинівки були дезорієнтовані (рис. а, весна, 2005 р.), але після встановлення заземлених алюмінієвих екранів птахи були орієнтовані на північ (рис. б, весна, 2007 р.). На кругових діаграмах а і б кожна точка вказує середню орієнтацію всіх тестів для одного окремого птаха в умовах даного експерименту. Стрілки показують середні по групах вектори, граничні з 95%-ним довірчим інтервалом (суцільні лінії). Літерами mN вказано положення північного магнітного полюса (Engels et al., 2014).

Контрольні питання:

1. Будова магнітного поля Землі і його захисна роль.
2. Механізм формування магнітного поля Землі.
3. Вплив магнітного поля Землі на функціонування живих організмів.
4. Використання магнітного поля Землі живими організмами для орієнтації в просторі.
5. Причини виникнення збурень магнітного поля Землі і їх вплив на живі організми.
6. Вплив техногенного електромагнітного поля на живі організми.

Література:

Батракова А.А., Сиделев С.И., Крылов В.В. Влияние гипомагнитных условий на гравитропическую реакцию стеблей льна (*Linum bienne*) и плодовитость дафний (*Daphnia magna*) // Труды Института биологии внутренних вод РАН. – 2018. – Вып. 84(87). – С. 117 – 121.

Богатина Н.И., Шейкина Н.В. Влияние амплитуды и частоты комбинированного магнитного поля на гравитропическую реакцию растений и низкочастотное электромагнитное излучение, генерируемое ими в процессе роста. Сборник избранных трудов V Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». <http://www.biophys.ru/archive/congress2009/pro-p23.pdf>.

Богатина Н.И., Шейкина Н.В., Кордюм Е.Л. Влияние ориентации корней относительно комбинированного магнитного поля на изменение гравитропической реакции корней кресс-салата и кукурузы. Эксперимент и новая гипотеза, механизм адаптации // Фізика живого. – 2011. - Т. 19, № 2. - С. 13-23.

- Демцун Н.А., Махонина М.М., Темурьянц Н.А., Мартынюк В.С. Влияние электромагнитного экранирования различной продолжительности на регенерацию планарий *Dugesia tigrina* // Физика живого. – 2008. – Т. 16. № 1. – С. 68-73.
- Тирас Х.П., Петрова О.Н., Мякишева С.Н., Асланиди К.Б. Биологические эффекты слабых магнитных полей: сравнительный анализ // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 12 (часть 7). – С. 1442-1451.
- Шейкина Н.В., Богатина Н.И., Кордюм Е. Л. Влияние комбинированного магнитного поля на гравитропическую реакцию растений и спектр электромагнитного излучения, генерируемого ими в процессе роста // Радиопизика и электроника. – 2005. – Т. 10, № 2. – С. 331 – 335.
- Aldrich T.E., Andrews K.W., Liboff A.R. Brain cancer risk and electromagnetic fields (EMFs): assessing the geomagnetic component // Arch. Environ. Health. – 2001. – Vol. 56(4). – P. 314 - 319.
- Asashima M., Shimada K., Pfeiffer C.J. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster* // Bioelectromagnetics. – 1991. – Vol. 12(4). – P. 215 - 224.
- Atli Sekeroglu Z., Akar A., Sekeroglu V. Evaluation of the cytogenotoxic damage in immature and mature rats exposed to 900 MHz radiofrequency electromagnetic fields // Int. J. Radiat. Biol. – 2013. – Vol. 89(11). – P. 985 - 992. doi: 10.3109/09553002.2013.809170.
- Baek S., Choi H., Park H., Cho B., Kim S., Kim J. Effects of a hypomagnetic field on DNA methylation during the differentiation of embryonic stem cells // Sci. Rep. – 2019. – Vol. 9(1):1333. doi: 10.1038/s41598-018-37372-2.
- Baek S., Quan X., Kim S., Lengner C., Park J.K., Kim J. Electromagnetic fields mediate efficient cell reprogramming into a pluripotent state // ACS Nano. – 2014. – Vol. 8(10). – P. 10125 - 10138. doi: 10.1021/nm502923s.
- Beaubois E., Girard S., Lallechere S., Davies E., Paladian F., Bonnet P., Ledoigt G., Vian A. Intercellular communication in plants: evidence for two rapidly transmitted systemic signals generated in response to electromagnetic field stimulation in tomato // Plant Cell Environ. – 2007. – Vol. 30(7). – P. 834 - 844.
- Belova N.A., Lednev V.V. Activation and inhibition of the gravitropic response in the flax stem segments exposed to the permanent magnetic field with magnetic density ranging from 0 to 350 microT // Biofizika. – 2001. – Vol. 46(1). – P. 118 - 121.
- Belyavskaya N.A. Biological effects due to weak magnetic field on plants // Adv. Space. Res. – 2004. – Vol. 34(7). – P. 1566 - 1574.
- Bottesch M., Gerlach G., Halbach M., Bally A., Kingsford M.J., Mouritsen H. A magnetic compass that might help coral reef fish larvae return to their natal reef // Curr. Biol. – 2016. – Vol. 26(24):R1266-R1267. doi: 10.1016/j.cub.2016.10.051.
- Cao H., Qin F., Liu X., Wang J., Cao Y., Tong J., Zhao H. Circadian rhythmicity of antioxidant markers in rats exposed to 1.8 GHz radiofrequency fields // Int. J. Environ. Res. Public. Health. – 2015. – Vol. 12(2). – P. 2071 - 2087. doi: 10.3390/ijerph120202071.
- Chen C., Ma Q., Liu C., Deng P., Zhu G., et al. Exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation impairs neurite outgrowth of embryonic neural stem cells // Sci. Rep. – 2014. – Vol. 4:5103. doi: 10.1038/srep05103.
- da Silva J.A., Dobranszki J. Magnetic fields: how is plant growth and development impacted? // Protoplasma. – 2016. – Vol. 253(2). – P. 231 - 248. doi: 10.1007/s00709-015-0820-7.
- Dasdag S., Akdag M.Z., Erdal M.E., Erdal N., Ay O.I., Ay M.E., Yilmaz S.G., Tasdelen B., Yegin K. Effects of 2.4 GHz radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi equipment on microRNA expression in brain tissue // Int. J. Radiat. Biol. – 2015. – Vol. 91(7). – P. 555 - 561. doi: 10.3109/09553002.2015.1028599.
- Denegre J.M., Valles J.M.Jr., Lin K., Jordan W.B., Mowry K.L. Cleavage planes in frog eggs are altered by strong magnetic fields // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – Vol. 95(25). – P. 14729 - 14732.
- Duan W., Liu C., Zhang L., He M., Xu S., et al. Comparison of the genotoxic effects induced by 50 Hz extremely low-frequency electromagnetic fields and 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields in GC-2 cells // Radiat. Res. – 2015. – Vol. 183(3). – P. 305 - 314. doi: 10.1667/RR13851.1.
- Engels S., Schneider N.L., Lefeldt N., Hein C.M., Zapka M., et al. Anthropogenic electromagnetic noise disrupts magnetic compass orientation in a migratory bird // Nature. – 2014. – Vol. 509(7500). – P. 353 - 356. doi: 10.1038/nature13290.
- Erdmann W., Idzikowski B., Kowalski W., Szymanski B., Kosicki J.Z., Kaczmarek L. Can the tardigrade *Hypsibius dujardini* survive in the absence of the geomagnetic field? // PLoS One. – 2017. – Vol. 12(9):e0183380. doi: 10.1371/journal.pone.0183380.
- Fatigoni C., Dominici L., Moretti M., Villarini M., Monarca S. Genotoxic effects of extremely low frequency (ELF) magnetic fields (MF) evaluated by the Tradescantia-micronucleus assay // Environ Toxicol. – 2005. – Vol. 20(6). – P. 585 - 591.

- Gokcek-Sarac C., Er H., Kencebay Manas C., Kantar Gok D., Ozen S., Derin N. Effects of acute and chronic exposure to both 900 MHz and 2100 MHz electromagnetic radiation on glutamate receptor signaling pathway // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2017. – Vol. 93(9). – P. 980 - 989. doi: 10.1080/09553002.2017.1337279.
- Gustavino B., Carboni G., Petrillo R., Paoluzzi G., Santovetti E., Rizzoni M. Exposure to 915 MHz radiation induces micronuclei in *Vicia faba* root tips // *Mutagenesis*. – 2016. – Vol. 31(2). – P. 187 - 192. doi: 10.1093/mutage/gev071.
- He Q., Zong L., Sun Y., Vijayalaxmi, Prihoda T.J., Tong J., Cao Y. Adaptive response in mouse bone marrow stromal cells exposed to 900MHz radiofrequency fields: Impact of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) // *Mutat. Res.* – 2017. – Vol. 820. – P. 19 - 25. doi: 10.1016/j.mrgentox.2017.05.007.
- Ikehata M., Koana T., Suzuki Y., Shimizu H., Nakagawa M. Mutagenicity and co-mutagenicity of static magnetic fields detected by bacterial mutation assay // *Mutat Res.* – 1999. – Vol. 427(2). – P. 147 - 156.
- Jan L., Fefer D., Kosmelj K., Gaberscik A., Jerman I. Geomagnetic and strong static magnetic field effects on growth and chlorophyll a fluorescence in *Lemna minor* // *Bioelectromagnetics*. – 2015. – Vol. 36(3). – P. 190 - 203. doi: 10.1002/bem.21898.
- Jarusevicius G., Rugelis T., McCraty R., Landauskas M., Berskiene K., Vainoras A. Correlation between Changes in Local Earth's Magnetic Field and Cases of Acute Myocardial Infarction // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2018. – Vol. 15(3). pii: E399. doi: 10.3390/ijerph15030399.
- Jenrow K.A., Smith C.H., Liboff A.R. Weak extremely-low-frequency magnetic fields and regeneration in the planarian *Dugesia tigrina* // *Bioelectromagnetics*. – 1995. – Vol. 16(2). – P. 106 - 112.
- Jenrow K.A., Smith C.H., Liboff A.R. Weak extremely-low-frequency magnetic field-induced regeneration anomalies in the planarian *Dugesia tigrina* // *Bioelectromagnetics*. – 1996. – Vol. 17(6). – P. 467 - 474.
- Jiang B., Zong C., Zhao H., Ji Y., Tong J., Cao Y. Induction of adaptive response in mice exposed to 900 MHz radiofrequency fields: application of micronucleus assay // *Mutat. Res.* – 2013. – Vol. 751(2). – P. 127 - 129. doi: 10.1016/j.mrgentox.2012.12.003.
- Jinapang P., Prakob P., Wongwattananard P., Islam N.E., Kirawanich P. Growth characteristics of mung beans and water convolvuluses exposed to 425-MHz electromagnetic fields // *Bioelectromagnetics*. – 2010. – Vol. 31(7). – P. 519 - 527. doi: 10.1002/bem.20584.
- Kale P.G., Baum J.W. Genetic effects of strong magnetic fields in *Drosophila melanogaster*: II Lack of interaction between homogenous fields and fission neutron plus gamma radiation // *Environmental Mutagenesis*. – 1980. – Vol. 2. – P. 179 - 186.
- Kim J.H., Huh Y.H., Kim H.R. Induction of Autophagy in the Striatum and Hypothalamus of Mice after 835 MHz Radiofrequency Exposure // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11(4):e0153308. doi: 10.1371/journal.pone.0153308.
- Kordyum E., Bogatina N., Sobol M., Kalinina Ia., Sheykina N., Kondrachuk A. Cyclotron-based effects on plant gravitropism // *Journal of Advances in Space Research*, - 2007. – Vol. 39, №7. - P. 1210 - 1218.
- Koziak A.M., Desjardins D., Keenlside L.D., Thomas A.W., Prato F.S. Light alters nociceptive effects of magnetic field shielding // *Bioelectromagnetics*. – 2006. – Vol. 27(1). – P. 10 - 15.
- Krylov V.V., Bolotovskaya I.V., Osipova E.A. The response of European *Daphnia magna* Straus and Australian *Daphnia carinata* King to changes in geomagnetic field // *Electromagn. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 32(1). – P. 30 - 39. doi: 10.3109/15368378.2012.700291.
- Landler L., Keays D.A. Cryptochrome: The magnetosensor with a sinister side? // *PLoS Biol.* – 2018. – Vol. 16(10):e3000018. doi: 10.1371/journal.pbio.3000018.
- Laszlo J., Gyires K. 3 T homogeneous static magnetic field of a clinical MR significantly inhibits pain in mice // *Life Sci.* – 2009. – Vol. 84(1-2). - P. 12 - 17. doi: 10.1016/j.lfs.2008.10.009.
- Le Bihan D. Conclusion: probable and possible futures. MRI with ultra high magnetic field // *Bull. Acad. Natl. Med.* – 2009. – Vol. 193(4). – P. 891 - 894.
- Lee W., Yang K.L. Using medaka embryos as a model system to study biological effects of the electromagnetic fields on development and behavior // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2014. – Vol. 108. – P. 187 - 194. doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.06.035.
- Liboff A.R., Williams T.Jr., Strong D.M., Wistar R.Jr. Time-varying magnetic fields: effect on DNA synthesis // *Science*. – 1984. – Vol. 223(4638). – P. 818 - 820.
- Lu Y., He M., Zhang Y., Xu S., Zhang L., et al. Differential pro-inflammatory responses of astrocytes and microglia involve STAT3 activation in response to 1800 MHz radiofrequency fields // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9(9):e108318. doi: 10.1371/journal.pone.0108318.

- Martino C.F., Castello P.R. Modulation of hydrogen peroxide production in cellular systems by low level magnetic fields // PLoS One. – 2011. – Vol. 6(8):e22753. doi: 10.1371/journal.pone.0022753.
- Martino C.F., Portelli L., McCabe K., Hernandez M., Barnes F. Reduction of the Earth's magnetic field inhibits growth rates of model cancer cell lines // Bioelectromagnetics. – 2010. – Vol. 31(8). – P. 649 - 655. doi: 10.1002/bem.20606.
- Miyakoshi J. Effects of static magnetic fields at the cellular level // Prog Biophys Mol. Biol. – 2005. – Vol. 87(2-3). – P. 213 - 223.
- Mo W., Liu Y., Bartlett P.F., He R. Transcriptome profile of human neuroblastoma cells in the hypomagnetic field // Sci. China Life Sci. – 2014. – Vol. 57(4). – P. 448 - 461. doi: 10.1007/s11427-014-4644-z.
- Mo W.-C., Liu Y., Cooper H.M., He R.-Q. Altered Development of Xenopus Embryos in a Hypogeomagnetic Field // Bioelectromagnetics. - 2012. – Vol. 33. – P. 238 - 246.
- Narayanan S.N., Kumar R.S., Karun K.M., Nayak S.B., Bhat P.G. Possible cause for altered spatial cognition of prepubescent rats exposed to chronic radiofrequency electromagnetic radiation // Metab. Brain Dis. – 2015. – Vol. 30(5). – P. 1193 - 1206. doi: 10.1007/s11011-015-9689-6.
- Nechitailo G.S., Mashinsky A.L., Kuznetsov A.A., Chikov V.M., Kuznetsov O.A. Influence of nonuniform magnetic fields on orientation of plant seedlings in microgravity conditions // Adv. Space Res. – 2001. – Vol. 28(4). – P. 639 - 643.
- Negishi Y., Hashimoto A., Tsushima M., Dobrota C., Yamashita M., Nakamura T. Growth of pea epicotyl in low magnetic field: implication for space research // Adv. Space Res. – 1999. – Vol. 23(12). – P. 2029 - 2032.
- Pan Y., Lin W., Li J., Wu W., Tian L., et al. Reduced efficiency of magnetotaxis in magnetotactic coccoid bacteria in higher than geomagnetic fields // Biophys. J. – 2009. – Vol. 97(4). – P. 986 - 991. doi: 10.1016/j.bpj.2009.06.012.
- Peric-Mataruga V., Prolic Z., Nenadovic V., Vlahovic M., Mrdakovic M. The effect of a static magnetic field on the morphometric characteristics of neurosecretory neurons and corpora allata in the pupae of yellow mealworm *Tenebrio molitor* (*Tenebrionidae*) // Int. J. Radiat. Biol. – 2008. – Vol. 84(2). – P. 1 - 98. doi: 10.1080/09553000701797047.
- Piccinetti C.C., De Leo A., Cosoli G., Scalise L., Randazzo B., Cerri G., Olivotto I. Measurement of the 100 MHz EMF radiation in vivo effects on zebrafish *D. rerio* embryonic development: A multidisciplinary study // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2018. – Vol. 154. – P. 268 - 279. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.02.053.
- Prato F.S., Kavaliers M., Thomas A.W. Extremely low frequency magnetic fields can either increase or decrease analgesia in the land snail depending on field and light conditions // Bioelectromagnetics. – 2000. – Vol. 21(4). – P. 287 - 301.
- Prina-Mello A., Farrell E., Prendergast P.J., Campbell V., Coey J.M. Influence of strong static magnetic fields on primary cortical neurons // Bioelectromagnetics. – 2006. – Vol. 27(1). – P. 35 - 42.
- Prolic Z., Jovanovic J. Influence of magnetic field on the rate of development of honeybee preadult stage // Periodicals in Biology. – 1986. – Vol. 88. – P. 187 - 188.
- Prolic Z., Nenadovic V. The influence of a static magnetic field on the process of adult emergence in *Tenebrio molitor*. Journal of Insect Physiology. – 1995. – Vol. 41. – P. 1113 - 1118.
- Qian X.W., Luo W.H., Zheng O.X. Joint effects of microwave and chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba* // J. Zhejiang. Univ. Sci. B. – 2006. – Vol. 7(3). – P. 221 - 227.
- Ramirez E., Monteagudo J.L., Garcia M.G., Delgado J.M.R. Oviposition and development of *Drosophila* modified by magnetic fields // Bioelectromagnetics. – 1983. – Vol. 4. – P. 315 - 326.
- Raylman R.R., Clavo A.C., Wahl R.L. Exposure to strong static magnetic field slows the growth of human cancer cells *in vitro* // Bioelectromagnetics. – 1996. – Vol. 17(5). – P. 358 - 363.
- Saito K., Suzuki H., Suzuki K. Teratogenic effects of static magnetic field on mouse fetuses // Reprod. Toxicol. – 2006. – Vol. 22(1). – p. 118 - 124.
- Sepehrimanesh M., Kazempour N., Saeb M., Nazifi S., Davis D.L. Proteomic analysis of continuous 900-MHz radiofrequency electromagnetic field exposure in testicular tissue: a rat model of human cell phone exposure // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. – 2017. – Vol. 24(15). – P. 13666-13673. doi: 10.1007/s11356-017-8882-z.
- Sepehrimanesh M., Saeb M., Nazifi S., Kazempour N., Jelodar G., Saeb S. Impact of 900 MHz electromagnetic field exposure on main male reproductive hormone levels: a *Rattus norvegicus* model // Int. J. Biometeorol. – 2014. – Vol. 58(7). – P. 1657 - 1663. doi: 10.1007/s00484-013-0771-7.
- Sherrard R.M., Morellini N., Jourdan N., El-Esawi M., Arthaut L.D., et al. Low-intensity electromagnetic fields induce human cryptochrome to modulate intracellular reactive oxygen species // PLoS Biol. – 2018. – Vol. 16(10):e2006229. doi: 10.1371/journal.pbio.2006229.

- Sun Y., Zong L., Gao Z., Zhu S., Tong J., Cao Y. Mitochondrial DNA damage and oxidative damage in HL-60 cells exposed to 900 MHz radiofrequency fields // *Mutat. Res.* – 2017. – Vol. 797-799. – P. 7 - 14. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2017.03.001.
- Takashima Y., Miyakoshi J., Ikehata M., Iwasaka M., Ueno S., Koana T. Genotoxic effects of strong static magnetic fields in DNA-repair defective mutants of *Drosophila melanogaster* // *J. Radiat. Res.* – 2004. – Vol. 45(3). – P. 393 - 397.
- Temur'yants N.A., Kostyuk A.S., Tumanyants K.N. Electromagnetic Screening Alters Behavior in Rats // *Neuroscience Behavioral Physiology.* – 2016. – Vol. 46, Issue 7. – P. 770 – 775.
- Tkalec M., Malaric K., Pevalek-Kozlina B. Exposure to radiofrequency radiation induces oxidative stress in duckweed *Lemna minor* L. // *Sci. Total Environ.* – 2007. – Vol. 388(1-3). – P. 78-89.
- Tkalec M., Malaric K., Pavlica M., Pevalek-Kozlina B., Vidakovic-Cifrek Z. Effects of radiofrequency electromagnetic fields on seed germination and root meristematic cells of *Allium cepa* L. // *Mutat. Res.* – 2009. – Vol. 672(2). – P. 76 - 81. doi: 10.1016/j.mrgentox.2008.09.022.
- Tombarkiewicz B., Bojarski B., Olesek A., Pawlak K., Kanik W., Wojnar T., Lis M., Socha M. Effects of geomagnetic field deprivation on embryonic development and hatching of Prussian carp (*Carassius gibelio*) // *Folia Biologica (Krakow).* – 2018. – Vol. 66. – P. 151 - 158.
- Ubeda A., Trillo M.A., Chacon L., Blanco M.J., Leal J. Chick embryo development can be irreversibly altered by early exposure to weak extremely-low-frequency magnetic fields // *Bioelectromagnetics.* – 1994. – Vol. 15(5). – P. 385 - 398.
- Vallejo D., Hidalgo M.A. Growth variations in OF1 mice following chronic exposure of parental and filial generations to a 15 μ T, 50 Hz magnetic field // *Electromagn. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 31(1). – P. 19 - 33. doi: 10.3109/15368378.2011.620203.
- Vashisth A., Nagarajan S. Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field // *J. Plant Physiol.* – 2010. – Vol. 167(2). – P. 149 - 156. doi: 10.1016/j.jplph.2009.08.011.
- Vian A., Roux D., Girard S., Bonnet P., Paladian F., Davies E., Ledoigt G. Microwave irradiation affects gene expression in plants // *Plant Signal Behav.* – 2006. – Vol. 1(2). – P. 67 - 70.
- Volkow N.D., Wang G.J., Fowler J.S., Rooney W.D., Felder C.A., et al. Resting brain metabolic activity in a 4 tesla magnetic field // *Magn. Reson. Med.* – 2000. – Vol. 44(5). – P. 701 - 705.
- Wan G.J., Jiang S.L., Zhao Z.C., Xu J.J., Tao X.R., et al. Bio-effects of near-zero magnetic fields on the growth, development and reproduction of small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* and brown planthopper, *Nilaparvata lugens* // *J. Insect Physiol.* – 2014. – Vol. 68. – P. 7 - 15. doi: 10.1016/j.jinsphys.2014.06.016.
- Wang L., Du H., Guo X., Wang X., Wang M., et al. Developmental abnormality induced by strong static magnetic field in *Caenorhabditis elegans* // *Bioelectromagnetics.* – 2015. – Vol. 36(3). – P. 178 - 189. doi: 10.1002/bem.21906.
- Watanabe Y., Nakagawa M., Miyakoshi Y. Enhancement of lipid peroxidation in the liver of mice exposed to magnetic fields // *Ind. Health.* – 1997. – Vol. 35(2). - P. 285 - 290.
- Xu C., Li Y., Yu Y., Zhang Y., Wei S. Suppression of Arabidopsis flowering by near-null magnetic field is affected by light // *Bioelectromagnetics.* – 2015. – Vol. 36(6). – P. 476 - 479. doi: 10.1002/bem.21927.
- Xu C., Wei S., Lu Y., Zhang Y., Chen C., Song T. Removal of the local geomagnetic field affects reproductive growth in Arabidopsis // *Bioelectromagnetics.* – 2013. – Vol. 34(6). – P. 37 - 442. doi: 10.1002/bem.21788.
- Yost M.G., Liburdy R.P. Time-varying and static magnetic fields act in combination to alter calcium signal transduction in the lymphocyte // *FEBS Lett.* – 1992. – Vol. 296(2). – P. 117 - 122.
- Zhang H.T., Zhang Z.J., Mo W.C., Hu P.D., Ding H.M., Liu Y., Hua Q., He R.Q. Shielding of the geomagnetic field reduces hydrogen peroxide production in human neuroblastoma cell and inhibits the activity of CuZn superoxide dismutase // *Protein Cell.* – 2017. – Vol. 8(7). – P. 527 - 537. doi: 10.1007/s13238-017-0403-9.
- Zhang X., Li J.-F., Wu Q.-J., Li B., Jiang J.-C. Effects of Hypomagnetic Field on Noradrenergic Activities in the Brainstem of Golden Hamster. *Bioelectromagnetics.* - 2006. www.interscience.wiley.com. <https://pdfs.semanticscholar.org/a66d/d3c621de5ebcb9964fb3426dbdaae296151b.pdf>.
- Zong C., Ji Y., He Q., Zhu S., Qin F., Tong J., Cao Y. Adaptive response in mice exposed to 900 MHz radiofrequency fields: bleomycin-induced DNA and oxidative damage/repair // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2015. – Vol. 91(3). – P. 270 - 276. doi: 10.3109/09553002.2014.980465.

Тема 11. Роль видимого світла у житті організмів

11.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Фотоморфогенез у рослин і тварин

Світло і зорові пігменти опсини в шкірі личинок камбали беруть участь у формуванні асиметрії тіла дорослої риби. Камбали мають найбільш екстремальну асиметрію тіла серед усіх хребетних тварин: у цих риб обидва ока розташовуються на одній стороні тіла, що дозволяє їм лежати на дні водойми на боці і бути практично не помітними для потенційної жертви, яка наближається. Личинки камбали мають звичайну двосторонню симетрію тіла. Однак, в ході метаморфоза, одне око личинки мігрує до протилежної сторони черепа, і ця міграція супроводжується значними перебудовами черепно-лицьового відділу риби та розвитком односторонньої пігментації тіла.



Рис. 1. Камбала (<https://www.google.com.ua/search?q=Flatfish>).

Shao С. з колегами (2017) було встановлено, що ретиноева кислота відіграє основну роль і у встановленні асиметрії пігментації тіла камбали, і, разом з гормонами щитовидної залози, - в модуляції переміщення ока на іншу сторону тіла камбали. Дослідники виявили несподівану експресію зорових опсинів в шкірі камбали. Ці опсини сприймають відмінності в освітленості тіла камбали і забезпечують створення градієнта ретиноевої кислоти, який і лежить в основі формування асиметрії тіла камбали (Shao et al., 2017).

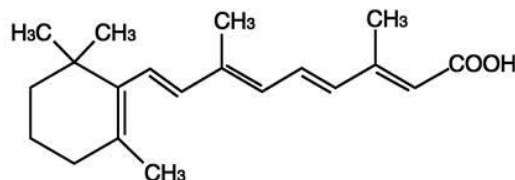


Рис. 2. Ретиноева кислота (<https://www.google.com.ua/search?q>).

***NB! Опсини** - це група світлочутливих білків-рецепторів, які пов'язані з мембранами світлочутливих клітин сітківки ока. Опсини перетворюють світло в електрохімічний сигнал і є першим етапом у передачі зорового сигналу в мозок. У риб експресія генів зорових опсинів відбувається не тільки в сітківці ока, але і в шкірі (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Фотоморфогенез проростків рослин. У природних умовах корені більшості наземних рослин знаходяться в темряві під землею. Однак, в клітинах коренів були знайдені деякі типи фоторецепторів і виявлено світло-чутливий механізм, який дозволяє кореням уникати освітлених ділянок.

Yokawa К. з колегами (2013) досліджували вплив світла на морфогенез проростків арабідопсиса. Проведені дослідження показали, що в прозорих чашках Петрі регулярна експозиція проростків на світлі порушує морфологію коренів, в порівнянні з коренями, вирощеними в ґрунті. Зокрема, у присутності світла різко зростає довжина кореня – що є стратегією уникнення світла підземним органом (Yokawa et al., 2013).

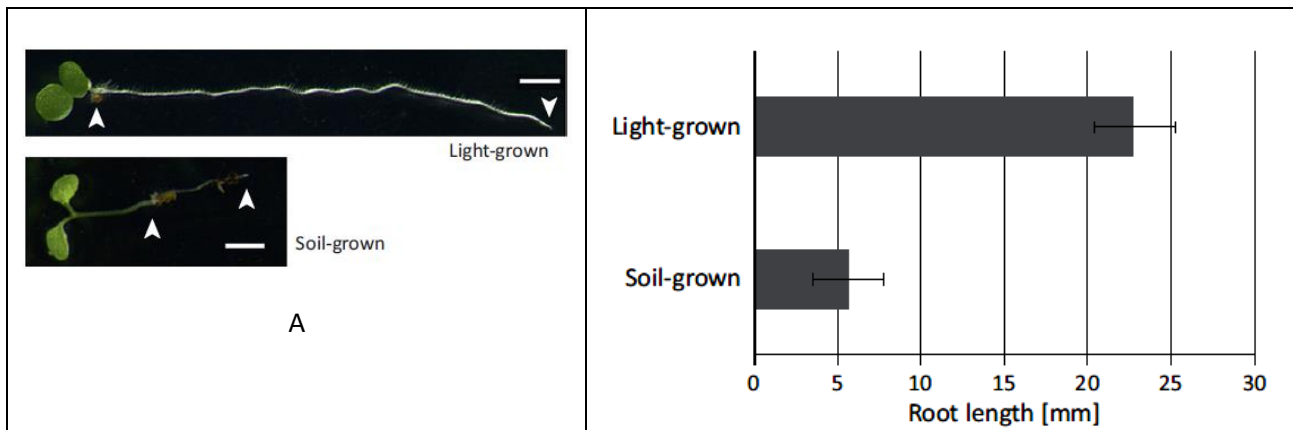


Рис. 3. Проростки арабідопсиса, вирощені в різних світлових умовах. Де: (А) - проростки арабідопсиса, вирощені в звичайній прозорій чашці Петрі (верхній проросток), і вирощені в ґрунті (нижній рисунок); білими стрілками вказані зони кінчика кореня і зони з'єднання кореня і пагона; (В) - порівняння довжини коренів у проростків арабідопсиса на 6 день проростання в умовах освітленості (Light-growth) і в ґрунті (Soil-growth); Root length, mm - довжина коренів, мм (Yokawa et al., 2013).

Фототропізми у організмів

Фототропізми у рослин. У рослин сформувався широкий спектр реакцій, які дозволяють їм адаптуватися до мінливих умов навколишнього середовища. Однією з таких відповідей є фототропна відповідь - згинання органу рослини в напрямку до джерела синього світла (стебла і листя) або від нього (коріння). Фототропізм - це одна з декількох фотовідповідей рослин, які дозволяють рослинам змінювати їх ріст і розвиток в залежності від інтенсивності світла, його якості і напрямку (Pedmale et al., 2010). Як правило, рослини проявляють фототропну відповідь в умовах їх затінення.

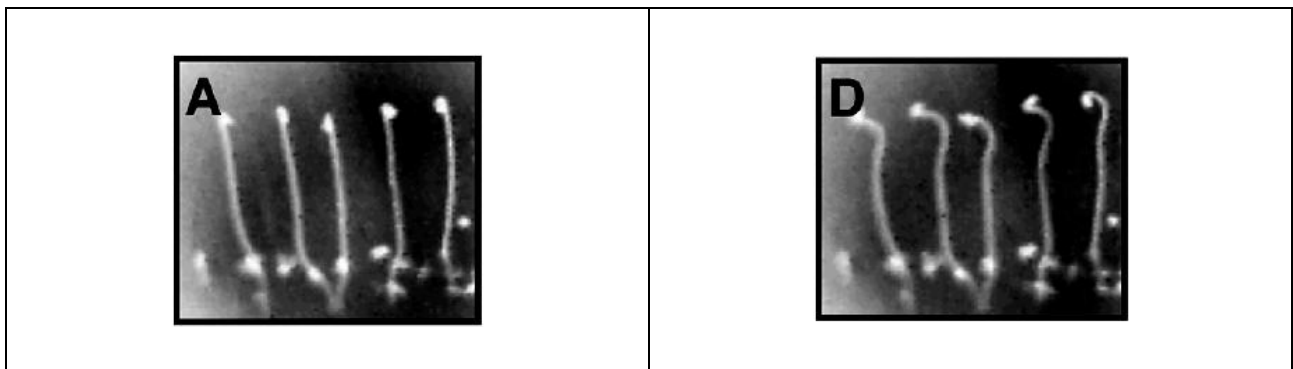


Рис. 4. Фототропізм у рослин арабідопсиса, індукований блакитним світлом низької інтенсивності: 3-денні етиольовані проростки (А) піддавали впливу блакитним світлом протягом 300 хв (D) (Pedmale et al., 2010).

Рецептори, які опосередковують фототропізми у рослин. Фототропізм - це зміна напрямку росту органів рослин або положення тіла (органів) у тварин, в залежності від напрямку падаючого світла. Ще в 1881 р Ч. Дарвін описав індуковану блакитним світлом фототропічну відповідь рослин. Однак, які рецептори опосередковують цю відповідь рослин, тривалий час залишалося незрозумілим.

Молекулярно-генетичні дослідження, проведені на рослинах арабідопсиса, показали, що у рослин є два типи рецепторів синього світла: кріптохроми і фототропіни. Кріптохроми були виявлені не тільки у рослин, але і в клітинах тварин, включаючи людей. Фототропіни

також були виявлені у різних груп організмів, де вони забезпечують реакцію організмів на такі подразники навколишнього середовища, як світло і кисень.

Подальші дослідження показали, що кріптохроми разом з фітохромами регулюють фотоморфогенні реакції організмів, включаючи контроль подовження клітин і фотоперіодичне цвітіння; фототропіни, крім того, опосередковують реакції руху у рослин, включаючи формування фототропного вигину, який і привернув увагу Ч. Дарвіна понад століття тому.

Цікаво відзначити, що сумарні спектри поглинання рецепторів червоного / далекого червоного світла (фітохромів) і рецепторів синього світла (кріптохромів і фототропінів) перетинаються зі спектрами поглинання фотосинтетичних пігментів, що дозволяє рослинам скоординувати процеси свого розвитку і продукування енергії (за Lin, 2002).

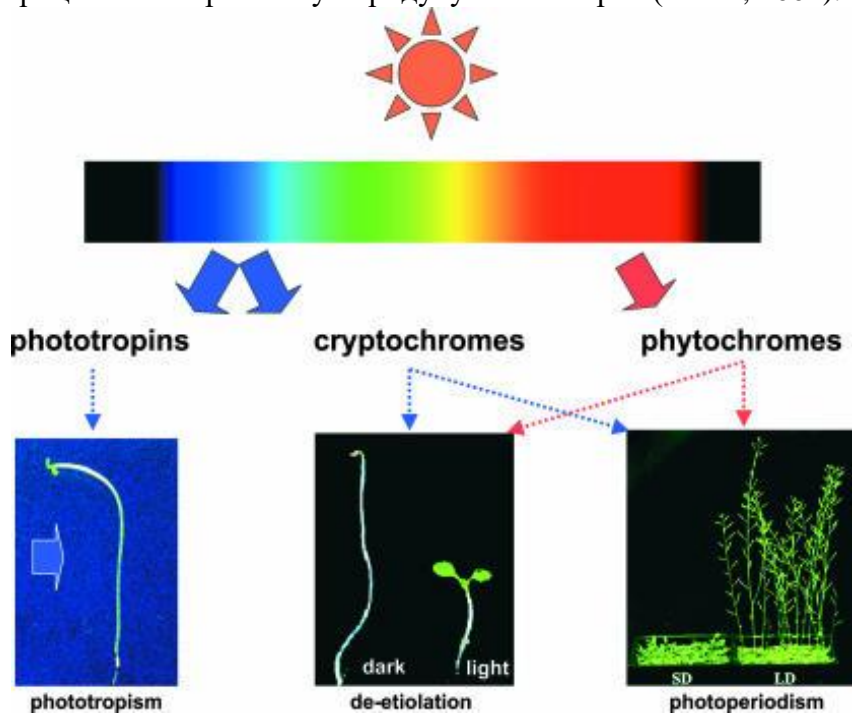


Рис. 5. На схемі показано участь рецепторів синього світла в фототропізмі, в фотоморфогенезі і фотоперіодичному цвітінні рослин. Де: суцільними стрілками показане світло, а пунктирними стрілками - вказана передача сигналу від фоторецепторів; типи фоторецепторів: phototropins - фототропіни; cryptochromes - кріптохроми; phytochromes - фітохроми; phototropism - фототропізм; de-etiolation - де-етилування (вирощування рослин на світлі); dark - темрява; light - світло; photoperiodism - фотоперіодизм; SD, Short Day - короткий світловий день; LD, Long Day - довгий світловий день (за Lin, 2002).

*NB! Фотоперіодизм - реакція живих організмів (рослин і тварин) на добовий ритм освітленості, тривалість світлового дня і співвідношення між темним і світлим часом доби (фотоперіод) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Фототропізм у коралових поліпів у відповідь на блакитне світло – є аналогічним фототропізму наземних рослин у відповідь на блакитне світло. Багато наземних рослин формують складні морфологічні структури тіла і здатні змінювати характер свого росту у відповідь на зміну напрямку потоку світла. Аналогічним чином коралові поліпи, які беруть участь в побудові коралових рифів, в різних родинях коралів мають різну морфологічну будову тіла і демонструють фенотипічну пластичність в залежності від умов навколишнього середовища. Зокрема, геометрія колоній розгалужених коралів змінюється при зміні частоти, розташування та напрямку появи і росту нових гілок коралів як відповідь організмів на затінення. Основною причиною фототропізму коралових поліпів є чутливість їх внутрішньоклітинних фотосинтезуючих симбіонтів - динофлагелат - до нестачі освітленості.

Проведене Kaniewska P. з колегами (2009) дослідження, показало, що для коралового поліпа *Acropora pulchra* світло відіграє ключову роль в осьовій диференціації поліпів і, таким

чином, у формуванні нових гілок корала: осьові кораліти розвивалися тільки при наявності світла і в напрямку падаючого світла.

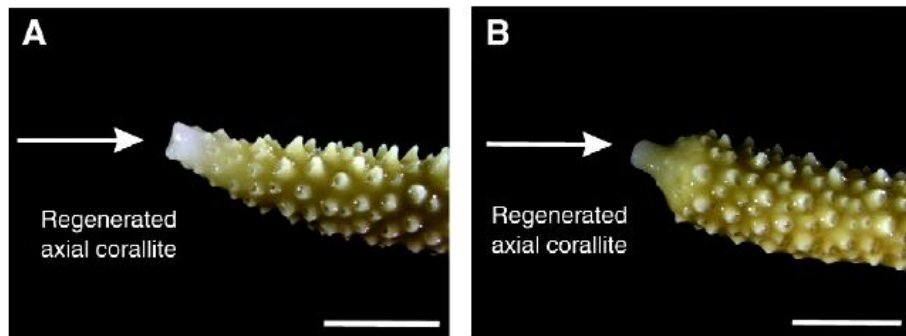


Рис. 6. Розвиток осьових коралітів поліпа *Acropora pulchra* після 8 тижнів спрямованого впливу джерела світла. (А) - Осьовий кораліт, який розвивається на вихідному верхівковому (апикальному) кінці гілки кораліту; (В) - осьовий кораліт, який розвивається на місці базального кінця гілки кораліту. У всіх експериментах осьові кораліти розвивалися в напрямку доступного джерела світла, незалежно від напрямку росту попереднього осьового кораліту (Kaniewska et al., 2009).

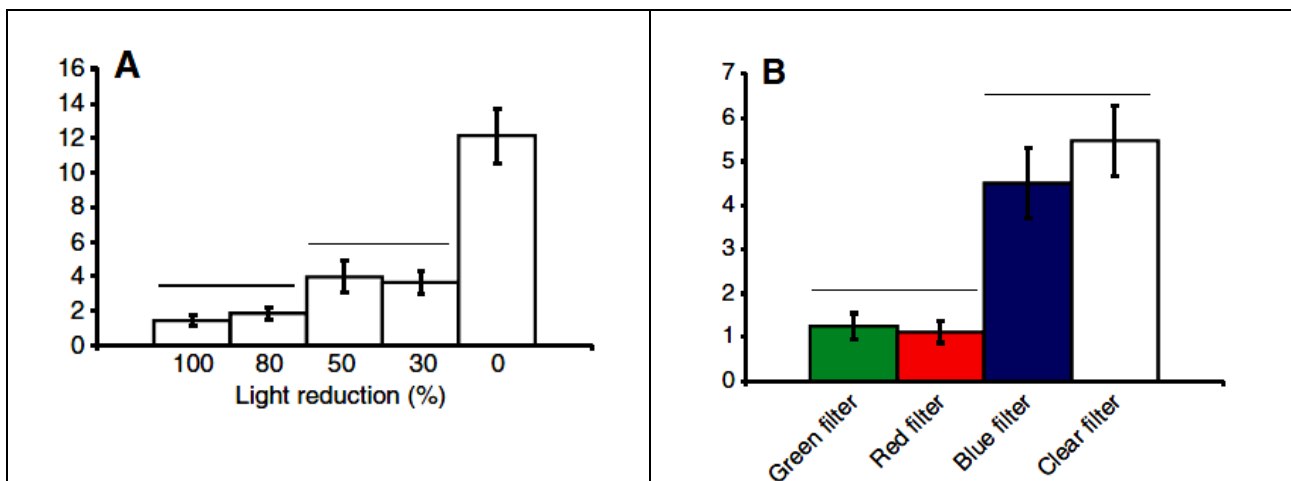


Рис. 7. Вплив рівня затіненості (А) і спектрального складу світла (В) на інтенсивність аксіального росту коралітів поліпу *Acropora pulchra*. При рівні затінення 80% і вище - осьові кораліти практично не ростуть. При цьому інтенсивне зростання коралітів забезпечується блакитними променями спектра. Де: по осі ОУ - інтенсивність аксіального росту коралітів; по осі ОХ - для (А): Light reduction,% - відсоток редукції освітленості, % (тобто, рівень затінення коралітів; 100% редукція світла - це умови повної темряви); для (В) - спектральний склад джерела світла: Green filter - зелений фільтр; Red filter - червоний фільтр; Blue filter - блакитний фільтр; Clear filter - фільтр, прозорий для всіх типів променів (Kaniewska et al., 2009).

Польові експерименти Kaniewska P. з колегами (2009) показали, що існує поріг інтенсивності світла в 45 мкмоль/м²с, нижче якого осьові кораліти не розвиваються, і ця відповідь залежить від синього світла (408-508 нм). При інтенсивності освітлення вище цього порогу - спостерігається дворазове збільшення осьового росту коралітів, а при впливі блакитним світлом - чотирикратне збільшення осьового росту коралітів. Ці особливості росту гілок коралів дуже схожі на вплив світла на ініціацію росту гілок наземних рослин, яка спрямовується синьою складовою сонячного світла (Kaniewska et al., 2009).

Спорангіофори грибів фікоміцетів показують позитивний фототропізм у напрямку до блакитних променів і негативний фототропізм - в напрямку від ультрафіолетових променів (УФ-С). Плодові тіла багатьох грибів є чутливими до світла і

проявляють позитивний фототропізм - тобто ростуть у напрямку до джерела світла. Причиною такого феномена вважається те, що світло відповідає відкритому простору, в якому можливе поширення спор грибів на великі відстані. Однак, по відношенню до короткохвильового ультрафіолетового випромінювання - плоді тіла грибів виявляють негативний фототропізм, оскільки такий вплив здатний пошкодити ДНК спор.

Гігантські спорангіофори гриба *Phycomyces blakesleeanus* ростуть до синього світла і в напрямку від короткого ультрафіолетового випромінювання (УФ-С, з довжиною хвилі до 310 нм). Martin-Rojas V. з колегами (1995) були ізольовані п'ятнадцять мутантних ліній гриба з нормальним фототропізмом у відповідь на блакитне світло і з порушеним фототропізмом у відповідь на ультрафіолетове випромінювання. Спорангіофори грибів дикого типу роблять подвійне обертання при послідовному впливі синіх і ультрафіолетових променів, які надходять з одного боку; тоді як мутантні лінії - повертаються тільки у відповідь на блакитні промені.

На підставі отриманих результатів, Martin-Rojas V. з колегами (1995) прийшли до висновку, що ультрафіолетовий фототропізм - це не просто модифікація блакитного фототропізму, викликана високим рівнем абсорбції ультрафіолетового випромінювання спорангіофорами. Проведені дослідження свідчать про те, що гриб *Phycomyces* має окрему сенсорну систему, що реагує на ультрафіолетове випромінювання, і окрему сенсорну систему – яка реагує на блакитне світло (Martin-Rojas et al., 1995).



Рис. 8. Одиночний спорангіофор гриба *Phycomyces blakesleeanus* (<https://ru.238ikipedia.org/wiki/>).

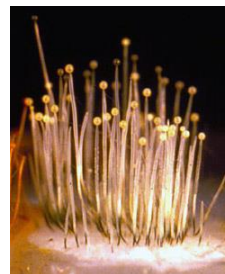


Рис. 9. Спорангіофори гриба *Phycomyces blakesleeanus* (<https://genome.jgi.doe.gov/Phybl1>).

Маскувальне забарвлення організмів

Зміна маскувального забарвлення креветок при зміні типу водоростей в середовищі існування. Маскувальне забарвлення креветок *Hippolyte obliquimanus* залежить від типу водоростей, в яких вони мешкають: в бурих водоростях *Sargassum furcatum* або в червоних водоростях *Galaxaura marginata*. І змінюється у особин одного і того ж виду при зміні забарвлення середовища проживання.

Популяції цих креветок складаються з двох основних морф: однорідно забарвлених креветок різного кольору (Н) і прозорих особин з кольоровими смужками (ST). Дослідження, проведені Duarte R.C. з колегами (2016), показали, що креветки Н-морфи здатні змінювати колір свого тіла всього за кілька днів по відношенню до свого водоростевого фону. Крім того, лабораторні випробування дозволили встановити, що точність відповідності забарвлення тіла середовищу існування у креветок Н вище, тоді як у морфи ST активність плавання вище, що узгоджується з морфологічними даними, які свідчать про те, що ці дві морфи мають більш бентичний (Н) і більш пелагічний (ST) способи життя, відповідно.

Отримані результати показали, що креветки Н використовують стратегію камуфляжу, спеціалізовану для обмеженого числа фонів, в той час як індивідууми ST включають фенотип з більш універсальним камуфляжем (прозорість), пов'язаним з більш універсальним використанням фону. Співіснування в популяції двох морфотипів з альтернативними стратегіями використання середовища проживання і маскування, може відображати реакцію популяції на істотні сезонні зміни в покритті макроводоростей: бури водорості є численними

в літній період і різко зменшують свою чисельність, майже до повного зникнення, в холодну пору року.



Рис. 10. На бурих водоростях креветки *Hippolyte obliquimanus* морфи Н стають бурими.



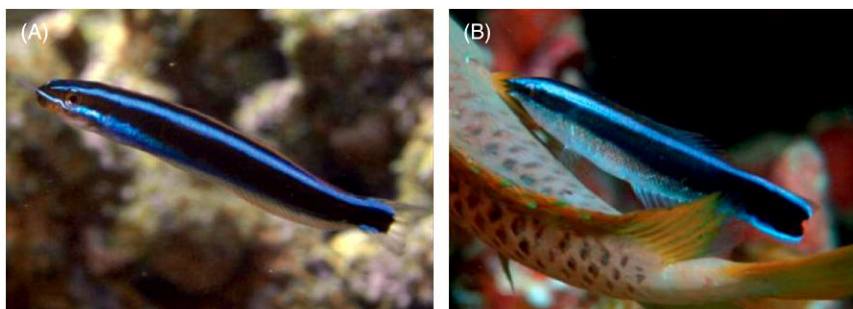
Рис. 11. На червоних водоростях креветки *Hippolyte obliquimanus* морфи Н стають червоними (Duarte et al., 2016).

Цікаво відзначити, що креветки морфи Н, перенесені на водорості іншого кольору, досить швидко змінюють забарвлення свого тіла. Однак, вони цього не роблять при перенесенні на штучний субстрат відповідного типу. Є дані, що багато ракоподібних спроможні змінювати своє забарвлення за рахунок пігментів водоростей, які вони поїдають. Однак, як правило, це досягається за більш тривалий період (тижні), ніж було виявлено в даній роботі (кілька днів). Подальші дослідження повинні показати, дієта або візуальний сигнал є пусковим механізмом зміни забарвлення тіла креветок (Duarte et al., 2016).

Активна мімікрія у риб. Організмів, здатних до мімікрії, в природі багато. Однак, серед них не так багато видів, які спроможні активно змінювати своє забарвлення - «включаючи» і «вимикаючи» світлове маскування. Sköld H.N. з колегами (2016) в своєму огляді наводять приклади зміни забарвлення кораловими рибками в системі мімікрії.

Так, рибка *Plagiotremus rhinorhynchos* здатна «включати» мімікуюче забарвлення в присутності риби, під яку вона маскується. Ці риби мешкають в коралових рифах Індотихоокеанічного регіону і мають багато різних кольорних форм, включаючи чорний, коричневий, оливковий і помаранчевий. Чорна форма і неонові-блакитна смугаста форма - дуже схожі і живуть в безпосередній близькості від рибок губанок-прибиральниць *Labroides dimidiatus*. Однак замість видалення ектопаразитів з риб коралових рифів, як це робить губанка-прибиральниця, риба *Plagiotremus rhinorhynchos* кусає плавники і луску нічого не підозрюючих риб коралових рифів. Таким чином, імітуючи забарвлення губанки-прибиральниці, риби *Plagiotremus rhinorhynchos* отримують доступ до своїх потенційних жертв.

Однак, коли мімікуючу рибу *Plagiotremus rhinorhynchos* пересаджують в інше середовище проживання, *Plagiotremus rhinorhynchos* змінюють забарвлення протягом 1-2 хв на немімікуючу форму: коричневий або оливковий колір з двома блідо-блакитними бічними смугами. Але, якщо *Plagiotremus rhinorhynchos* виявляються знову поруч з рибкою губанкою-прибиральницею - вони знову змінюють своє забарвлення на чорну і блакитну форми (Sköld et al., 2016).



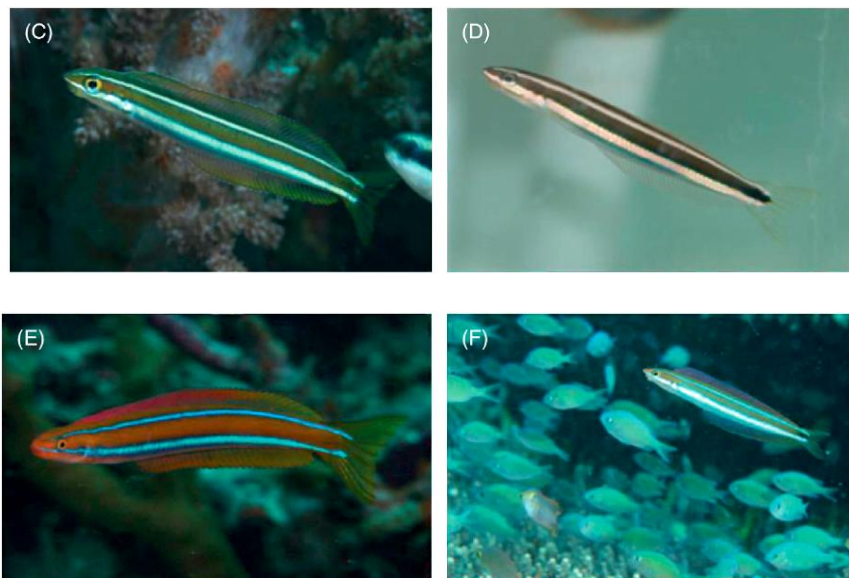


Рис. 12. В - Рибка губанка-прибиральниця – зазвичай ця рибка чистить шкіру більш великої риби від паразитів. А, С-F - Рибки *Plagiotremus rhinorhynchos* живуть в коралових рифах, маскуються під рибку губанку-прибиральницю: замість того, щоб чистити від паразитів велику рибу - вони на неї нападають і кусають (за Sköld et al., 2016).

Сезонна зміна забарвлення шерсті у тварин є важливою адаптацією до зміни умов навколишнього середовища. Ferreira M.S. з колегами (2017) вивчали експресію генів у диких зайців *Lepus americanus* під час сезонних линьок. Проведені дослідження показали, що сезонна линька зайців супроводжується у них зміною роботи 766 генів. Зокрема, авторами роботи були виявлені відмінності в роботі генів біологічного годинника і генів, які відповідають за пігментацію тіла. Був також виявлений лаг-період між сезонною зміною в роботі генів і зміною забарвлення шерсті у тварин (Ferreira et al., 2017).

У зв'язку зі змінами клімату все частішими є теплі безсніжні зими. Дослідження, проведені Zimova M. з колегами (2014), показали, що у зайців американських біляків недостатньою є геномна пластичність для адаптації до м'яких безсніжних зим: у відповідь на зміни умов зими вони не спроможні змінити біле зимове забарвлення шерсті на сіре, менш помітне в безсніжних умовах (Zimova et al., 2014).



Рис. 13. Заєць американський біляк (*Lepus americanus*) в сірій літній шубі (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 14. Зимова біла шубка у американського біляка (за <https://www.google.com.ua/search?q=Lepus+americanus>).

Однак, вже в 2018 році з'явилася стаття, згідно з якою в умовах теплих зим деякі американські зайці біляки перестали міняти шубку на білу зимову. Дослідження, проведені Jones M.R. з колегами (2018), показали, що поява цієї ознаки пов'язана з інтрогресивною гібридизацією американських біляків з кроликами. Відомо, що сезонна активність роботи

гена *Agouti*, який контролює рівень пігментації тіла, регулюється спеціальним геном. Його варіація, що дозволяє не змінювати забарвлення шерсті у відповідь на сигнали сезонного біологічного годинника, потрапила в популяцію американського біляка завдяки трансгресивній гібридизації біляків з чорнохвостими кроликами. В умовах теплої безсніжної зими придбання ознаки виявилось адаптивним: відповідність забарвлення шерсті кольору підстилюючої поверхні знижує тиск хижаків на популяцію зайців (Jones et al., 2018).

*NB! Ген *Agouti* контролює розподіл пігменту меланіну у волоссі і в шерсті ссавців і тим самим контролює їх забарвлення. *NB! Інтрогресивна гібридизація - це гібридизація між двома спорідненими видами, в результаті якої через серію зворотних схрещувань з одним з батьківських видів, в геномі гібрида залишаються тільки фрагменти ядерної ДНК другого виду і / або його мітогеном (пластом).

Виявлено поліморфні зони, для яких характерним є змішаний склад популяцій за ознакою зміни сезонного забарвлення шерстного покриву. В умовах потепління клімату тривалість сезонного стояння снігового покриву знижується в усьому світі. При цьому в умовах безсніжних зим - втрачається адаптивна роль білого шерстного покриву у тварин. Mills L.S. з колегами (2018) було показано, що у 21 вида хребетних тварин, які сезонно змінюють забарвлення шерсті, деякі особини в популяції - змінюють сезонне забарвлення шерсті з літнього коричневого на зимове біле для маскування на снігу, тоді як інші особини - залишаються коричневими. Для восьми видів тварин авторами роботи були вивчені 2713 зразків забарвлення шерсті з прив'язкою до місцевості і до наявності / відсутності зимового сніжного покриву.

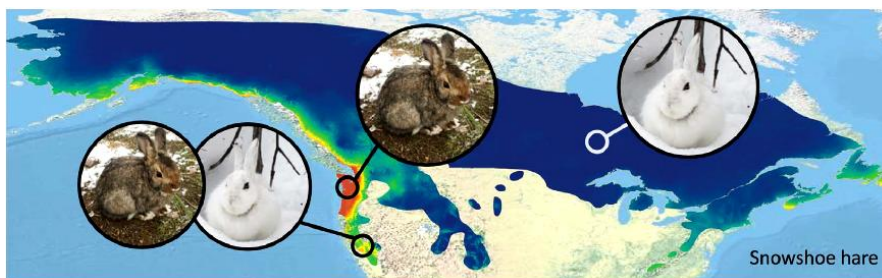


Рис. 15. Території США, на яких мешкають зайці американські біляки. Де: блакитним кольором - вказані території, на яких мешкають особини, що сезонно змінюють забарвлення шерсті з коричневого на біле; помаранчевим кольором - вказані території, на яких мешкають особини, що зберігають взимку коричневе забарвлення шерсті; жовтим і зеленим кольорами - вказані території з поліморфними популяціями (тобто, з популяціями, в яких одні особини змінюють колір шерсті, а інші - ні) (Mills et al., 2018).

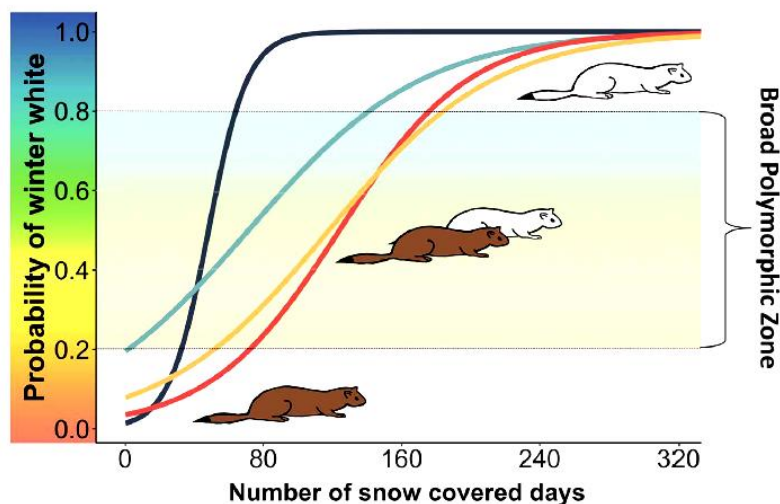


Рис. 16. Графік, який вказує ймовірність сезонної зміни забарвлення шерсті тварин в залежності від тривалості стояння снігового покриву на відповідних територіях. Де: по осі

ОХ - кількість днів стояння снігового покриву, (Number of snow covered days); по осі ОУ - ймовірність формування зимового білого забарвлення шерсті (Probability of winter white); темно-блакитна крива - для японського зайця; світло-блакитна крива - для білохвостого кролика; жовта крива - для малої ласки; червона крива - для довгохвостої ласки (Mills et al., 2018).



Рис. 17. Біла ласка на темній підстелюючій поверхні - один із прикладів невідповідності зимового білого забарвлення шерсті і відсутності снігового покриву (Mills et al., 2018).

В результаті проведених досліджень були ідентифіковані території, на яких, в зв'язку з особливостями стояння снігового покриву, одночасно живуть зимові білі, і зимові коричневі морфи для кожного з восьми досліджених видів тварин. Дослідники вважають, що ці поліморфні зони повинні стати охоронними територіями, оскільки в умовах подальшого потепління клімату і неефективності стратегії зміни забарвлення шерстного покриву, такі території спроможні забезпечити збереження видів (Mills et al., 2018).

Незвичайна зміна типу сезонного забарвлення шерстного покриву у Південно-Американських гризунів. Гризуни Південної Америки *Calomys laucha* змінюють забарвлення шерсті влітку і взимку, але, не так, як гризуни в Північній півкулі: пігмент *Calomys laucha* змінюється з помаранчевого кольору влітку на темно-сірий колір взимку. Тварини, експоновані в стаціонарних лабораторних умовах протягом року при довжині дня і ночі 12 год / 12 год і +22°C градусах Цельсія - все одно проявляли влітку (в січні в Південній півкулі) - помаранчеве забарвлення і взимку (липень) сіре забарвлення. Ні які лабораторні зміни в температурі навколишнього середовища і довжині світлового дня - не могли вплинути на цей сезонний ритм линьки і зміни забарвлення шерстного покриву тварин, який відповідав реальному часу року в природних екосистемах.

Отримані дані свідчать про те, що зміни в забарвленні у гризунів *Calomys laucha* контролюються ендогенним сезонним біологічним годинником і, як мінімум, не підлаштовуються температурою середовища і довжиною світлового дня.



Рис. 18. Південно-Американський гризун *Calomys laucha* (<https://www.google.com.ua/search?q=Calomys+laucha>).

Тоді як, наприклад, для норок і білок був виявлений ендогенний ритм сезонної линьки, на який сильно впливали зміни і фотоперіоду, і температури. З іншого боку, Джунгарські хом'ячки, ласки і лемінги мають сезонну линьку, однак, ендогенний сезонний ритм у цих тварин до цих пір не знайдений.

Сезонна зміна забарвлення шерсті у *Calomys laucha* відрізняється від такої у гризунів в Північній півкулі. У *Calomys laucha* зміна забарвлення тіла пов'язана зі зміною типу синтезованого меланіну, а не з припиненням його синтезу. Влітку (січень в Південній півкулі) їх клітини продукують феумеланін і мало еумеланіна. В результаті тварини стають

помаранчевими і світлішими. А взимку - посилюється синтез еумеланіна, знижується продукція феомеланіна і тварини стають темно-забарвленими. Влітку більш світле забарвлення допомагає цим мишоподібним гризунам уникнути тиску хижаків – оскільки влітку ці тварини годуються в піщаних дюнах і помаранчеве забарвлення тіла стає для них маскувальним. Взимку *Calomys laucha* через нестачу їжі мігрують ближче до поселень людей, де на тлі темного ґрунту - темне забарвлення їх шерстки робить їх малопомітними. Крім того, темне забарвлення сприяє більш швидкому зігріванню тварин в холодну пору року (Camargo et al., 2006).

Східно-американські метелики *Junonia coenia* сезонно змінюють забарвлення крил. Популяція метеликів *Junonia coenia* на сході США має дві сезонні морфи забарвлення крил, розвиток яких визначається фотоперіодом і температурою навколишнього середовища. При низьких температурах і короткому світловому дні, характерних для осені та зими, більшість особин формують темно-червоне забарвлення крил. Тоді як при високих температурах і довгому світловому дні, характерних для весни і літа, - більшість особин формують крила зі світлим забарвленням.

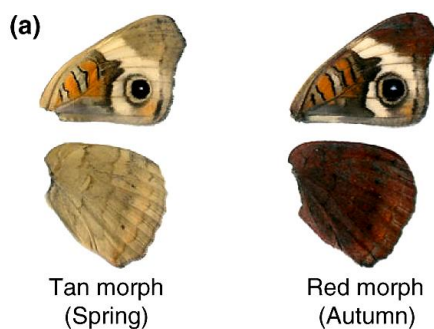


Рис. 19. Сезонні варіації в забарвленні крил метеликів *Junonia coenia* індукуються сезонними відмінностями в довжині світлового дня і температури навколишнього середовища (Daniels et al., 2014).

Вважають, що ця трансгенеративна сезонна пластичність в забарвленні крил може бути пов'язана як з терморегуляцією метеликів (темне забарвлення дозволяє краще поглинати тепло), так і з камуфляжем їх восени на темно червоних старіючих листках листяних лісів східної частини території США. Сезонна зміна забарвлення крил цих метеликів контролюється гормоном екдізоном: високий рівень екдізону у лялечок дає світлі морфи, а низький рівень - темні морфи в забарвленні крил дорослих метеликів (Daniels et al., 2014).

Швидкі (внутрішньодобові) і повільні (сезонні) зміни пігментації тіла тварин контролюються світлом. Існують два механізми зміни пігментації тіла: а) швидкий, пов'язаний з циркадіанними змінами або камуфляжем, і заснований на зміні розподілу пігментних гранул в цитоплазмі клітин-хроматофорів; б) повільний, пов'язаний із сезонними адаптаціями забарвлення тіла, який заснований на зміні кількості пігментних клітин або типу синтезованих пігментів.

Bertolesi G.E. з колегами (2016) на ембріонах *Xenopus laevis* було показано, що нейроендокринні шляхи в сітківці ока, які активуються світлом, запускають і швидкі (добові), і повільні (сезонні) процеси пігментації. Це відбувається внаслідок того, що світловий сигнал впливає на продукцію α -меланоцит-стимулюючого гормону і мелатоніну.

*NB! Процеси швидкої (добової) пігментації запускаються в результаті пригнічення світловим сигналом активності меланопсин-синтезуючих гангліозних клітин сітківки ока, що призводить до секреції альфа-меланоцит-стимулюючого гормону. Процеси повільної (сезонної) пігментації запускаються одночасно двома факторами - змінами секреції альфа-меланоцит-стимулюючого гормону і змінами в продукції мелатоніну (Bertolesi et al., 2016).

Хроматофори – це клітини нижчих хребетних, які містять пігменти. Завдяки цим клітинам, риби спроможні змінювати забарвлення свого тіла, що дозволяє їм придбати захисне камуфляжне забарвлення і спілкуватися з родичами. Зміни забарвлення відбуваються з різною швидкістю - від декількох хвилин до декількох тижнів, в залежності від задіяного в цьому процесі механізму. Хроматофори містять різні типи пігментів і локалізовані не тільки в шкірі, але також і в очах і у внутрішніх органах риб (Sköld et al., 2016).

У ссавців тільки очі здійснюють сприйняття світла, тоді як у інших груп хребетних тварин і у всіх безхребетних тварин не тільки очі здатні сприймати світлові сигнали: незорові фоторецептори присутні у них в багатьох частинах організму і відіграють важливу роль в регулюванні фізіологічних функцій і поведінки тварин. Зокрема, в підстроюванні роботи біологічного годинника організмів, в забезпеченні зміни пігментації шкіри і т.н. Хроматофори - є спеціалізованими пігментними клітинами шкіри, які мають спільне походження в ембріогенезі з клітинами сітківки ока (нервовий гребінь). Вони відносяться до категорії паранейронів і відомі своєю важливою роллю в регуляції забарвлення тіла. Для створення малюнка тіла або пігментації хроматофори спроможні змінювати свій розмір або кількість клітин, а також - регулювати свою внутрішню структуру, наприклад, за допомогою переміщення гранул пігменту. У відповідь на дію зовнішніх сигналів (тобто світла) або дію нейрогормонів - хроматофори здатні швидко і істотно змінювати забарвлення тіла тварини (за Chen et al., 2015).

Невізуальні фотопігменти в шкірі забезпечують адаптацію організмів до рівня освітленості: зміна забарвлення тіла для камуфляжу, терморегуляції, захисту від ультрафіолету. Незорові фоторецептори з різноманітними фотопігментами дозволяють організмам адаптуватися до мінливих умов освітлення навколишнього середовища. У той час як зорові фоторецептори залучені до формування зображення, незорові фоторецептори виконують різноманітні функції, які не пов'язані з формуванням зображення. Вони утворюють спеціалізовані фотосенсорні системи, які вимірюють якість і кількість світла і забезпечують відповідну фізіологічну і поведінкову відповіді організму.

Хроматофори - це шкірні незорові фоторецепторні клітини, які безпосередньо експонуються на світлі і вони не тільки сприймають потік вхідних світлових фотонів, але також і відповідають на нього. Ці спеціалізовані фоточутливі пігментні клітини забезпечують здатність тварини змінювати забарвлення свого тіла відповідно до умов навколишнього середовища і відіграють важливу роль у виборі шлюбного партнера, в камуфляжі (маскуванні) і в захисті організму від надлишку ультрафіолетових променів. Однак, сигнальні шляхи, що забезпечують фотовідповідь хроматофорів і фізіологічне значення зміни кольору хроматофорами, залишаються на сьогоднішній день маловивченими.

Chen S.C. колегами (2015) охарактеризували фоточутливу систему червоних хроматофорів (т.зв. еритрофорів) у риби тилapia.



Рис. 20. Нільська тилapia (*Oreochromis niloticus*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Як і інші незорові фоторецепторні клітини, еритрофори тилapia показали фотовідповідь, яка залежить від довжини хвилі в двох спектральних ділянках: агрегацію внутрішніх пігментних гранул при впливі ультрафіолетових променів і короткохвильового світлового випромінювання і дисперсію пігментів під впливом випромінювання середніх і довгих хвиль. Отримана крива спектрів дії показала, що два основних фотопігменти мають протилежний вплив на ці процеси, керовані світлом: фотопігмент SWS1 - є чутливим до

коротких хвиль і забезпечує агрегацію пігментів, і фотопігмент RH2b (родопсин-подібний) – є чутливим до довгих хвиль і забезпечує дисперсію пігментів.

Проведені Chen S.C. колегами (2015) дослідження підтвердили експресію SWS1 фотопігменту в клітинах-еритрофорах тилляпії. Було встановлено, що під впливом ультрафіолетових променів відбувається деполяризація мембран клітин-еритрофорів. Це свідчить про те, що зміни в мембранному потенціалі є необхідними для фотовідповіді клітин-еритрофорів.

Отримані результати свідчать про те, що пігменти SWS1 і RH2b відіграють ключову роль в опосередкуванні фотовідповіді клітин-еритрофорів на випромінювання різної довжини хвилі і ця антагоністична фоточутлива відповідь, заснована на сприйнятті світлових хвиль різної довжини, здатна забезпечити детекцію незначних змін в освітленості навколишнього середовища (Chen et al., 2015).

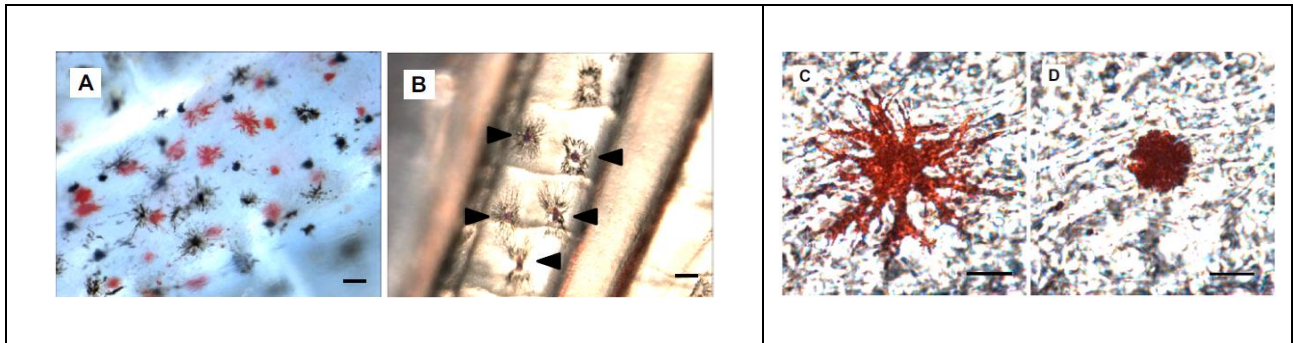


Рис. 21. Світлочутливі клітини-еритрофори в шкірі риби тилляпії *Oreochromis niloticus*. Де: А - два основні класи пігментних хроматофорів - чорні меланофори і червоні еритрофори в хвостовому плавці тилляпії; (В) Хроматофорні одиниці (вказані стрілками) складаються з агрегованих еритрофорів і розсіяних меланофорів. Одночасні зміни в розташуванні пігментів в пігментних клітинах різних типів призводять до драматичних світлових ефектів; (С) - еритрофор з диспергованим (розсіяним) пігментом і (D) - еритрофор з агрегованим пігментом; агрегація і диспергування пігментів відбуваються в результаті зміни положення пігментних гранул в еритрофорі. 1 бар = 80 мкм (для А); 1 бар = 60 мкм (для В); 1 бар = 20 мкм (для С, D) (Chen et al., 2015).

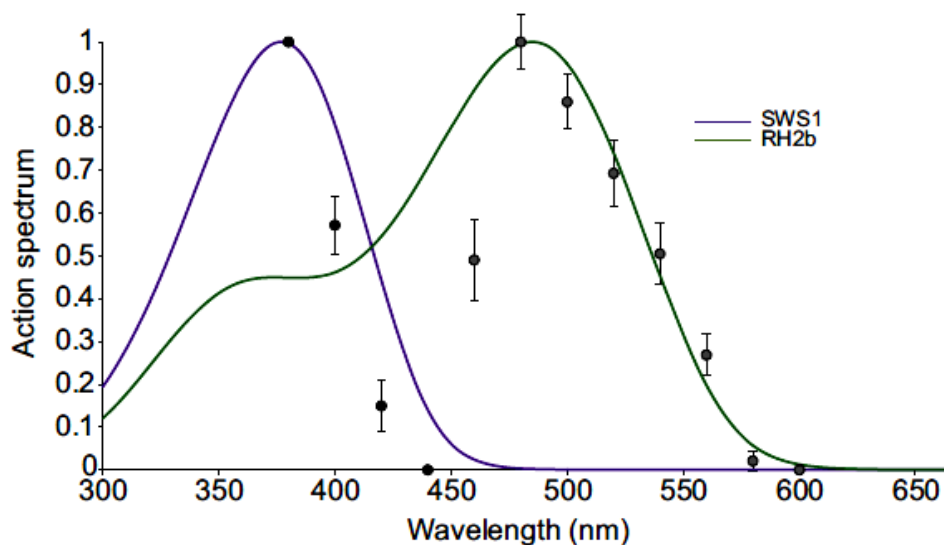


Рис. 22. Функціональна характеристика фотовідповіді еритрофорів риби тилляпії *Oreochromis niloticus*. Еритрофори тилляпії показали фотовідповідь, яка залежить від довжини світлової хвилі. Агрегація фотопігментів відбувалася після впливу ультрафіолетових променів і короткохвильового світлового випромінювання (380-440 нм), а розсіювання пігментних гранул відбувалося при впливі середніх і довгих світлових хвиль (460-600 нм). Було виявлено два піки чутливості еритрофорів - при довжині хвилі 380 нм і 480 нм, які

відповідають пікам абсорбції для фотопігментів сітківки ока тилипії - опсинів SWS1 (360 нм) і RH2b (472 нм). На графіку вказані криві абсорбції світлового випромінювання фотопігментами SWS1 (фіолетова крива) і RH2b (зелена крива). Аналіз кривої абсорбції світлового випромінювання свідчить про те, що має місце антагоністична взаємодія між двома опсинами SWS1 і RH2b в області перекриття їх спектрів поглинання (400–460 нм) (за Chen et al., 2015).

Зміни забарвлення тіла хамелеонами (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>). Ящірки родини хамелеонів (*Chamaeleonidae*) відомі своєю здатністю змінювати забарвлення і малюнок тіла. У зовнішньому і в більш глибокому шарах шкіри хамелеонів знаходяться особливі розгалужені клітини - хроматофори, які містять зерна різних пігментів чорного, темно-коричневого, червоного і жовтого кольорів. При скороченні відростків хроматофорів зерна пігментів перерозподіляються і їх найбільша концентрація припадає на центр клітин, при цьому шкіра самої ящірки набуває білуватого або жовтого окрасу. При накопиченні темного пігменту в волокнистому шарі шкіри, вона відповідно набуває темне забарвлення. Поєднання пігментів обох шарів призводить до появи різних кольорних відтінків. Зелені кольори забарвлення з'являються додатково в результаті заломлення променів світла в поверхневому шарі шкіри, що містить кристали гуаніну.

В результаті - забарвлення хамелеонів може швидко змінюватися від білуватого і помаранчевого, через жовте і зелене до пурпурового, а потім повністю до чорного або темно-коричневого кольору. Дані зміни забарвлення можуть відбуватися як по всьому тілу тварини, так і на його окремих ділянках, супроводжуючись появою і зникненням різних смуг і плям.



Рис. 23. Хамелеон звичайний (*Chamaeleo chamaeleon*)
(за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 24. Хамелеон звичайний (*Chamaeleo chamaeleon*)
(за <https://uk.wikipedia.org/wiki/>).

Зміни забарвлення тіла хамелеонів відбуваються під дією як зовнішніх подразників - температури, світла і вологості, так і в результаті голоду, спраги, страху, роздратування і т.н. Дослідження строкатого гірського хамелеона (*Bradypodion*), що мешкає в Північній Африці, показали, що хамелеони використовують зміни кольору в першу чергу для спілкування з представниками свого виду, а не для захисту від хижаків (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Зміни забарвлення тіла у бородатих ящірок-драконів використовуються ними як для терморегуляції, так і для камуфляжу. Але, перевага віддається камуфляжу (маскувальному забарвленню). Забарвлення тіла тварини виконує різні функції, включаючи терморегуляцію, камуфляж, спілкування між особинами. При цьому вимоги різних функцій можуть входити в конфлікт.

Smith K.R. з колегами (2016) показали, що забарвлення тіла бородатих ящірок драконів *Pogona vitticeps* корелює і з забарвленням навколишнього середовища, і з його температурою. Однак, особини не проводять одночасної оптимізації і камуфляжу, і терморегуляції організму.

В лабораторних експериментах у відповідь на різні зміни забарвлення середовища і його температури - ящірки показали зміни відбивної здатності поверхні тіла як в УФ-видимому діапазоні (300-700 нм), так і в ближній інфрачервоній області (700-2100 нм), що узгоджується з функціями маскуванню і терморегуляції, відповідно, але без взаємодії між ними.

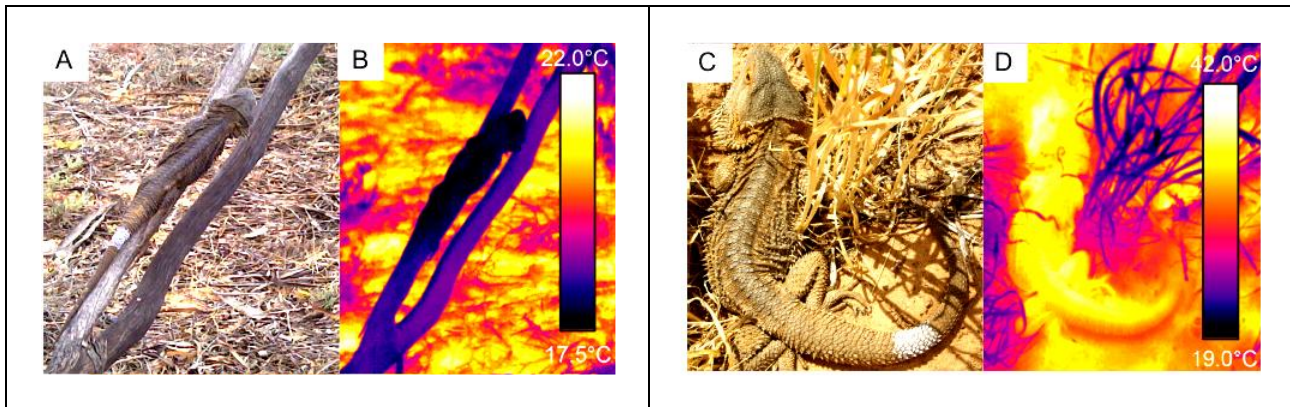


Рис. 25. Фотографії двох бородатих ящірок-драконів *Pogona vitticeps* у видимому світлі (А,С) і в теплових променях (В,Д): А,В - в прохолодних умовах, при температурі навколишнього середовища не вище +22°C, ящірки мають темне забарвлення тіла, яке не відбиває світлові промені, що забезпечує зігрівання тварини; С,Д - в жарких умовах, при температурі навколишнього середовища, що досягає +42°C, ящірки мають світле забарвлення тіла і максимально відбивають сонячні промені, що захищає їх від перегріву (Smith et al., 2016).

В цілому, результати проведених Smith K.R. з колегами (2016) досліджень, показали, що бородаті ящірки-дракони змінюють колір, щоб поліпшити як терморегуляцію, так і камуфляж, але переважно пристосовуються до вимог камуфляжу, оскільки це забезпечує більшу виживаність особин в умовах тиску хижаків (Smith et al., 2016).

Конфлікт між необхідністю світлового маскуванню тварини від хижаків на світлому природному тлі і небезпекою впливу ультрафіолетових променів на непігментовану світлу шкіру. Пустельні ігуани (*Dipsosaurus dorsalis*) мешкають в пустелях Сонора і Мохаве на південному заході США і на північному заході Мексики. Ці тварини здатні змінювати забарвлення своєї шкіри. Porter W.P. і Norris K.S. (1969) за допомогою спектрофотометра вимірювали проникність світло-забарвленої і темної шкіри пустельних ігуан для видимих і ультрафіолетових променів.

Проведені дослідження показали, що темно-забарвлена шкіра ігуан поглинає в два рази більше променів як в ультрафіолетовому, так і у видимому спектрі випромінювання, в порівнянні зі світло-забарвленою шкірою. При цьому було встановлено, що ультрафіолетові промені, які є потенційно мутагенними, спроможні проникати через світло-забарвлену, але - не через темну шкіру в глибокий організм.



Рис. 26. Ігуана пустельна (*Dipsosaurus dorsalis*) (<https://uk.wikipedia.org/wiki/>).

Таким чином, проведені дослідження показали можливість існування конфлікту між необхідністю мати світле забарвлення на світлому денному тлі пустельної екосистеми і проникністю світлої непігментованої шкіри пустельних ігуан для мутагенного ультрафіолетового випромінювання (Porter & Norris, 1969).

Флуоресценція організмів

Флуоресценція і глибоководні організми. Флуоресценція - це здатність молекул поглинати більш коротке високоенергетичне випромінювання і перевипромінювати світло більшої довжини хвилі. Багато наземних і морських організмів мають молекули, які здатні до флуоресценції.

При зануренні в глиб океану - довгі червоні, жовті й зелені промені розсіюються і на глибині залишаються тільки високо-енергетичні блакитні промені. Багато морських організмів здатні поглинати ці блакитні промені і перевипромінювати світло з більшою довжиною хвилі (тобто, зелене, помаранчеве, червоне). Здатність до флуоресценції була виявлена у медуз, ракоподібних, коралових поліпів, молюсків, ктенофор, риб і т.н.

Флуоресценція може виконувати різні функції: 1) захищати організми від шкідливого ультрафіолетового випромінювання, яке проникає на значні глибини в океані; 2) захищати організми від окисного стресу в результаті поглинання флуоресцентними молекулами агресивних вільних радикалів; 3) регулювати взаємовідносини з симбіотичними фотосинтезуючими організмами; 4) формувати захисне забарвлення; 5) забезпечувати візуальне спілкування між організмами і т.н. Зокрема, було встановлено, що багато риб мають жовті внутрішні фільтри (лінзи, рогівку), які спроможні забезпечувати поліпшене сприйняття флуоресцентного світла.

Різноманітність флуоресценції у риб. Флуоресцентні білки мають багато організмів. Sparks J.S. з колегами (2014) вивчали флуоресценцію риб в коралових рифах. Авторами роботи були ідентифіковані 16 рядів, 50 родин, 105 родів і більше 180 видів риб здатних до флуоресценції. Наявність у багатьох флуоресцентних ліній риб внутрішньоочних жовтих фільтрів, які пропускають довго-хвильове світло, і можливості кольорового зору риб коралових рифів - дозволили авторам роботи припустити, що ці риби здатні бачити флуоресцентне світло.

В результаті проведених досліджень, Sparks J.S. з колегами (2014) було показано, що флуоресценція використовується рибами для внутрішньовидового спілкування, а також - для камуфляжу (Sparks et al., 2014).

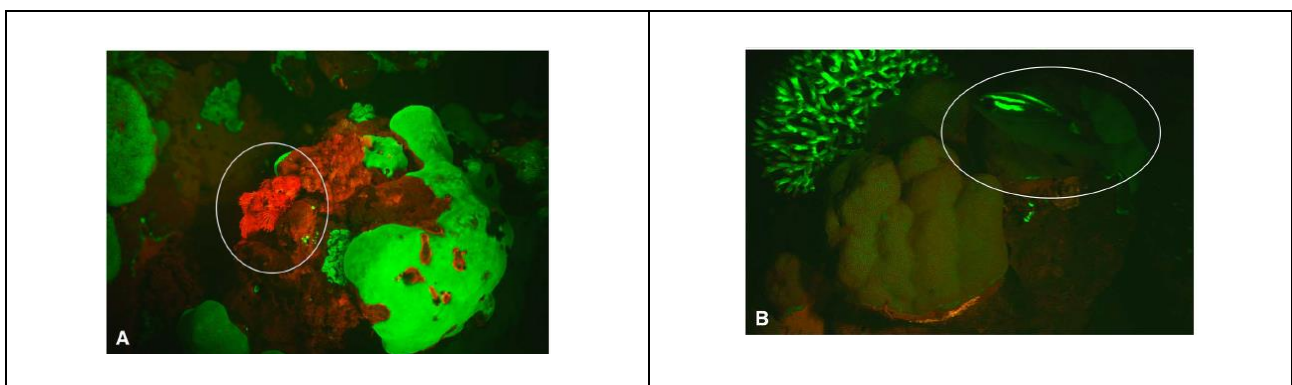


Рис. 27. Використання рибами флуоресценції для камуфляжу. Риби коралових рифів, зняті вночі в акваторії Соломонових островів. Де: А - риба-скорпіон *Scorpaenopsis papuensis* випромінює червоне флуоресцентне світло і сидить на водоростях, які теж випромінюють червоне флуоресцентне світло; В - лящ *Scolopsis bilineata*, який випромінює зелене флуоресцентне світло, знаходиться поруч з кораловим поліпом *Acropora sp. Coralhead*, який теж випромінює зелене флуоресцентне світло (Sparks et al., 2014).

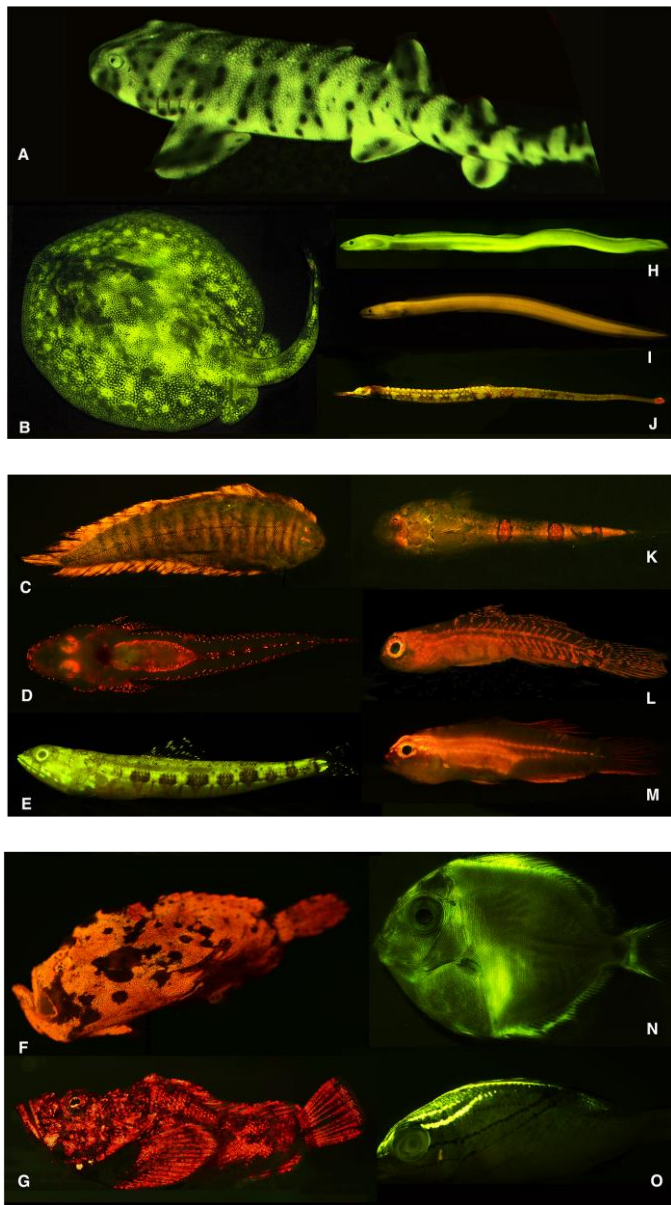


Рис. 28. Різноманітність типів флуоресценції у морських риб. Де: А - каліфорнійська акула, що роздувається *Cephaloscyllium ventriosum*; В - скат *Urobatis jamaicensis*; С - камбала *Sphyrna tiburo*; D – представник роду плоскоголових риб *Cociella hutchinsi*; Е – риба-ящірка *Synodus dermatogenys*; F - риба-жаба *Antennarius maculatus*; G - псевдо кам'яна риба *Scorpaenopsis diabolus*; H - вугор *Kaupichthys brachychirus*; I – вугор *Kaupichthys nuchalis*; J – риба-труба *Corythoichthys haematopterus*; K - пісочне зоряне око *Gillellus uranidea*; L - бичок *Eviota* sp.; M - бичок *Eviota atriventris*; N - риба-хірург *Acanthurus coeruleus*, личинка; О - ниткоподібний лящ *Scolopsis bilineata* (Sparks et al., 2014).

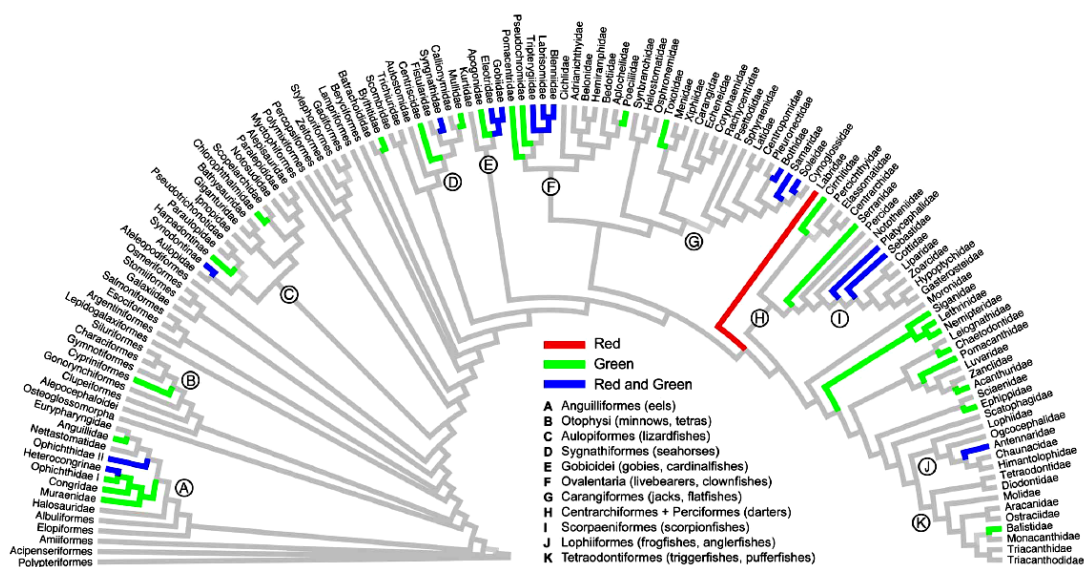


Рис. 29. Здатність до флуоресценції різних кольорів незалежно багаторазово з'являлася в різних лініях лучеперих риб (*Actinopterygii*) (Sparks et al., 2014).

Флуоресцентні білки вугрів *Kaupichthys* походять від нефлуоресцентних білків мозку. Ці білки підлягали спрямованій селекції. Gruber D.F. з колегами (2015) в Карибському морі на великих глибинах в районі Малих Кайманових островів виявили вугрів *Kaupichthys*, здатних до зеленої флуоресценції. Ці вугри живуть на значних глибинах, на які проникає тільки блакитне світло. Завдяки флуоресцентним білкам, які синтезуються в їх клітинах, в блакитних променях тіло вугрів світиться зеленим світлом.

Gruber D.F. з колегами (2015), на підставі результатів транскриптомного аналізу, у вугрів *Kaupichthys*, здатних до флуоресценції, ідентифікували два нових представника родини білірубін-індукованих флуоресцентних білків. При цьому було виявлено ключову ділянку в амінокислотній послідовності, зміни в якій забезпечили еволюційне перемикавання від білків, які зв'язують жирні кислоти родини FABPs і не спроможні до флуоресценції, до білків, здатних до флуоресценції. Gruber D.F. з колегами (2015) був проведений філогенетичний аналіз 210 білків родини FABPs у 16 груп хребетних тварин, що належать до 163 таксонів. В результаті проведеного дослідження було показано, що флуоресцентні білки з'явилися в результаті відділення від давніх FABPs білків і є групою, сестринською для FABPs білків мозку.



Рис. 30. Флуоресценція вугра *Kaupichthys*. Малые Каймановые острова (Gruber et al., 2015).

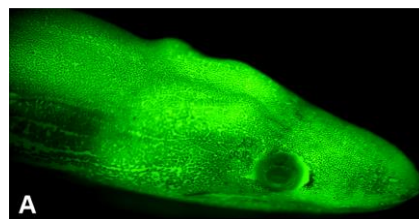


Рис. 31. Флуоресценція голови вугра *Kaupichthys*. Малі Кайманові острови (Gruber et al., 2015).

Було встановлено, що еволюція родини флуоресцентних білків включала як мінімум три події генної дуплікації. Авторами роботи в структурі флуоресцентних білків було виявлено унікальний трипептид Gly-Pro-Pro, характерний тільки для флуоресцентних білків і не знайдений у нефлуоресцентних білків, що зв'язують жирні кислоти FABPs.

Ця ділянка з'явилася в процесі дуплікації однієї з FABPs ізоформ білка мозку і піддавалася спрямованому відбору, який призвів до появи нової родини флуоресцентних білків. Більше того, амінокислотні залишки, які примикають до унікального трипептиду, знаходяться під сильним позитивним відбором, що свідчить про подальше уточнення флуоресцентних властивостей білків вугра (Gruber et al., 2015).

Флуоресцентні хроматофори регулюють рівень флуоресценції шкіри риб. Забарвлення тіла відіграє важливу роль в екології риб. Холоднокровні організми і, зокрема риби, мають певний тип клітин, т.зв. хроматофори, які регулюють звичайне забарвлення тіла тварин. Завдяки цим клітинам, забарвлення тіла тварин є динамічним, багатобарвним та використовується тваринами для спілкування між організмами і камуфляжу.

Wucherer M.F. і Michiels N.K. (2012) відкрили у риб хроматофори, які регулюють розподіл флуоресцентного пігменту в шкірі. Ці хроматофори мають розгалужену будову і містять рухливі флуоресцентні частинки. Ці частинки здатні за допомогою цитоскелетних структур або збиратися разом в центрі клітини-хроматофора, або - розсіюватися по всій клітині під впливом гормонів або сигналів нервової системи.

Наявність контролю хроматофорів з боку нервової системи підтверджує припущення про можливу роль флуоресценції в спілкуванні організмів (Wucherer & Michiels, 2012).

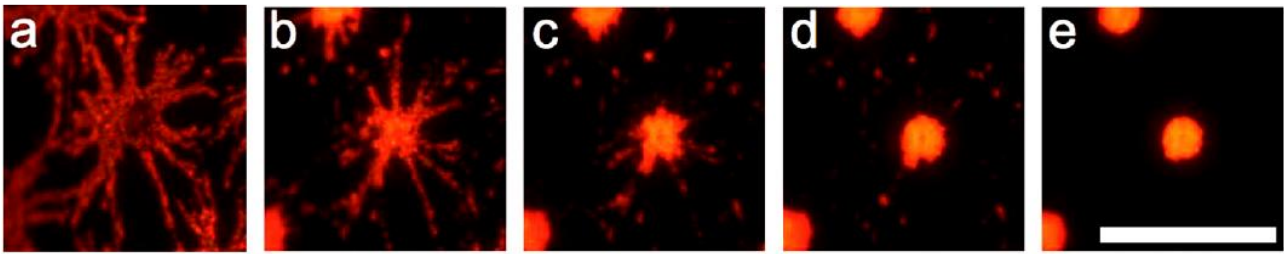


Рис. 32. Динаміка процесу агрегації гранул з флуоресцентним пігментом (флуоросом) в клітинах-хроматофорах. Де: а - максимально розсіяний стан флуоросом всередині клітин-хроматофорів; е - максимально агрегований в центрі клітин-хроматофорів стан флуоресцентних гранул. 1 бар = 100 мкм (Wucherer & Michiels, 2012).

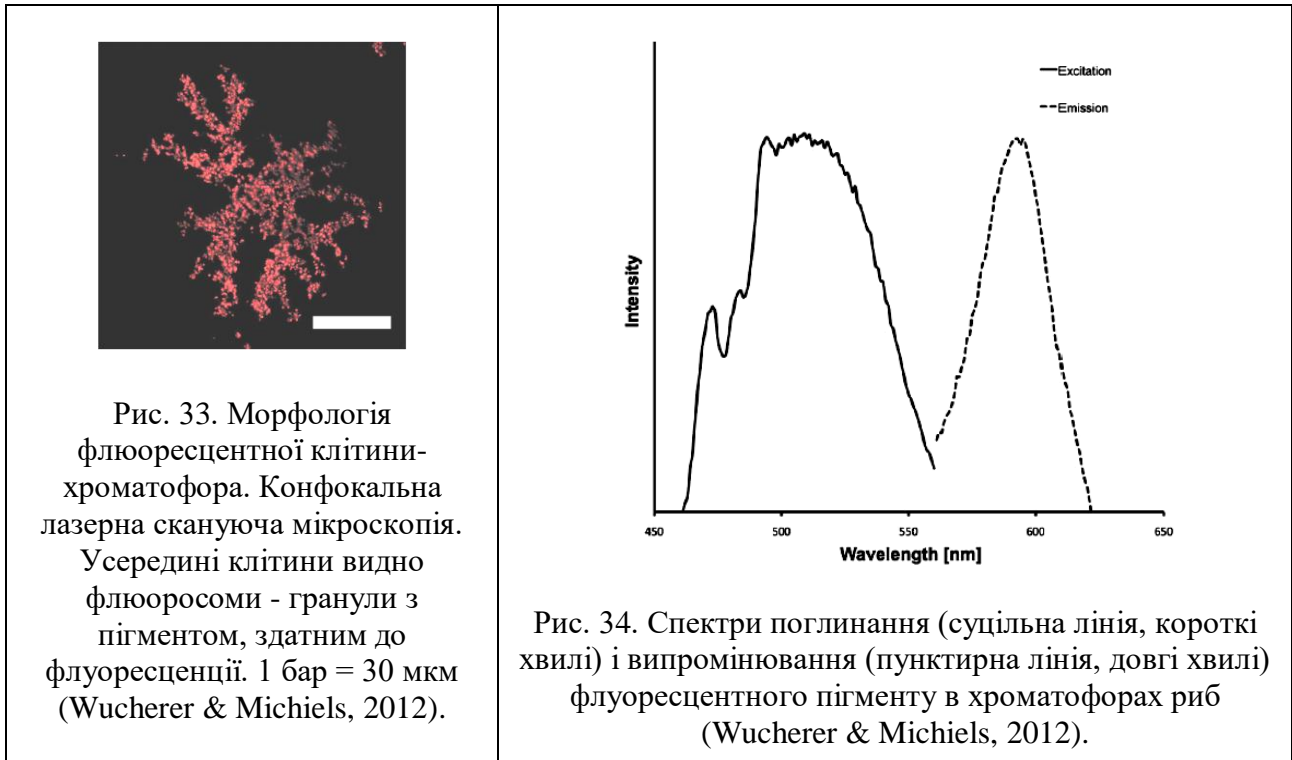


Рис. 33. Морфологія флуоресцентної клітини-хроматофора. Конфокальна лазерна скануюча мікроскопія. Усередині клітини видно флуоросоми - гранули з пігментом, здатним до флуоресценції. 1 бар = 30 мкм (Wucherer & Michiels, 2012).

Рис. 34. Спектри поглинання (суцільна лінія, короткі хвилі) і випромінювання (пунктирна лінія, довгі хвилі) флуоресцентного пігменту в хроматофорах риб (Wucherer & Michiels, 2012).

Різноманітність кольорів флуоресценції коралових поліпів - це прояв фенотипічної пластичності у пристосуванні до різних глибин проживання. У коралових поліпів колір забарвлення коралового поліпа визначається амінокислотною послідовністю білка, гомологічного зеленому флуоресцентному білку (GFP) медузи *Aequorea victoria*. Раніше Kelmanson I.V. і Matz M.V. (2003) було показано, що заснована на GFP-подібних білках, сучасна різноманітність кольорів коралових рифів виникла відносно нещодавно і незалежно в декількох лініях коралових поліпів. У своїй наступній роботі автори використовували корали *Montastraea cavernosa*: цей вид є одним з найбільш поширених рифоутворюючих коралів на Карибських островах, і демонструє кілька варіантів забарвлення.

Kelmanson I.V. і Matz M.V. (2003) були досліджені три колонії коралових поліпів *Montastraea cavernosa* (*Scleractinia*, *Faviida*), які представляють різні кольорні морфи. Несподівано було виявлено, що ці три колонії коралових поліпів експресують одну і ту ж колекцію GFP-подібних білків, що продукуються 4-7 різними генетичними локусами. Ці гени кодують три основні кольори - блакитний, зелений і червоний - і по-різному експресуються відносно один одного в різних морфах.

Отримані Kelmanson I.V. і Matz M.V. (2003) результати показують, що зміна кольору у *Montastraea cavernosa* - це не справжній поліморфізм, а скоріше прояв фенотипічної пластичності (поліфенізма) (Kelmanson & Matz, 2003).

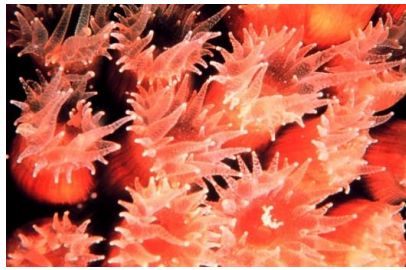


Рис. 35. Коралові поліпи *Montastraea cavernosa* (за <https://en.wikipedia.org/wiki/Montastraea>).

Різнокольорові флуоресцентні протеїни з'явилися у коралових поліпів для регулювання взаємовідносин з їх фотосимбіонтами. Спочатку було висловлено припущення про те, що багатобарвність флуоресцентних білків у коралових поліпів може бути пов'язана з захистом їх фотосимбіонтів від світлового випромінювання. Однак, захист не вимагає багатокольоровості. Була також висловлена гіпотеза, що це світло використовується для фотосинтезу - але його інтенсивність, як мінімум у дослідженого коралового поліпа *Montastrea cavernosa* - не є настільки значною, щоб забезпечити ефективність даного процесу.

Проведені Field S.F. з колегами (2006) дослідження показали, що, швидше за все, різні кольори флуоресценції необхідні для регуляторного впливу коралового поліпа на свого фотосимбіонта. Field S.F. з колегами (2006) припустили, що еволюція багатобарвних флуоресцентних білків у коралових поліпів пов'язана з ко-еволюцією коралів з фотосинтезуючими симбіонтами (Field et al., 2006).

Біолоюмінесценція організмів

Біолоюмінесценція. В умовах нестачі освітленості живі організми здатні самі генерувати світло в результаті протікання біохімічних реакцій в їх клітинах. До біолоюмінесценції здатні деякі бактерії, найпростіші, гриби, медузи, коралові поліпи, молюски, ракоподібні, комахи і т.н. У деяких випадках біолоюмінесценція складних організмів пов'язана з підселенням в їх клітини бактерій, що світяться. Однак, в більшості випадків - організми самі здатні генерувати світло в своїх клітинах.

Біохімічні основи біолоюмінесценції є різними у різних груп організмів, оскільки здатність до самосвітіння багаторазово і незалежно з'являлася у різних організмів. Однак, в основі цього процесу у всіх організмів лежить загальний принцип: в клітинах синтезуються пігменти люциферини і ферменти люциферази; люциферази каталізують реакцію окислення люциферинів, при цьому надлишок енергії виділяється у вигляді світлового випромінювання. Біолоюмінесценція використовується для відлякування хижаків, для маскуванню, для залучення потенційної жертви, для залучення шлюбних партнерів, для захисту кормової бази, для внутрішньовидового спілкування і т.н.



Рис. 36. Розмноження бермудських вогненних черв'яків *Odontosyllis enopla* (Поліхети) відбувається відповідно до місячних ритмів (в перші ночі після повного місяця) і супроводжується яскравою біолоюмінесценцією, необхідною для залучення особин свого виду. У період розмноження всі чотири ока цих черв'яків стають гіпертрофованими. Під час нересту самки черв'яків плавають повільними колами і разом зі звільненням гамет - виділяють яскравий блакитно-зелений слиз, який світиться. Самці швидко плывуть до самок,

які світяться, і випускають короткі спалахи світла, перш ніж виділити свої гамети (Brugler et al., 2018)



Рис. 37. Глибоководні риби-рибалки: *Melanocetus johnsonii* (зверху) і *Cryptopsaras couesii* (внизу) (Hendry et al., 2018). Риби-рибалки мають над головою т.зв. «вудку» з відростків спинних плавникових променів. Кінцева ділянка «вудки» може світитися за рахунок підселення симбіотичних бактерій і залучати риб - потенційних жертв.

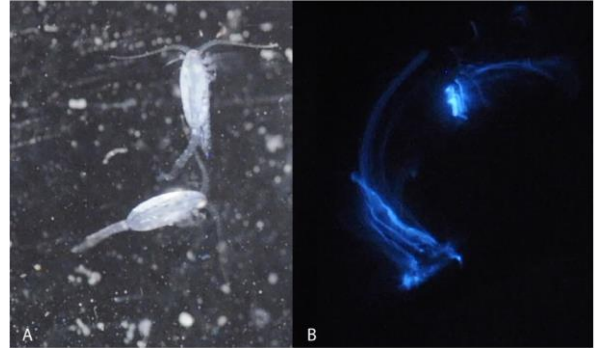


Рис. 38. Світлова мікроскопія рачків *Metridia lucens*: (A) - при звичайному освітленні; (B) - білюмінесценція рачків. Tessler M. з колегами (2018), завдяки використанню ізотопу вуглецю-13, вперше було показано, що рачки-копеподи *Metridia* самі синтезують люциферин, а не отримують його в складі їжі (Tessler et al., 2018).

Глибоководні морські зірки використовують білюмінесценцію для внутрішньовидового спілкування. Birk M.H. з колегами (2018) вивчали морських зірок, що мешкають в арктичних водах Гренландії. При цьому види, виявлені в афотичній зоні, на глибинах понад 320 м, перевірялися на здатність до білюмінесценції. Всі досліджені глибоководні види, крім *Stenodiscus crispatus*, мали очі і два види виявилися здатними до білюмінесценції.

Наприклад, глибоководні морські зірки *Novodinia americana*, живуть в афотичній зоні (в темряві), мають очі і здатні до білюмінесценції. Birk M.H. з колегами (2018) припустили, що в умовах афотичної зони морські зірки використовують білюмінесценцію для візуального спілкування між собою під час шлюбного періоду (Birk et al., 2018).

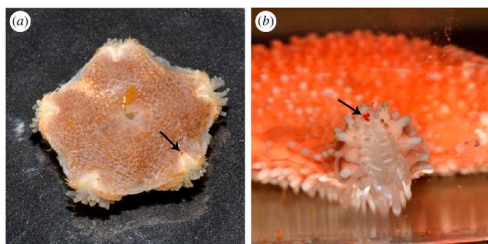


Рис. 39. Розташування очей на кінчиках рук у морських зірок: (a) - морські зірки *Diplopteraster multipes* згинають свої руки під кутом близько до 180°, в результаті чого їх погляд стає спрямованим в гору; (B) - морські зірки *Hippasteria phrygiana* згинають свої руки під кутом приблизно в 90°, що дозволяє їм бачити простір на горизонті (Birk et al., 2018). (C) - Морська зірка *Novodinia* (<http://echinoblog.blogspot.com/2014/08/because-brisingid-starfish-are.html>).

Вогняні мухи *Oculogryphus chenghoiyanae* мають здатність і до білюмінесценції, і до флюоресценції. Дослідження, проведені Yiu V. і Jeng M.L. (2018), показали, що вогняні

мухи *Oculogryphus chenghoiyanae*, які мешкають в Гон-Конгу, в темряві - мають здатність до біолоюмінесценції, а вдень в ультрафіолетовому світлі - випромінюють флуоресцентне світло.

У наземних тварин рідко можна одночасно зустріти здатність і до біолоюмінесценції, і до флуоресценції. Вдень на сонячному світлі флуоресцентні білки захищають їх клітини від ультрафіолету, а вночі, в періоди спарювання, біолоюмінесценція допомагає знайти шлюбного партнера.



Рис. 40. Самець вогняної мухи *Oculogryphus chenghoiyanae* (за Yiu & Jeng, 2018).

*NB! Самки вогняних мух характеризуються педоморфізмом - тобто вони схожі на личинок, а не на дорослих особин.

У вогняних мух *Oculogryphus* здатність до біолоюмінесценції має спеціальний орган на черевці, який продукує яскраве зеленувато-жовте світло, тоді як стінки всього тіла вогняних мух в УФ-променях дають блакитно-зелене світіння. А ось у багатоніжок *Diplopoda* флуоресценція і біолоюмінесценція біохімічно взаємопов'язані, як і у деяких медуз (*Cnidaria: Medusozoa*) (Yiu & Jeng, 2018).

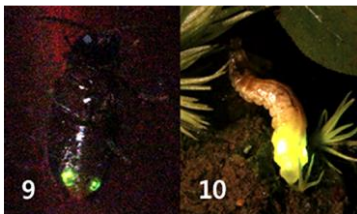


Рис. 41. Біолоюмінесценція черевних сегментів тіла самців (9) і самок (10) вогняних мух *Oculogryphus chenghoiyanae* в період спарювання (Yiu & Jeng, 2018).



Рис. 42. Самка *Oculogryphus chenghoiyanae* в ультрафіолетових променях (УФ-А, 365-375 нм) дає блакитно-зелене флуоресцентне світіння (Yiu & Jeng, 2018).

У світлячків здатність до біолоюмінесценції може використовуватися ними для захисту від нічних атак кажанів. Багато захищених тварин (наприклад, отруйних) запобігають атакам хижаків, показуючи їм попереджувальні сигнали, які дуже помітні для хижаків. Leavell В.С. з колегами (2018) припустили, що світлячки, здатні до біолоюмінесценції, своїми спалахами світла не тільки привертають шлюбного партнера в період залицяння, але також сигналізують хижим кажанам про свою небезпеку.



Рис. 43. Північно-американський світлячок *Photinus pyralis*. Самець використовує біолоюмінесценцію для залучення самок (<https://www.google.com.ua/search?q=Photinus+pyralis>).

Для перевірки цієї гіпотези, Leavell В.С. з колегами (2018) поміщали разом молодих недосвідчених великих коричневих кажанів (*Eptesicus fuscus*) з хімічно захищеними світлячками (*Photinus pyralis*), щоб з'ясувати, чи передається застережливий сигнал про небезпеку світлячків кажанам. В результаті проведених досліджень було встановлено, що кажани навчаються уникати хімічно захищених світлячків, використовуючи зір або ехолокацію.

При цьому виявилось, що кажани вчаться швидше при інтеграції інформації з обох сенсорних потоків, що є фундаментальним доказом того, що мультисенсорна інтеграція підвищує ефективність сигналів попередження в природній системі хижак-жертва. Отримані Leavell В.С. з колегами (2018) результати дозволяють припустити, що хижацтво кажанів могло стимулювати еволюцію біоломінесценції світлячків (Leavell et al., 2018).

Використання організмами теплового випромінювання для здійснення окисленого фотосинтезу в умовах відсутності видимого світла

Знайдено хлорофіли, здатні поглинати теплові промені і забезпечувати окислений фотосинтез в ближніх інфрачервоних, а не в видимих світлових променях. Фактором, що лімітує фотосинтезуючі організми, є ефективність їх системи уловлювання світла і конверсії світлової енергії в енергію хімічних зв'язків. Невеликі модифікації молекул хлорофілу дозволяють фотосинтезуючим організмам вловлювати сонячну енергію різної довжини хвилі. Організми, які здійснюють окислений фотосинтез, як правило, використовують тільки видиме світло з усього сонячного спектра (тобто електромагнітні хвилі довжиною 400-700 нм). Однак, були знайдені ціанобактерії *Acaryochloris marina*, які здатні здійснювати окислений фотосинтез використовуючи хлорофіл d, що поглинає ближні інфрачервоні промені (довжиною 700-750 нм), які не абсорбуються хлорофілом а.

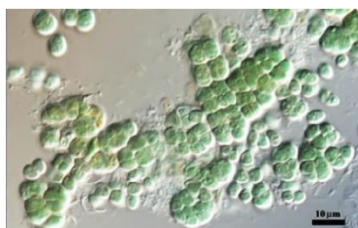


Рис. 44. Ціанобактерії *Acaryochloris marina* здатні здійснювати тепловий фотосинтез за допомогою хлорофілу d в їх клітинах (<https://www.researchgate.net/figure/Image-of-Acaryochloris-marina>).

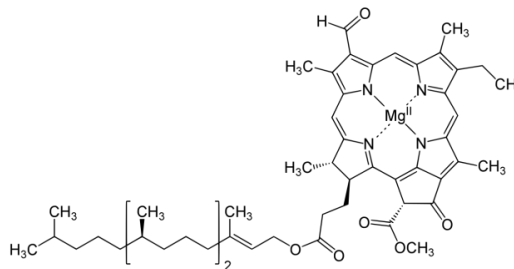


Рис. 45. Структура хлорофіла d (за https://ru.wikipedia.org/wiki/Acaryochloris_marina).

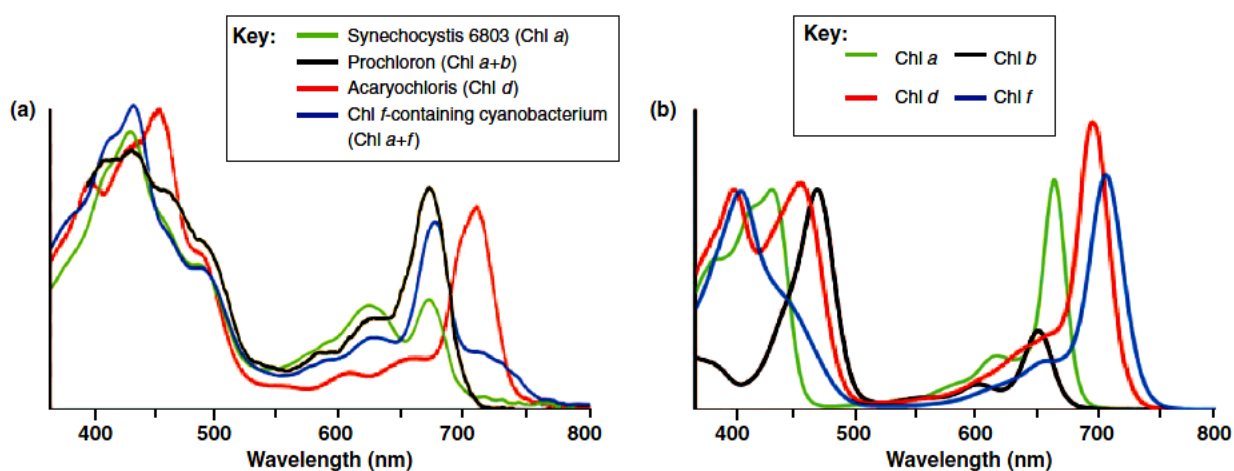


Рис. 46. (а) – Спектри абсорбції світлового випромінювання для *Synechocystis* PCC6803, що містить хлорофіл а; *Acaryochloris marina*, що містить в основному хлорофіл d, і нещодавно

відкритої ціанобактерії, що містить f-хлорофіл і хлорофіл a. (B) - спектри абсорбції різних типів хлорофілів: Chl a, зелена лінія - хлорофіл a; Chl b, чорна лінія - хлорофіл b; Chl d, червона лінія - хлорофіл d; Chl f, блакитна лінія - хлорофіл f (за Chen & Blankenship, 2011).

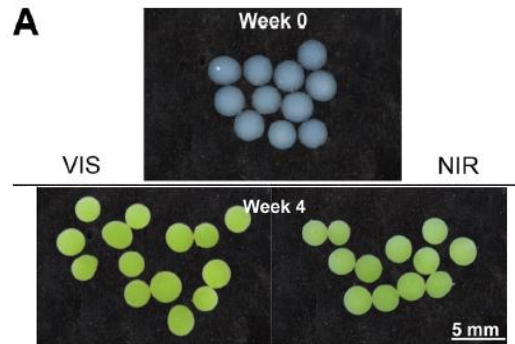


Рис. 47. Після етиоляції (т.т., вирощування за умови нестачі видимого світла), ціанобактерій *Acaryochloris marina* переносили або на видиме світло, або в умови дії ближнього інфрачервоного випромінювання. В обох варіантах експерименту - бактерії вижили і позеленіли. У цих ціанобактерій більшу частину фотосинтезуючих пігментів складає хлорофіл d, здатний використовувати теплове випромінювання для оксигенного фотосинтезу (Behrendt et al., 2012).

Таким чином, ціанобактерії *Acaryochloris marina* проводять фотосинтез з використанням несвітлових, а ближніх теплових інфрачервоних променів. Слід зазначити, що недавно у одній з груп ціанобактерій був виявлений хлорофіл f, здатний поглинати електромагнітні хвилі ще більшої довжини хвилі (за Chen & Blankenship, 2011).

Ціанобактерії, які здатні здійснювати фотосинтез в теплових інфрачервоних променях, знайшли у вигляді біоплівки на червоних водоростях, які колонізували пневматофори мангрових лісів. В результаті проведення гіперспектральної мікроскопії, Larkum A.W. з колегами (2012) були знайдені мікроорганізми, які містять хлорофіл-d, в епіфітних біоплівках на поверхні червоних водоростей *Gelidium caulacanthum*, які колонізують пневматофори мангрових дерев *Avicennia marina*.

Це дозволило виявити нову епіфітну ціанобактерію, яка містить хлорофіл-d, і розширити уявлення про екологічні ніші, які займають ціанобактерії, спроможні фотосинтезувати в теплових ближніх інфрачервоних променях. Larkum A.W. з колегами (2012) припустили, що такі оксигенні фототрофи можуть бути численними в умовах нестачі природного освітлення, проте - при достатній кількості теплових ближніх інфрачервоних променів (Larkum et al., 2012).

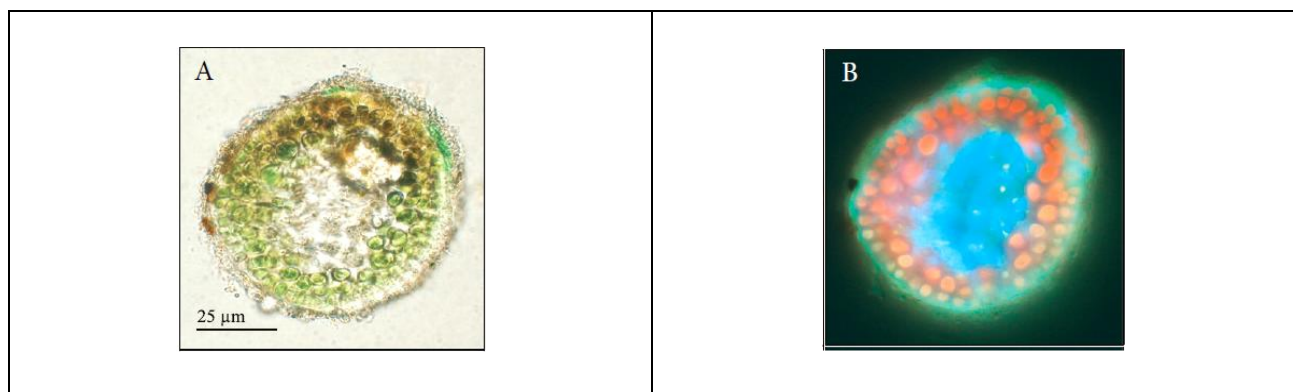


Рис. 48. Виявлення клітин ціанобактерій *Acaryochloris* на зовнішній поверхні червоних водоростей *Gelidium caulacanthum*. Великі хлоропласти червоної водорості дають яскраве червоне флуоресцентне світіння. Де: (A) і (B) - яскравопольна і УФ-індукована

аутофлюоресценція червоних водоростей *Gelidium caulacanthum* дозволили виявити клітини ціанобактерій *Acaryochloris* на периферії клітин червоних водоростей (Larkum et al., 2012).

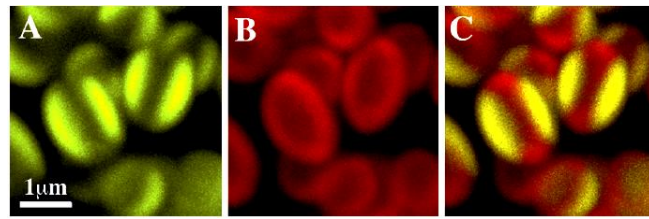


Рис. 49. Клітини нової, виявленої авторами роботи, ціанобактерії *Acaryochloris*. Конфокальна мікроскопія. Флуоресцентне світіння клітин ціанобактерій. Де: (A) - емісія світла при довжині хвилі 680-720 нм; (B) - емісія світла при довжині хвилі 730-760 нм; (C) - накладення зображень A і B (Larkum et al., 2012).

Організми-ендоліти (організми, що живуть усередині каменів) і оксигенний фотосинтез. Ціанобактерії роду *Acaryochloris* - єдина відома на сьогоднішній день група організмів, які здійснюють оксигенний фотосинтез за допомогою хлорофілу-d в ближніх теплових інфрачервоних променях. Авторами роботи було показано, що ціанобактерії *Acaryochloris* є ендолітами, які мешкають під кіркою водоростей на мертвих коралах. Результати даного дослідження свідчать про важливу екологічну роль ціанобактерій, які містять хлорофіл-d, в ендолітних середовищах з високим рівнем ближнього інфрачервоного випромінювання, який дозволяє проводити бактеріям в темряві оксигенний фотосинтез.



Рис. 50. Біоплівка з ціанобактерій, знайдена під кіркою водоростей, що жили на мертвих коралах. Де: Chl d - хлорофіл d; Chl d area 2 - хлорофіл d в зоні 2; Endolites - ендоліти 1 бар = 1 мм (Behrendt et al., 2011).

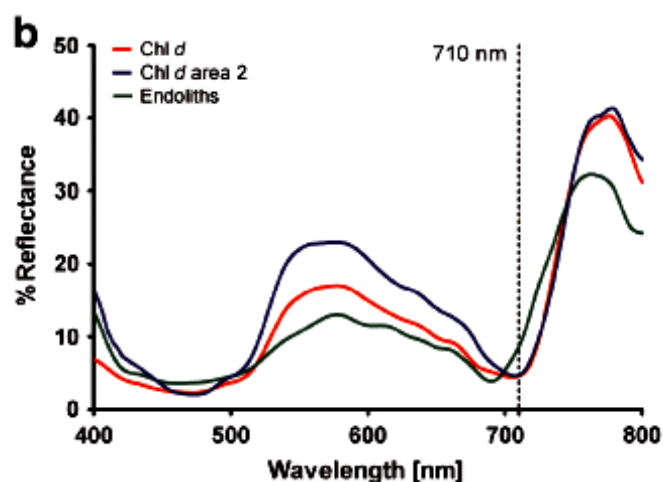


Рис. 51. Спектральні вимірювання, виконані в зразку мертвого корала з відаленим шаром коралових водоростей. Пік абсорбції (поглинання) променів хлорофілом d становить 710 нм. Де: по осі ОУ - % відбитих променів, (% Reflectance); по осі ОХ - довжина хвилі, нм (Wavelength, nm); Chl d - хлорофіл d; Chl d area 2 - хлорофіл d в зоні 2; Endolites - ендоліти (Behrendt et al., 2011).

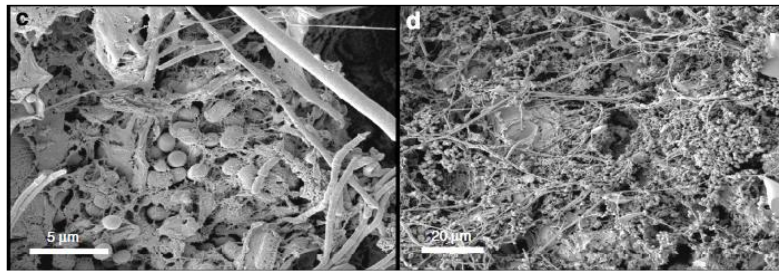


Рис. 52. Скануюча електронна мікроскопія дозволила виявити ціанобактерії *Acaryochloris marina* і філаментні ціанобактерії під кіркою коралових водоростей в зразку мертвого корала. Для: (c) 1 бар = 5 мкм; для (d) 1 бар = 20 мкм (Behrendt et al., 2011).

Знайдено мікробні біоплівки, здатні до теплового фотосинтезу, на нижній поверхні дідемнідних асцидій. Behrendt L. з колегами (2012) було встановлено, що дідемнідні асцидії *Lissoclinum patella* мають три окремі мікробні спільноти, просторово розділені кількома міліметрами тканини туніки: (i) біоплівка на верхній поверхні асцидії, яка піддається впливу високих рівнів випромінювання і O_2 ; (ii) біоплівка порожнини клоаки, в якій переважає прохлорофіт *Prochloron* spp. і яка характеризується дуже низьким рівнем видимого світла і динамічними переходами від умов гіпероксії на світлі до аноксії в темряві; (iii) біоплівка, що покриває нижню частину тварини, де практично відсутні видимі світлові промені, проте є значна кількість ближнього інфрачервоного випромінювання.

Проведені Behrendt L. з колегами (2012) дослідження показали домінування ціанобактерій у всіх трьох мікробних шарах асцидії. На нижньому боці асцидії численними були ціанобактерії *Acaryochloris marina*, що містять хлорофіл d, і здійснюють оксигенний фотосинтез за рахунок ближнього теплового інфрачервоного випромінювання. При цьому було показано зменшення кількості цих бактерій з глибиною, що пов'язане зі значним зменшенням рівня ближнього інфрачервоного випромінювання.



Рис. 53. Тропічні дідемнідні асцидії *Lissoclinum patella* в природних умовах проживання. Де: (a) - внутрішній гребінь коралового рифу під час відливу на острові Херон, Квінсленд, Австралія; (b) - зразок асцидії *Lissoclinum patella*, знайдений між мертвими і живими кораловими гілками; (c) - у темно-зеленого зразка *Lissoclinum patella* джерелом зеленого забарвлення асцидії є облигатний симбіонт *Prochloron* spp., який знаходиться в клоакальних порожнинах асцидії; (d) - поперечний розріз асцидії *Lissoclinum patella*. Зверніть увагу на товсту червону біоплівку, яка покриває нижню сторону туніки, і зелені клітини *Prochloron*

spp. в клоакальній порожнині асцидії. Surface - поверхневий шар; Cloacal cavity - клоака; Underside - підшва, нижня частина асцидії; Surface, Cloacal cavity і Underside - це ділянки асцидії, взяті для проведення подальших аналізів (Behrendt et al., 2012).

Міксотрофія і мікогетеротрофія у рослин

Міксотрофія і мікогетеротрофія у рослин. Міксотрофні рослини поєднують фотосинтез і гетеротрофний тип харчування. Міксотрофія - досить поширене на суші явище серед рослин. Чому більшість міксотрофних наземних рослин не переходять повністю на гетеротрофний тип харчування? Tesitel J. з колегами (2018) вважають, що фотосинтез відіграє важливу роль в репродукції таких рослин. Тому, вони зберігають здатність до фотосинтезу (Tesitel et al., 2018). Перехід рослин до міксотрофії відбувається не тільки при нестачі освітленості, але також і при недостатній кількості біогенних хімічних елементів, зокрема, азоту, в навколишньому середовищі (Lallemand et al., 2017).

Мікогетеротрофія. Давні міксотрофні рослини дали початок мікогетеротрофним рослинам, які частково або повністю втратили хлорофіл і харчуються тільки за рахунок органічних речовин, які їм постачають мікоризні гриби (Lallemand et al., 2019).

Рівень мікогетеротрофії може регулюватися рослиною-господарем в залежності від рівня освітленості навколишнього середовища. Дослідження, проведені Schweiger J.M. з колегами (2019), показали, що у орхідей перехід до часткової мікогетеротрофії чітко корелював з рівнем освітленості рослин: тобто, при нестачі світла - вони починали харчуватися за рахунок мікоризних грибів.

Частково мікогетеротрофні рослини отримують органічні речовини не тільки за рахунок фотосинтезу, але також - і від своїх мікоризних грибів-симбіонтів. Було встановлено, що деякі частково мікогетеротрофні орхідеї, пов'язані з ектомікоризними грибами, гнучко регулюють кількість органічних молекул, отриманих від грибів, відповідно до рівня освітленості середовища проживання.

Автори роботи припустили, що орхідеї *Neottia alca* і *Ophrys insectifera*, асоційовані з сапротрофними ризоктонічними грибами, також здатні збільшувати кількість одержуваних від грибів органічних молекул при зниженні рівня освітленості навколишнього середовища.



Рис. 54. Зозулині сльози яйцеподібні (*Neottia ovate*)
(https://en.wikipedia.org/wiki/Neottia_ovata).



Рис. 55. Офрис комахоносна (*Ophrys insectifera*)
(https://en.wikipedia.org/wiki/Ophrys_insectifera)

Автори роботи визначали рівні освітленості в місцях проживання орхідей *Neottia alca* і *Ophrys insectifera* на луках і в лісі і відбирали зразки листя цих орхідей для проведення ізотопного аналізу ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^2\text{H}$, $\delta^{18}\text{O}$).

В результаті проведених досліджень було встановлено значне збагачення орхідей важкими ізотопами вуглецю ^{13}C порівняно з автотрофними рослинами, які мешкають в лісі, але не на пасовищах, і значне збагачення важкими ізотопами водню ^2H в обох місцях зростання орхідей. У орхідей *Ophrys insectifera* накопичення в листі важкого ізотопу вуглецю C^{13} лінійно корелювало з рівнем освітленості території проживання цих рослин.

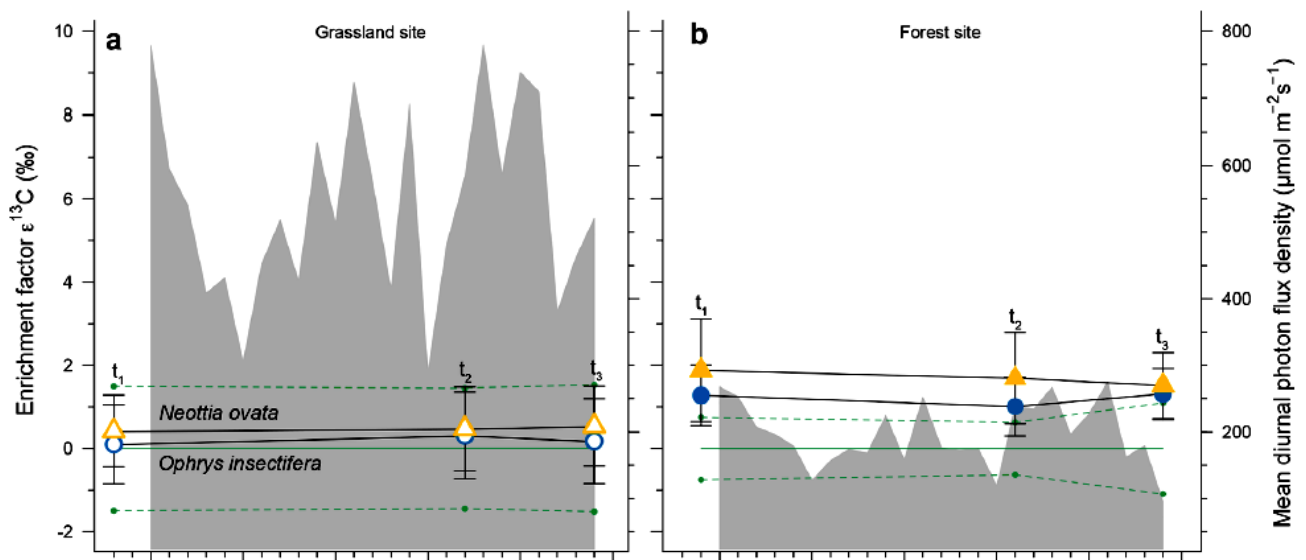


Рис. 56. Середній рівень освітленості орхідей, що ростуть на лузі і в лісі, і рівень збагачення тканин рослин важким ізотопом вуглецю ^{13}C . Де: Enrichment factor $\epsilon^{13}\text{C}$, ‰ – рівень збагачення тканин рослин важким ізотопом вуглецю ^{13}C ; Mean diurnal photon flux density, $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ – середньодобова щільність потоку фотонів, $\mu\text{Mоль м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$; Grassland site – луг; Forest site - ліс (Schweiger et al., 2019).

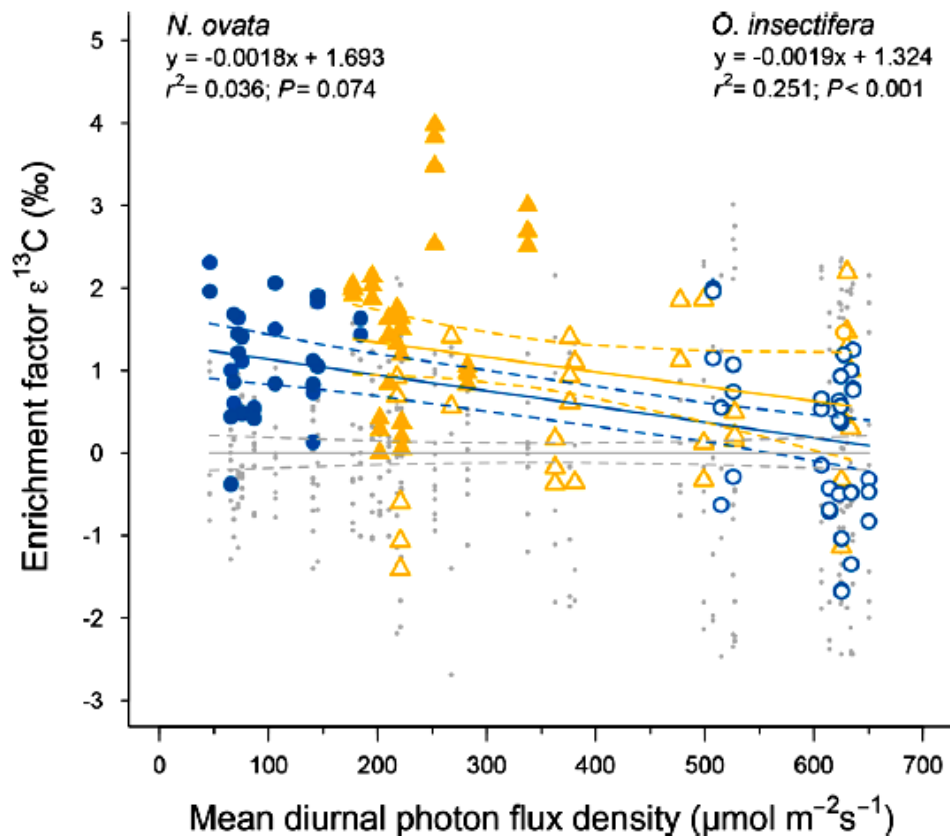


Рис. 57. Співвідношення між рівнем освітленості екосистеми і накопиченням важкого ізотопу вуглецю-13 в листях орхідей *Neottia ovata* (жовті трикутники), *Ophrys insectifera* (сині кружки) і автотрофних рослин (сірі точки); лінії регресії (суцільні лінії) нанесені на графік з довірчими інтервалами 95% (пунктирні лінії); ділянку луки - зазначено не зафарбованими символами; ділянку лісу - вказано зафарбованими символами (Schweiger et al., 2019).

Автори роботи дійшли до висновку, що обидва види орхідей можуть бути віднесені до групи частково мікогетеротрофних рослин і що як мінімум у орхідеї *Ophrys insectifera* рівень часткової мікогетеротрофії може коригуватися рослиною-господарем в залежності від рівня

освітленості навколишнього середовища. Однак експлуатація мікоризних грибів рослиною-господарем виявляється менш гнучкою у орхідей, асоційованих з сапротрофними грибами, ніж у орхідей, асоційованих з ектомікоризними грибами (Schweiger et al., 2019).

В процесі еволюційного переходу від міксотрофії до повної мікогетеротрофії, деякі рослини набувають здатності до суворой гетеротрофії ще до повної втрати ними листя. Еволюція мікогетеротрофії супроводжується редукцією у рослин розмірів листя і здатності здійснювати фотосинтез. Частково мікогетеротрофні рослини, які отримують органічні речовини і за рахунок фотосинтезу, і від їх мікоризних грибів, включають види з листям нормального розміру, а також рослини з редукованим листям.

Sakamoto Y. з колегами (2016) порівнювали ступінь мікогетеротрофії серед п'яти видів японських рослин *Cephalanthera*, серед яких представники чотирьох видів мали листя нормального розміру (*Cephalanthera 261alcate*, *Cephalanthera erecta*, *Cephalanthera longibracteata* і *Cephalanthera longifolia*), один вид мав редуковане листя (*Cephalanthera subaphylla*) і один вид був представлений альбіносною формою (*Cephalanthera 261alcate*) (як контрольна група, яка повністю перейшла до мікогетеротрофії). Рівень розвитку мікогетеротрофії у досліджених рослин встановлювали на підставі аналізу стабільних ізотопів в їх тканинах.

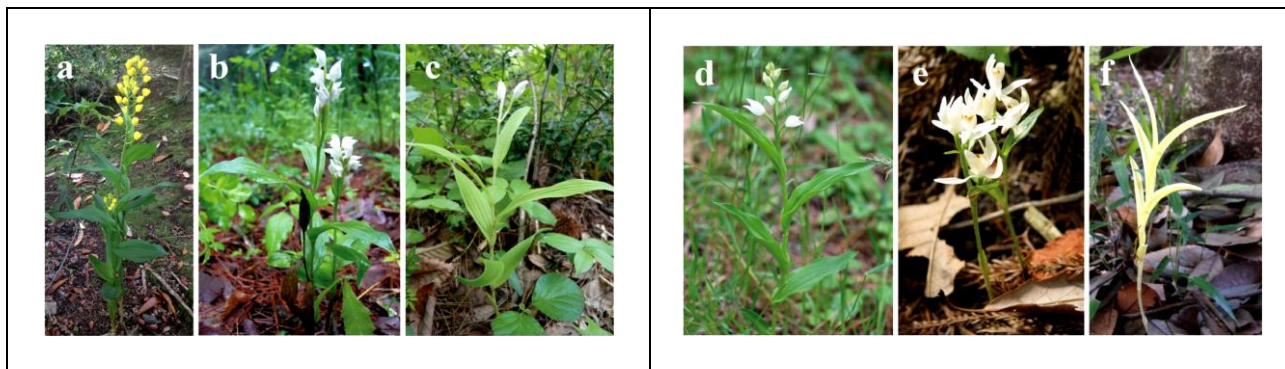


Рис. 58. Види рослин *Cephalanthera*, використані в даному дослідженні. Серед них, чотири види з нормально розвиненим листям: *C. 261alcate* (a), *C. erecta* (b), *C. longibracteata* (c) і *C. longifolia* (d), а також вид, з редукованим листям *C. subaphylla* і альбіносна лінія *C. 261alcate* (f) (за Sakamoto et al., 2016).

Проведені Sakamoto Y. з колегами (2016) дослідження показали, що всі види *Cephalanthera* були відносно збагачені важкими ізотопами вуглецю-13 (^{13}C) і азоту-15 (^{15}N) в порівнянні з аутотрофними рослинами, які їх оточують. Рослини *Cephalanthera subaphylla* були сильно збагачені важкими ізотопами ^{13}C і ^{15}N – на рівні, який відповідав рівню рослин-альбіносів. Види з листям нормального розміру були значно менше збагачені важкими ізотопами вуглецю-13 порівняно з рослинами *C. subaphylla* і альбіносами.

*NB! Показники збагачення важкими ізотопами вуглецю і азоту ($\epsilon^{13}\text{C}$ і $\epsilon^{15}\text{N}$) розраховували для кожної ділянки з використанням значень δ для видів *Cephalanthera* і контрольних рослин наступним чином: $\epsilon = \delta_s - \delta_{\text{REF}}$, де δ_s - значення показника накопичення важких ізотопів вуглецю $\delta^{13}\text{C}$ або азоту $\delta^{15}\text{N}$ для видів *Cephalanthera*, а δ_{REF} – значення накопичення важких ізотопів вуглецю або азоту для аутотрофних рослин з цієї ж ділянки.

Таким чином, отримані Sakamoto Y. з колегами (2016) дані свідчать про те, що рослини *C. subaphylla*, не зважаючи на наявність у них редукованого листя, є строго мікогетеротрофними, т.т. такими, що отримують більшу частину органічних речовин від мікоризних грибів. Тоді як види з листям нормального розміру, є частково мікогетеротрофними. В цілому, отримані дані свідчать про те, що в процесі еволюційного переходу до повної мікогетеротрофії, деякі рослини набувають здатності до суворой гетеротрофії до повної втрати ними листя (за Sakamoto et al., 2016).

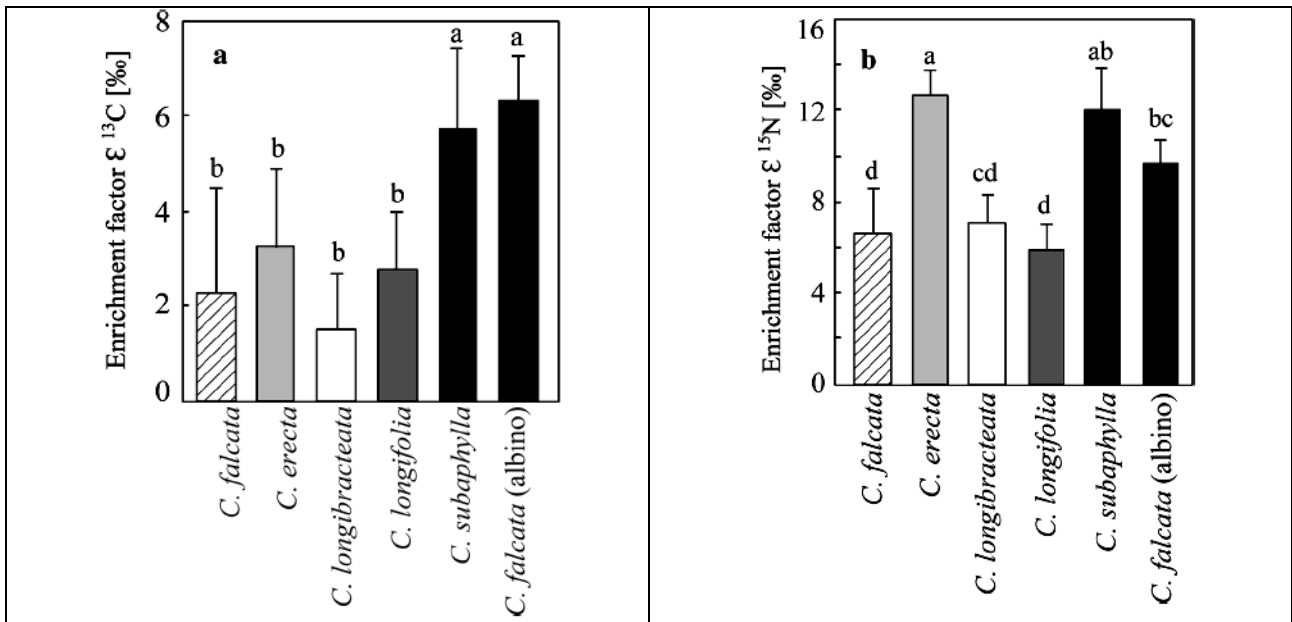


Рис. 59. Показники збагачення рослин важкими ізотопами вуглецю-13 і азоту-15 для різних видів *Cephalanthera*. Де: по осі ОУ для (а) - показник збагачення важкими ізотопами вуглецю-13, ‰ (Enrichment factor $\epsilon^{13}\text{C}$, ‰); для (b) – показник збагачення важкими ізотопами азоту-15, ‰, (Enrichment factor $\epsilon^{15}\text{N}$, ‰). Різними літерами вказані значні відмінності між популяціями (за Sakamoto et al., 2016).

Втрата пігментації тіла і зору у організмів, що мешкають в темряві

Втрата пігментації тіла і зору у організмів, що живуть в печерах в темряві.

Відомо, що проживання організмів в умовах відсутності світла (під землею, в печерах, в ґрунтах і т.н.) часто супроводжується втратою пігментації тіла і редукцією зору.



Рис. 62. Мешканець підземних вод Австралії - жук *Paroster macrosturtensis*. Зорова система сильно редукована. Забарвлення тіла біло-жовте (Tierney et al., 2018).



Рис. 63. Печерний комар-дзвінець (*Troglodadius hajdi*), Хорватія. Очі сильно редуковані. Забарвлення тіла палево-жовте (Andersen et al., 2016).



Рис. 60. Сліпак (*Spalax*). Живе в підземних норах. Очі сильно редуковані і приховані під шкірою (<https://www.google.com.ua/search?q>).



Рис. 61. Техаська печерна саламандра (*Eurycea rathbuni*). Очі сильно редуковані, затягнуті шкірою, забарвлення шкіри - біле (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Існує дві точки зору на причини виявленого феномена: а) накопичення у відповідних генах випадкових мутацій, які не відсіваються природним відбором в умовах відсутності освітленості середовища проживання; б) регуляторне відключення генів, які відповідають за забарвлення тіла і зір, в зв'язку з відсутністю необхідності в роботі даних генів в темряві.

У печерах в умовах темряви - шкіра тварин втрачає забарвлення і це пов'язано зі змінами в регуляторних ділянках ДНК. Stahl B.A. і Gross J.B. (2015) вивчали втрату пігментації у печерних риб (*Astyanax mexicanus*). З семи груп печерних риб - у чотирьох не були виявлені порушення в кодуєчому регіоні гена *Mclr*, який відповідає за пігментацію тіла (хоча при цьому у даних популяцій риб була виявлена редукція рівня пігментації - т.зв. коричневий фенотип). Ця робота вперше показала, що причиною редукції забарвлення у печерних риб можуть бути зміни (мутації) в регуляторних, а не в кодуєчих ділянках гена *Mclr*.

*NB! Серед печерних риб другий змінений фенотип - це альбіноси (тобто повна втрата пігментації). Ці два печерних фенотипи пов'язують з мутаціями в генах *Mclr* (коричневий фенотип) і *Oca2* (альбінізм) (Stahl & Gross, 2015).



Рис. 64. (A) – Забарвлення тіла у поверхневих риб (Surface fish) і (B-D) у трьох популяцій печерних риб (*Pachon cavefish*, *Tinaja cavefish*, *Chica cavefish*); (E) - рівень експресії гена *Mclr* у трьох популяцій печерних риб у порівнянні з його експресією у поверхневих риб. Де: по осі ОУ - рівень експресії гена в порівнянні з його експресією у поверхневих риб, (Normalized Fold Expression); по осі ОХ - популяція риб: Surface - поверхневі риби; Pachon, Tinaja, Chica - три популяції печерних риб; Adult Tissue - тканини дорослих риб. У печерних риб рівень експресії гена *Mclr* в кілька разів знижений, в порівнянні з поверхневими рибами, що може бути пов'язано з мутаціями в регуляторній ділянці гена (Stahl & Gross, 2015).

Редукція очей у печерних риб пов'язана зі зниженням активності транскрипційних факторів, які відповідають за формування зорової системи. Відомо, що печерні риби незалежно і градуально втрачають зір і пігментацію тіла. Meng F. з колегами (2013) вивчали еволюцію очей печерних риб *Sinocyclocheilus anophthalmus* в умовах проживання в постійній темряві.

Отримані дані свідчать про те, що в порівнянні з поверхневими рибами *Sinocyclocheilus angustiporus*, дорослі печерні риби мають зменшену кількість і довжину фоторецепторних клітин сітківки ока. Була також виявлена редукція роботи генів, задіяних в передачі світлового сигналу, і інших важливих генів сітківки.

У підсумку, авторами роботи був зроблений висновок про те, що редукція сітківки ока печерних риб відбулася внаслідок зниження активності транскрипційних факторів, які відповідають за формування зорової системи.

Крім того, було встановлено, що механізми редукції зору у сліпих печерних риб *Sinocyclocheilus* і у мексиканських сліпих печерних риб *Astyanax mexicanus* - різні. Це свідчить про незалежні механізми дегенерації сітківки очей у різних видів печерних риб (Meng et al., 2013).

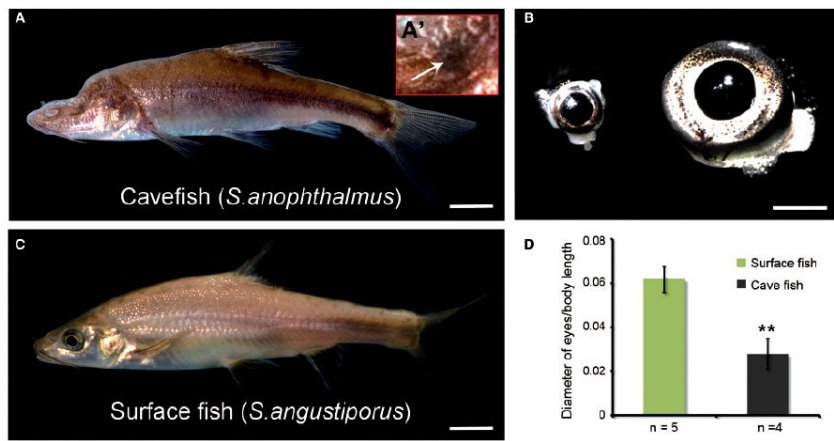


Рис. 65. Редукція очей у печерних риб *Sinocyclocheilus anophthalmus* (A) у порівнянні з приповерхневими рибами *Sinocyclocheilus angustiporus* (C). У печерних риб немає поверхневих очей, проте - є редуковані внутрішні очі; (D) - порівняння діаметра очей поверхневих і печерних риб, нормалізоване по відношенню до довжини тіла риб. 1 бар = 1 см (для A і C), 1 бар = 2 мм (для B) (Meng et al., 2013).

У прісноводних раків: і у печерних видів (з редукованою зоровою системою), і у поверхневих видів працюють всі гени, задіяні в передачі зорових сигналів, однак у печерних видів інтенсивність роботи цих генів є значно нижчою. У печерах в умовах відсутності світла у тварин неодноразово розвивалася редукція очей і зорової системи. Питання, зберігаються чи ні базові генетичні компоненти у сліпих видів без змін - залишається не вирішеним.

Прісноводні раки протягом своєї еволюції багаторазово переходили до життя в печерах. Таким чином, раки є хорошим модельним об'єктом для вивчення генетичних процесів, які лежать в основі редукції зору у печерних тварин.

Stern D.V. і Crandall K.A. (2018) використовували транскриптомні дані 14 видів печерних і поверхневих раків і ідентифікували експресію 17 генів, пов'язаних з фототрансдукцією зорового сигналу. В результаті проведених досліджень було встановлено, що і у печерних, і у поверхневих видів прісноводних раків експресується повний репертуар генів, задіяних в фототрансдукції зорових сигналів, проте - рівні експресії цих генів є значно нижчими у печерних видів.

Stern D.V. і Crandall K.A. (2018) було знайдено статистичне підтвердження подій епізодичної позитивної селекції, збільшення або зменшення сили відбору в печерних умовах в залежності від родини генів. Аналіз еволюції експресії генів свідчить про конвергентне і адаптивне зниження активності роботи цих генів під час подій редукції зорової системи.



Рис. 66. Рак *Cambarus tenebrosus* – факультативний мешканець печер (<https://www.google.com.ua/search?q=Cambarus+tenebrosus>).



Рис. 67. Печерний сліпий рак *Cambarus cryptodytes* (за <https://www.google.com.ua/search?q=Cambarus+cryptodytes>).

Отримані авторами роботи результати виявили комбінацію еволюційних процесів, що діють і на послідовності ДНК, і на рівні експресії генів, пов'язаних з роботою зорової системи, і лежать в основі редукції зору у мешканців печер (Stern & Crandall, 2018).

Надлишок світла також несприятливо впливає на організми, як і його нестача

Червоний колір листя захищає їх від надлишку світла і від обгризання рослиноїдними тваринами. Дослідження, проведені Karageorgou P. і Manetas Y. (2006), показали, що червоне забарвлення молодого листя дуба кermесового (*Quercus coccifera*) захищає їх від надлишку сонячного світла і від трав'яних тварин (Karageorgou & Manetas, 2006).



Рис. 68. Молоді листочки дуба кermесового (*Quercus coccifera* L.) – червоного кольору (<http://plantplaces.com/perl/>).



Рис. 69. Дуб кermесовий (*Quercus coccifera* L.) (https://en.wikipedia.org/wiki/Quercus_coccifera).

Молоде листя багатьох рослин тимчасово має червоне забарвлення через накопичення антоціанів. У зрілого листя - червонувате забарвлення зникає. Karageorgou P. і Manetas Y. (2006) на молодих і зрілих листках дуба кermесового (*Quercus coccifera* L.) перевірили дві гіпотези ролі антоціанів в молодому листі: 1) антоціани виконують сонцезахисну роль від попадання в клітини надмірної кількості видимого світла; 2) антоціани відлякують рослиноїдних тварин.

Проведені Karageorgou P. і Manetas Y. (2006) дослідження показали, що в білому світі ефективність фотосистеми II була трохи вищою в червоному листі, ніж у зеленому листі, що вказує на невелику фотозахисну роль антоціанів в польових умовах. Крім того, зелене листя сильніше обгризають рослиноїдні тварини в порівнянні з червоним листям. При цьому в червоному листі, яке містить антоціани, виявили підвищений вміст фенолів, що також може відлякувати рослиноїдних тварин.

Karageorgou P. і Manetas Y. (2006) прийшли до висновку, що для молодого листя з низьким вмістом хлорофілу - важливість фотозахисного антоціанового екрану є низькою, оскільки зелене світло, ослаблене антоціанами, є менш важливим для збудження молекул хлорофілу. Однак зниження відбивної здатності в зеленій спектральній смузі і супутнє вирівнювання відбивної здатності у всьому спектральному діапазоні 400-570 нм, мабуть, робить червоне листя менш помітним для деяких рослиноїдних комах. Крім того, зниження рівня обгризання червоного листя також може бути пов'язано з підвищеним вмістом в них фенолів (Karageorgou & Manetas, 2006).

Червоні пігменти в листі захищають рослини від надлишку сонячного світла

взимку. *Galax urceolata* - це вічнозелена рослина підліску, яке росте в горах Аппалачах. Листя *Galax urceolata* демонструють різку зміну кольору з зеленого на червоний в зимові місяці через синтез антоціанів в зовнішніх клітинах мезофілу. Hughes N.M. з колегами (2005) досліджували можливі функції такої сезонної зміни кольору листя.

Для перевірки гіпотези про те, що антоціани забезпечують екранування клітин від надлишку світла, Hughes N.M. з колегами (2005) вимірювали максимальну ефективність фотосистеми II (показник F_v/F_m) для червоного і зеленого листя при впливі на листя світла з різною довжиною хвилі. Щоб визначити, чи підвищують антоціани здатність рослин до поглинання вільних радикалів, антиоксидантну активність червоного і зеленого листя оцінювали з використанням альфа, альфа-дифеніл-бета-пікрилгідрозилового аналізу.

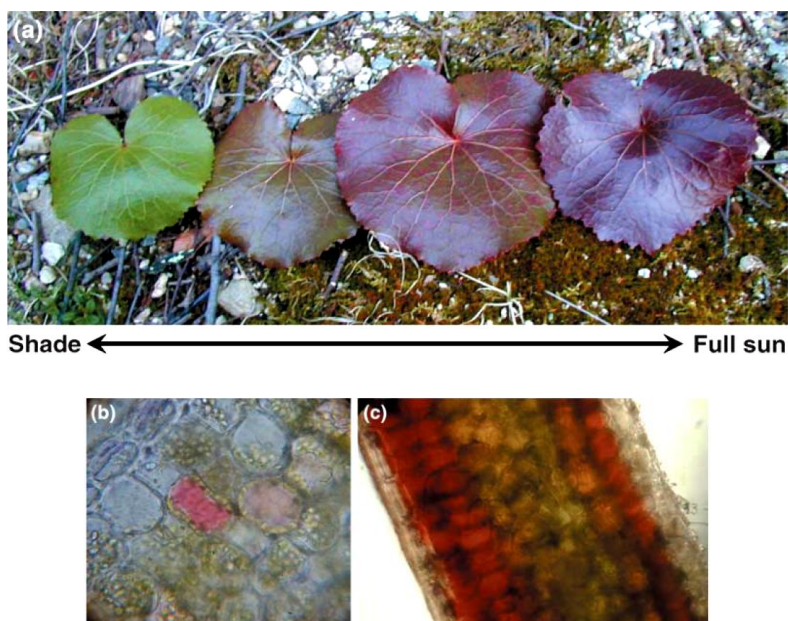
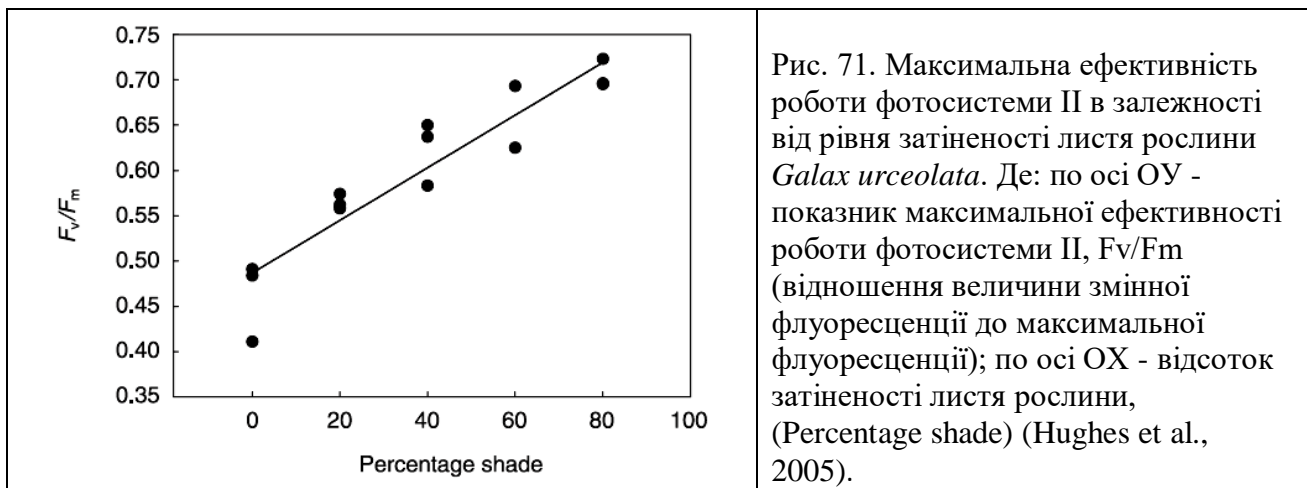


Рис. 70. (а) Червоне і зелене листя вічнозеленої рослини *Galax urceolata*. Листя, що росте на яскравому світлі - червоного кольору, тоді як листя, що росте в тіні - зеленого кольору; (В) - червоні антоціани накопичуються в вакуолях клітин листя; (С) - накопичення червоних антоціанів в клітинах мезофіла з обох сторін листа (Hughes et al., 2005).

Отримані Hughes N.M. з колегами (2005) результати показали, що зниження значень показника F_v/F_m при освітленні листя білим і зеленим світлом, було значно більшим для зеленого, ніж для червоного листя, але було порівнянним при опроміненні листя червоним світлом. Крім того, вміст антоціанів позитивно корелював з антиоксидантною активністю рослин.

Таким чином, дослідження, проведені Hughes N.M. з колегами (2005), показали, що червоні пігменти в листі взимку захищають рослини від надлишку сонячного світла і сприяють антиоксидантному захисту клітин (Hughes et al., 2005).

*NB! *Galax urceolata* - це вічнозелена рослина підліску, яке росте в горах Аппалачах. Взимку, при низьких температурах навколишнього середовища і яскравому освітленні (через опадання листя з навколишніх листопадних дерев), рослини *Galax urceolata* синтезують антоціани в зовнішньому шарі мезофільних клітин листя, що призводить до зміни забарвлення листя з зеленого на червоне. Листя, яке залишається затіненим - своє забарвлення не міняє. Навесні з потеплінням і поверненням листяного покриву на оточуючих деревах - антоціани зникають. При цьому листя, які змінювали своє забарвлення взимку, здатні функціонувати на деревах ще три вегетативних сезони.



*NB! Дані для графіка отримані для листа послідовно затінених польових рослин *Galax urceolata* 15 грудня (мінімальна температура -4°C , максимальна температура 0°C). Точки на графіку представляють три випадково обраних листа для кожного рівня затінення листа (Hughes et al., 2005).

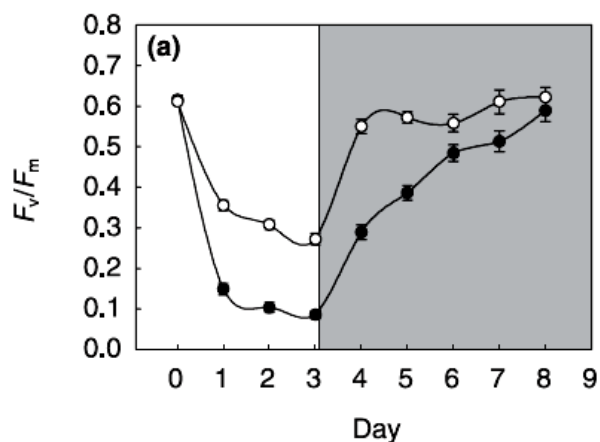


Рис. 72. Вплив стресової дії яскравим білим світлом на ефективність фотосинтезу у червоного і зеленого листа рослин *Galax urceolata*. Де: по осі ОУ - показник максимальної ефективності роботи фотосистеми II, F_v/F_m (відношення величини змінної флуоресценції до максимальної флуоресценції); по осі ОХ - дні після стресового світлового впливу на рослини (Day); ● – зелене листя (чорні кола на графіку); ○ – червоне листя (білі кола на графіку) (Hughes et al., 2005).

*NB! Після впливу яскравим білим світлом ефективність роботи фотосистеми II знизилася і для зеленого листа, і для червоного листа. Однак, рівень цього зниження був більш значним для зеленого листа в порівнянні з червоним листям. Крім того, червоне листя повернулося до вихідного рівня ефективності роботи фотосистеми II вже на 4 добу відновного періоду, тоді як зелене листя - тільки на 8 добу після світлового стресу.

11.2. Практична робота

Завдання 1. Червона флуоресценція очей придонних хижих риб підвищує ефективність їх полювання і є природною адаптацією до нестачі освітленості на глибинах. У водному середовищі довгі світлові промені швидко абсорбуються, тому поява у глибоководних організмів здатності до флуоресценції, тобто до поглинання більш коротких синьо-блакитних променів і до перевипромінювання більш довгих червоних променів - забезпечує їм кращу адаптацію до глибинних умов проживання.

Очі деяких дрібних донних хижих риб здатні випромінювати червону флуоресценцію у відповідь на присутність в товщі води блакитних променів спектру. При цьому інтенсивність цієї флуоресценції збільшується з глибиною, що викликало припущення про її

можливу роль як джерела освітлення для виявлення хижими рибами потенційних жертв в блакитному світлі в глибинах океану.

Narant U.K. і Michiels N.K. (2017) вивчали, впливає чи ні можливість випромінювати червону флуоресценцію на успіх полювання на рачків у хижих риб *Tripterygion delaisi*. Хижим риbam *Tripterygion delaisi* пропонувалося зловити по 10 рачків на одну рибу в умовах вузького блакитно-зеленого спектра освітлення і отримані дані порівнювали з ефективністю їх полювання в умовах освітлення широким спектром променів.



Рис. 1. Риба тріплфін (*Tripterygion delaisi*) (за <https://www.google.com.ua/search?q=Tripterygion+delaisi>).

Проведені дослідження показали, що риби значно ефективніше полювали на рачків в умовах дії вузького блакитно-зеленого спектра освітлення, який дозволяє очам риб перевипромінювати світло у вигляді червоного флуоресцентного випромінювання, в порівнянні з полюванням в умовах широкого світлового спектру.

На великій глибині, де багато блакитних і мало червоних променів - риби, які мають червону флуоресценцію очей - полюють на рачків більш успішно, ніж риби, що не мають такої адаптації. Вважають, що червоне світло відбивається від очей здобичі, що полегшує її виявлення хижакom. Таким чином, на великих глибинах з поганою освітленістю здатність тварин до флуоресценції забезпечує освітлення акваторії і дна, що сприяє більш ефективному пошуку здобичи.

Отримані результати підтвердили припущення про те, що червона флуоресценція очей хижих риб може бути адаптацією до сильно затінених глибинних середовищ проживання, в яких присутні тільки блакитно-зелені промені спектру (Narant & Michiels, 2017).

Інтенсивність флуоресценції очей *Tripterygion delaisi* може змінюватися за секунди. Дослідження, проведені Wucherer M.F. і Michiels N.K. (2014), показали, що флуоресцентні структури в очах риб можуть бути розкриті або покриті пігментованими відростками підстелюючого шару дендритних меланофорів, які і регулюють емісію флуоресценції.

*NB! Narant U.K. з колегами (2016) було встановлено, що з глибиною знижується яскравість природного освітлення і риби підвищують яскравість своєї червоної флуоресценції. Зміна яскравості флуоресценції шкіри досягається рибами за рахунок агрегації або дисперсії флуоресцентного пігменту в клітинах шкіри (Narant et al., 2016).

Результати досліджень, проведених Narant U.K. з колегами (2016) наведені на рисунку 2.

1) Що таке флуоресценція? _____

2) Які функції виконує флуоресценція у глибоководних мешканців? _____

3) Використовуючи дані рисунка 2, вкажіть середні значення інтенсивності флуоресценції райдужної оболонки очей риб *Tripterygion delaisi* при їх перебуванні на глибині 5 м _____ і при їх перебуванні на глибині 20 м _____. Поясніть виявлені відмінності в інтенсивності флуоресценції при різних глибинах проживання риб _____

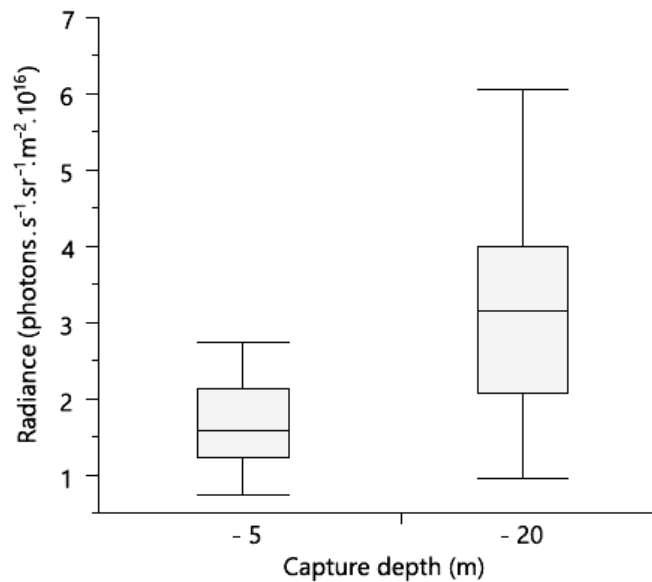


Рис. 2. Яскравість флуоресценції райдужної оболонки очей риб *Tripterygion delaisi* на мілководді (-5 м) і на великих глибинах (-20 м). Де: по осі ОХ - глибина проживання риб *Tripterygion delaisi*, (Capture depth, m); по осі ОУ - інтенсивність флуоресценції, кількість фотонів, що випромінюються за 1 сек з поверхні $1\text{ м}^2 \cdot 10^{16}$, (Radaince, $\text{photons} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{sr}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 10^{16}$) (Harant et al., 2016).

4) За допомогою яких механізмів риби спроможні регулювати інтенсивність своєї флуоресценції в очах і в шкірі? _____

Завдання 2. Здатність динофлагелят фітопланктону до самозахисту за допомогою біоломінесценції. Lindstrom J. з колегами (2017) вивчали здатність фітопланктону захищати себе від поїдання ракоподібними. Проведені дослідження показали, що фітопланктон, який складається з динофлагелят, здатний захищати себе від поїдання рачками копеподами за допомогою біоломінесцентних спалахів і токсинів.

У водоймах без рачків копепод - захисні стратегії динофлагелят слабшають. При внесенні в водойму хімічного сигналу присутності копепод (т.зв. копеподамідів) - здатність динофлагелят до самозахисту за допомогою токсинів і біоломінесценції різко зростає (Lindstrom et al., 2017).

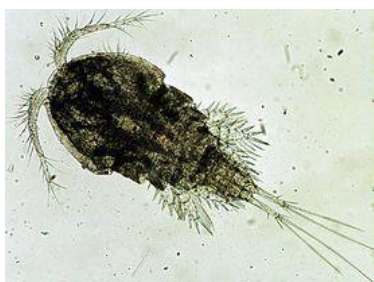


Рис. 3. Циклоп (*Cyclops*) - представник веслоногих ракоподібних або копепод (*Copepoda*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 4. Динофлагелят *Lingulodinium polyedra* у видимому світлі (за https://en.wikipedia.org/wiki/Lingulodinium_polyedra).

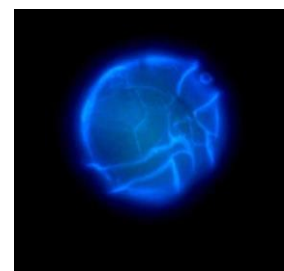


Рис. 5. Біоломінесценція динофлагелята *Alexandrium tamarense* (http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2013/hoessel_lind/facts.htm).

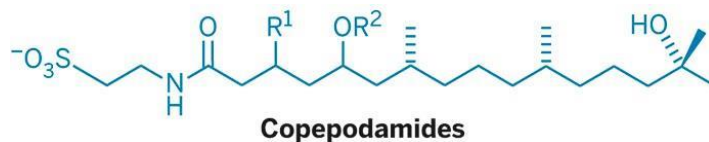


Рис. 6. Вважають, що копеподаміди виділяються рачками копеподами для полегшення перетравлення ними фітопланктону. Поява в воді копеподамідів є сигналом для динофлагелят фітопланктону посилити біоломінесценцію і почати синтез токсинів, отруйних не тільки для рачків, а й для риб і людини (за <https://www.google.com.ua/search?q=copepodamides>).

Зокрема, Lindstrom J. з колегами (2017) було встановлено, що динофлагеляти *Lingulodinium polyedra* і *Alexandrium tamarense*, підтримувані в культурі протягом 14 і 9 років, відповідно, були здатні посилити рівень своєї біоломінесценції у відповідь на появу у воді копеподамідів.

Отримані Lindstrom J. з колегами (2017) результати є першим доказом змін у фізіології біоломінесценції як реакції на хімічні сигнали від природних ворогів і підкреслює важливість біоломінесценції як захисної стратегії фітопланктону проти поїдання рачками (Lindstrom et al., 2017).

Результати досліджень, проведених Lindstrom J. з колегами (2017), наведені на рисунках 7-8.

- 1) Що таке біоломінесценція? _____
- _____
- _____
- 2) Який механізм появи світла в клітинах організмів? _____
- _____
- _____
- 3) Для чого організми використовують біоломінесценцію? _____
- _____
- _____
- 4) Для чого використовують біоломінесценцію динофлагеляти фітопланктону? _____
- _____
- _____

<p style="text-align: center;">Rис. А.</p>	<p style="text-align: center;">Рис. Б. Структурна формула люциферина динофлагелят - тетрапірола (за https://ru.wikipedia.org/wiki/).</p>
--	---

Рис. 7. А - Біоломінесценція динофлагелят *Lingulodinium polyedra* і *Alexandrium tamarense*, які формують фітопланктон в контрольних умовах (Control) і після додавання в воду 1 нМ копеподамідів (Lindstrom et al. 2017). Рис. Б. Структурна формула люциферина динофлагелят - тетрапірола (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

5) Що таке копеподаміди? _____

6) Використовуючи дані рисунка 8, вкажіть інтенсивність білюмінесценції динофлагелята *Lingulodinium polyedra* в контрольних умовах _____ і після додавання в воду копеподамідів в концентрації 1 нМ _____ і 10 нМ _____.

7) Чому після додавання в воду копеподамідів - інтенсивність білюмінесценції динофлагелят зросла? _____

8) Які ще стратегії самозахисту від поїдання рачками копеподами використовують динофлагеляти фітопланктону? _____

9) Порівняйте інтенсивність білюмінесценції динофлагелят в контрольних умовах: для *Lingulodinium polyedra* _____ і для *Alexandrium tamarense* _____.

10) Як Ви вважаєте, з чим можуть бути пов'язані виявлені відмінності? _____

10) Вкажіть, у скільки разів зросла інтенсивність білюмінесценції динофлагелят після впливу 10 нМ копеподамідами: для *Lingulodinium polyedra* _____ і для *Alexandrium tamarense* _____.

11) Про що може свідчити однаковий рівень інтенсифікації білюмінесценції у різних видів динофлагелят при впливі копеподамідами? _____

12) Як Ви вважаєте, який основний механізм самозахисту від поїдання рачками копеподами використовують динофлагеляти *Alexandrium tamarense*? _____

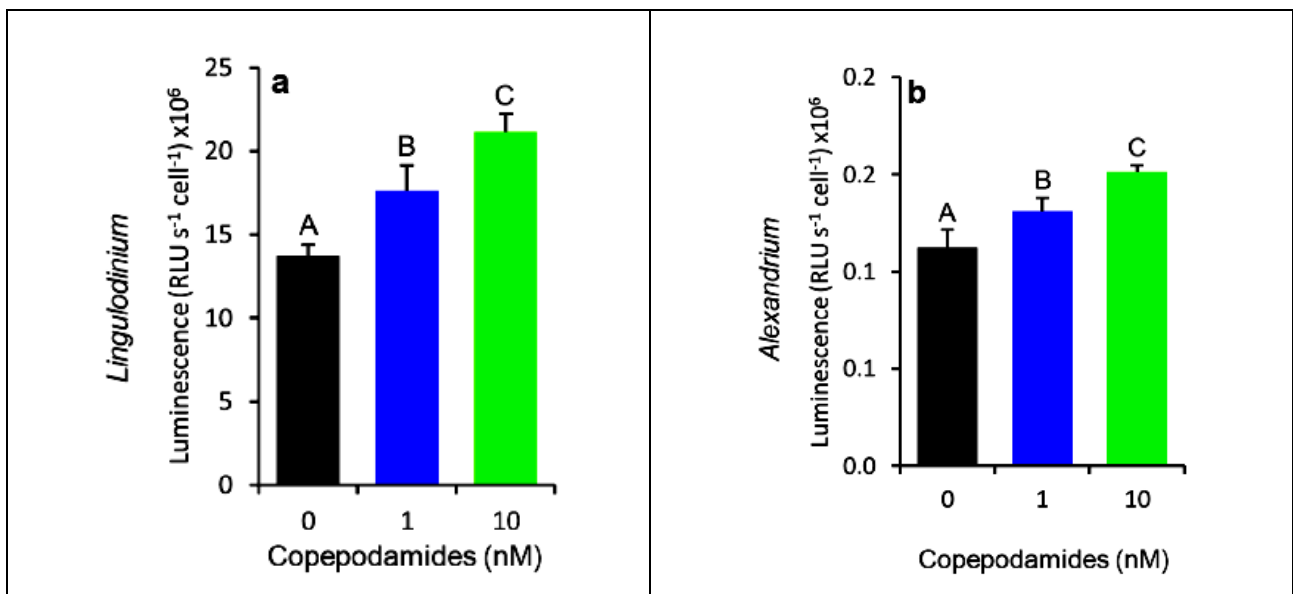


Рис. 8. Інтенсивність білюмінесценції динофлагелят *Lingulodinium polyedra* (a) і *Alexandrium tamarense* (b) в контрольних умовах і після внесення в воду копеподамідів. Де: по осі ОУ - інтенсивність білюмінесценції, (Luminescence, RLU·s⁻¹·cell⁻¹·x10⁶); по осі ОХ – умови експерименту: 0 - контроль; 1, 10 - додавання в воду копеподамідів в концентраціях 1 нМ і 10 нМ (Lindstrom et al., 2017).

Контрольні питання:

1. Електромагнітне випромінювання Сонця, яке сягає поверхні Землі.
2. Фотоморфогенез у різних груп організмів.
3. Фототропізми у різних груп організмів. Біологічне значення і механізми процесу.

4. Маскувальне забарвлення. Біологічне значення і механізми формування.
5. Біоломінесценція. Біологічне значення. Механізми самосвітіння організмів.
6. Флюоресценція: механізми і біологічне значення явища.
7. Адаптації організмів до нестачі світла. Міксотрофія. Мікогетеротрофія.
8. Тепловий фотосинтез.
9. Адаптації мешканців печер і ґрунтів до відсутності світла.
10. Адаптації організмів до надлишкового надходження світлових променів.

Література:

- Behrendt L., Larkum A.W., Norman A., Qvortrup K., Chen M., Ralph P., Sorensen S.J., Trampe E., Kühl M. Endolithic chlorophyll d-containing phototrophs // *ISME J.* – 2011. – Vol. 5(6). – P. 1072-1076. doi: 10.1038/ismej.2010.195.
- Behrendt L., Larkum A.W., Trampe E., Norman A., Sorensen S.J., Kühl M. Microbial diversity of biofilm communities in microniches associated with the didemnid ascidian *Lissoclinum patella* // *ISME J.* – 2012. – Vol. 6(6). – P. 1222 - 1237. doi: 10.1038/ismej.2011.181.
- Behrendt L., Schrammeyer V., Qvortrup K., Lundin L., Sorensen S.J., Larkum A.W., Kühl M. Biofilm growth and near-infrared radiation-driven photosynthesis of the chlorophyll d-containing cyanobacterium *Acaryochloris marina* // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2012. – Vol. 78(11). – P. 3896 - 3904. doi: 10.1128/AEM.00397-12.
- Bertolesi G.E., Hehr C.L., Munn H., McFarlane S. Two light-activated neuroendocrine circuits arising in the eye trigger physiological and morphological pigmentation // *Pigment Cell Melanoma Res.* – 2016. – Vol. 29(6). – P. 688 - 701. doi: 10.1111/pcmr.12531.
- Birk M.H., Blicher M.E., Garm A. Deep-sea starfish from the Arctic have well-developed eyes in the dark // *Proc. Biol. Sci.* – 2018. – Vol. 285(1872). pii: 20172743. doi: 10.1098/rspb.2017.2743.
- Brugler M.R., Aguado M.T., Tessler M., Siddall M.E. The transcriptome of the Bermuda fireworm *Odontosyllis enopla* (Annelida: Syllidae): A unique luciferase gene family and putative epitoky-related genes // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13(8):e0200944. doi: 10.1371/journal.pone.0200944.
- Camargo C.R., Colares E., Castrucci A.M. Seasonal pelage color change: news based on a South American rodent // *An. Acad. Bras. Cienc.* – 2006. – Vol. 78(1). – P. 77 - 86.
- Chen M., Blankenship R.E. Expanding the solar spectrum used by photosynthesis // *Trends Plant Science.* – 2011. – Vol. 16, No. 8. – P. 427 - 431.
- Chen S.C., Xiao C., Troje N.F., Robertson R.M., Hawryshyn C.W. Functional characterisation of the chromatically antagonistic photosensitive mechanism of erythrophores in the tilapia *Oreochromis niloticus* // *J. Exp. Biol.* – 2015. – Vol. 218(Pt 5). – P. 748 - 756. doi: 10.1242/jeb.106831.
- Daniels E.V., Murad R., Mortazavi A., Reed R.D. Extensive transcriptional response associated with seasonal plasticity of butterfly wing patterns // *Mol. Ecol.* – 2014. – Vol. 23(24). – P. 6123 - 6134. doi: 10.1111/mec.12988.
- Duarte R.C., Stevens M., Flores A.A. Shape, colour plasticity, and habitat use indicate morph-specific camouflage strategies in a marine shrimp // *BMC Evol. Biol.* – 2016. – Vol. 16(1):218.
- Ferreira M.S., Alves P.C., Callahan C.M., Marques J.P., Mills L.S., Good J.M., Melo-Ferreira J. The transcriptional landscape of seasonal coat colour moult in the snowshoe hare // *Mol. Ecol.* – 2017. – Vol. 26(16). – P. 4173 - 4185. doi: 10.1111/mec.14177.
- Field S.F., Bulina M.Y., Kelmanson I.V., Bielawski J.P., Matz M.V. Adaptive evolution of multicolored fluorescent proteins in reef-building corals // *J. Mol. Evol.* – 2006. – Vol. 62(3). – P. 332 - 339.
- Gruber D.F., Gaffney J.P., Mehr S., DeSalle R., Sparks J.S., Platasa J., Pieribone V.A. Adaptive Evolution of Eel Fluorescent Proteins from Fatty Acid Binding Proteins Produces Bright Fluorescence in the Marine Environment // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10(11):e0140972. doi: 10.1371/journal.pone.0140972.
- Harant U.K., Michiels N.K. Fish with red fluorescent eyes forage more efficiently under dim, blue-green light conditions // *BMC Ecol.* – 2017. – Vol. 17(1):18. doi: 10.1186/s12898-017-0127-y.
- Harant U.K., Michiels N.K., Anthes N., Meadows M.G. The consistent difference in red fluorescence in fishes across a 15 m depth gradient is triggered by ambient brightness, not by ambient spectrum // *BMC Res. Notes.* – 2016. – Vol. 9:107. doi: 10.1186/s13104-016-1911-z.
- Hendry T.A., Freed L.L., Fader D., Fenolio D., Sutton T.T., Lopez J.V. Ongoing Transposon-Mediated Genome Reduction in the Luminous Bacterial Symbionts of Deep-Sea Ceratioid Anglerfishes // *MBio.* – 2018. – Vol. 9(3). pii: e01033-18. doi: 10.1128/mBio.01033-18.
- Hughes N.M., Neufeld H.S., Burkey K.O. Functional role of anthocyanins in high-light winter leaves of the evergreen herb *Galax urceolata* // *New Phytol.* – 2005. – Vol. 168(3). – P. 575 - 587.

- Jones M.R., Mills L.S., Alves P.C., Callahan C.M., Alves J.M., et al. Adaptive introgression underlies polymorphic seasonal camouflage in snowshoe hares // *Science*. – 2018. – Vol. 360(6395). – P. 1355 - 1358. doi: 10.1126/science.aar5273.
- Kaniewska P., Campbell P.R., Fine M., Hoegh-Guldberg O. Phototropic growth in a reef flat acroporid branching coral species // *J. Exp. Biol.* – 2009. – Vol. 212(Pt 5). – P. 662 - 667. doi: 10.1242/jeb.022624.
- Karageorgou P., Manetas Y. The importance of being red when young: anthocyanins and the protection of young leaves of *Quercus coccifera* from insect herbivory and excess light // *Tree Physiol.* – 2006. – Vol. 26(5). – P. 613 - 621.
- Kelmanson I.V., Matz M.V. Molecular basis and evolutionary origins of color diversity in great star coral *Montastraea cavernosa* (*Scleractinia: Faviida*) // *Mol. Biol. Evol.* – 2003. – Vol. 20(7). – P. 1125 - 1133.
- Lallemand F., Martin-Magniette M.L., Gilard F., Gakiere B., Launay-Avon A., Delannoy E., Selosse M.A. In situ transcriptomic and metabolomic study of the loss of photosynthesis in the leaves of mixotrophic plants exploiting fungi // *Plant J.* – 2019. doi: 10.1111/tpj.14276.
- Lallemand F., Puttsepp U., Lang M., Luud A., Courty P.E., Palancade C., Selosse M.A. Mixotrophy in *Pyroleae* (*Ericaceae*) from Estonian boreal forests does not vary with light or tissue age // *Ann. Bot.* – 2017. – Vol. 120(3). – P. 361 - 371. doi: 10.1093/aob/mcx054.
- Larkum A.W., Chen M., Li Y., Schliep M., Trampe E., West J., Salih A., Kühl M. A Novel Epiphytic Chlorophyll d-containing Cyanobacterium Isolated from a Mangrove-associated Red Alga // *J. Phycol.* – 2012. – Vol. 48(6). – P. 1320 - 1327. doi: 10.1111/j.1529-8817.2012.01233.x.
- Leavell B.C., Rubin J.J., McClure C.J.W., Miner K.A., Branham M.A., Barber J.R. Fireflies thwart bat attack with multisensory warnings // *Sci. Adv.* – 2018. – Vol. 4(8):eat6601. doi: 10.1126/sciadv.aat6601.
- Lin C. Blue Light Receptors and Signal Transduction // *Plant Cell.* – 2002. – Vol. 14. – P. 207 – 225. doi: 10.1105/tpc.000646.
- Lindstrom J., Grebner W., Rigby K., Selander E. Effects of predator lipids on dinoflagellate defence mechanisms – increased bioluminescence capacity // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7(1):13104. doi: 10.1038/s41598-017-13293-4.
- Martin-Rojas V., Greiner H., Wagner T., Fukshansky L., Cerda-Olmedo E. Specific tropism caused by ultraviolet C radiation in *Phycomyces* // *Planta.* – 1995. – Vol. 197(1). – P. 63 - 68.
- Meng F., Braasch I., Phillips J.B., Lin X., Titus T., Zhang C., Postlethwait J.H. Evolution of the eye transcriptome under constant darkness in *Sinocyclocheilus cavefish* // *Mol. Biol. Evol.* – 2013. – Vol. 30(7). – P. 1527 - 1543. doi: 10.1093/molbev/mst079.
- Mills L.S., Bragina E.V., Kumar A.V., Zimova M., Lafferty D.J.R., et al. Winter color polymorphisms identify global hot spots for evolutionary rescue from climate change // *Science*. – 2018. – Vol. 359(6379). – P. 1033 - 1036. doi: 10.1126/science.aan8097.
- Pedmale U.V., Celaya R.B., Liscum E. Phototropism: Mechanism and Outcomes // *Arabidopsis Book*. – 2010. – Vol. 8: e0125. Published online 2010 Aug 31. doi: 10.1199/tab.0125
- Porter W.P., Norris K.S. Lizard reflectivity change and its effect on light transmission through body wall // *Science*. – 1969. – Vol. 163(3866). – P. 482 - 484.
- Sakamoto Y., Ogura-Tsujita Y., Ito K., Suetsugu K., Yokoyama J., Yamazaki J., Yukawa T., Maki M. The tiny-leaved orchid *Cephalanthera subaphylla* obtains most of its carbon via mycoheterotrophy // *J. Plant Res.* – 2016. – Vol. 129(6). – P. 1013 - 1020.
- Schweiger J.M., Kemnade C., Bidartondo M.I., Gebauer G. Light limitation and partial mycoheterotrophy in rhizoctonia-associated orchids // *Oecologia*. – 2019. doi:10.1007/s00442-019-04340-0.
- Shao C., Bao B., Xie Z., Chen X., Li B., et al. The genome and transcriptome of Japanese flounder provide insights into flatfish asymmetry // *Nat. Genet.* – 2017. – Vol. 49(1). – P. 119 - 124. doi: 10.1038/ng.3732.
- Sköld H.N., Aspögren S., Cheney K.L., Wallin M. Fish Chromatophores - From Molecular Motors to Animal Behavior // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* – 2016. – Vol. 321. – P. 171 - 219. doi: 10.1016/bs.ircmb.2015.09.005.
- Smith K.R., Cadena V., Endler J.A., Kearney M.R., Porter W.P., Stuart-Fox D. Color Change for Thermoregulation versus Camouflage in Free-Ranging Lizards // *Am. Nat.* – 2016. – Vol. 188(6). – P. 668 - 678.
- Sparks J.S., Schelly R.C., Smith W.L., Davis M.P., Tchernov D., Pieribone V.A., Gruber D.F. The covert world of fish biofluorescence: a phylogenetically widespread and phenotypically variable phenomenon // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9(1):e83259. doi: 10.1371/journal.pone.0083259.

- Stahl B.A., Gross J.B. Alterations in Mc1r gene expression are associated with regressive pigmentation in *Astyanax* cavefish // *Dev. Genes Evol.* – 2015. – Vol. 225(6). – P. 367 - 375. doi: 10.1007/s00427-015-0517-0.
- Stern D.B., Crandall K.A. Phototransduction Gene Expression and Evolution in Cave and Surface Crayfishes // *Integr. Comp. Biol.* – 2018. – Vol. 58(3). – P. 398 - 410. doi: 10.1093/icb/icy029.
- Tesitel J., Tesitelova T., Minasiewicz J., Selosse M.A. Mixotrophy in Land Plants: Why To Stay Green? // *Trends Plant Sci.* – 2018. – Vol. 23(8). – P. 656 - 659. doi: 10.1016/j.tplants.2018.05.010.
- Tessler M., Gaffney J.P., Crawford J.M., Trautman E., Gujarati N.A, Alatalo P., Pieribone V.A., Gruber D.F. Luciferin production and luciferase transcription in the bioluminescent copepod *Metridia lucens* // *Peer J.* – 2018. – Vol. 6:e5506. doi: 10.7717/peerj.5506.
- Wucherer M.F., Michiels N.K. A fluorescent chromatophore changes the level of fluorescence in a reef fish // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7(6):e37913. doi: 10.1371/journal.pone.0037913.
- Wucherer M.F., Michiels N.K. Regulation of red fluorescent light emission in a cryptic marine fish // *Front Zool.* – 2014. – Vol. 11(1):1. doi: 10.1186/1742-9994-11-1.
- Yiu V., Jeng M.L. *Oculogryphus chenghoiyanae* sp. n. (Coleoptera, Lampyridae): a new otoretine firefly from Hong Kong with descriptions of its bioluminescent behavior and ultraviolet-induced fluorescence in females // *Zookeys.* – 2018. – Vol. 739. – P. 65 - 78. doi: 10.3897/zookeys.739.21502.
- Yokawa K., Kagenishi T., Baluska F. Root photomorphogenesis in laboratory-maintained *Arabidopsis* seedlings // *Trends Plant Sci.* – 2013. – Vol. 18(3). – P. 117 - 119. doi: 10.1016/j.tplants.2013.01.002.
- Zimova M., Mills L.S., Lukacs P.M., Mitchell M.S. Snowshoe hares display limited phenotypic plasticity to mismatch in seasonal camouflage // *Proc. Biol. Sci.* – 2014. – Vol. 281(1782):20140029. doi: 10.1098/rspb.2014.0029.

Тема 12. Світло і біологічний годинник організмів

12.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

У піщаних змій Сахари *Cerastes vipera* стратегія полювання на здобич (засада або переслідування) залежить від пори року і визначається довжиною світлового дня.

Більшість змій використовують тільки одну із стратегій полювання: або засідку, або переслідування жертви. Активне полювання дозволяє добути більше їжі, проте - вимагає більших витрат енергії і становить ризик самому бути з'їденим. Особливо ця проблема є важливою для дрібних хижаків.

На відміну від більшості гадюк, які вичікують здобич в засідці, маленькі гадюки Сахари *Cerastes vipera* використовують обидві моделі полювання. *Cerastes vipera* впадають в сплячку в жовтні і прокидаються в квітні. І до впадіння в сплячку вони повинні запасти поживні речовини для благополучного переживання періоду відсутності харчування. Horesh S.J. з колегами (2017) було встановлено, що стратегія полювання гадюк *Cerastes vipera* в різні пори року визначається змінами в довжині світлового дня. Зокрема, кількість гадюк, що активно полювали, зросла з 5% в квітні до 30% в жовтні.

Таким чином, вибір стратегії полювання у гадюк визначається довжиною світлового дня і є адаптивним при підготовці змій до сезонної сплячки (Horesh et al., 2017).



Рис. 1. Гадюка Авіцени (*Cerastes vipera*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>). При проведенні стратегії полювання в засідці - гадюка закопується в пісок.



Рис. 2. Гадюка *Cerastes vipera* повністю закопалася в пісок навпроти нори *Acanthodactylus* sp.; над поверхнею піску видно тільки очі змії.

Сезонність розмноження риб визначається довжиною світлового дня.

Молекулярні дані, отримані Tian F. з колегами (2019), свідчать про те, що сезонність розмноження Тибетських високогірних риб *Gymnocypris przewalskii* визначається довжиною світлового дня: збільшення тривалості світлового дня сприяло вступу риб в репродуктивний цикл (Tian et al., 2019).

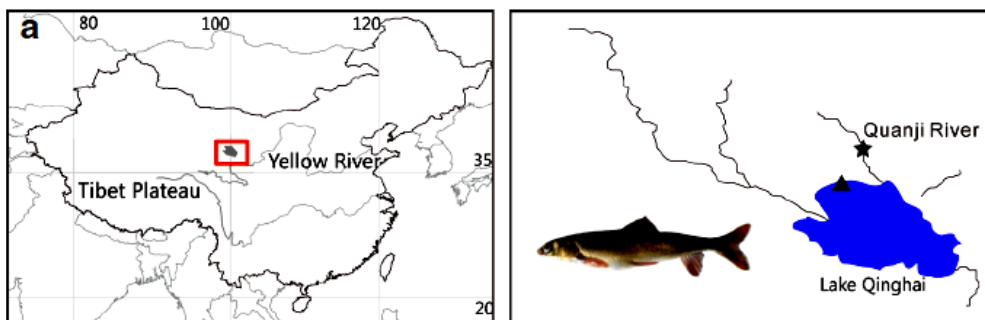


Рис. 3. Карта місць проживання Тибетських високогірних риб *Gymnocypris przewalskii* (Tian et al., 2019).

Горохова попелиця *Acyrtosiphon pisum* змінює тип свого розмноження в залежності від сезонної зміни довжини світлового дня. Горохова попелиця (*Acyrtosiphon pisum*) годується на рослинах родини бобових (*Fabaceae*). З яєць, що перезимували в землі, навесні виводяться німфи. Після чотирьох линьок комахи досягають статевої зрілості і приступають до партеногенезу. Кожна самка протягом життя народжує близько 100 дочок, які також розмножуються партеногенетично. Коли колонія стає перенаселеною і якість їжі знижується, німфи розвиваються в крилатих імаго і перелітають на інші рослини. Восени народжуються самці, після спарювання з якими самки відкладають яйця (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 4. Горохова попелиця *Acyrtosiphon pisum* (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Дослідження, проведені Le Trionnaire G. з колегами (2009), показали, що попелиця здатна сприймати зміни довжини світлового дня і саме це сприяє переходу попелиць від партеногенетичного живонародження навесні і влітку до статевого розмноження восени. При цьому фотоперіодичний сигнал передається від голови попелиці до її репродуктивних органів і змінює долю майбутніх ооцитів від мітотичного диплоїдного ембріогенезу до гаплоїдного утворення гамет (Le Trionnaire et al., 2009).

Сезонне підстроювання роботи організму хребетних тварин забезпечується оборотним метилуванням ДНК. У хребетних тварин, які сезонно розмножуються, зміни в тривалості світлового дня є сигналом для початку розмноження. При цьому світлові сигнали впливають на цикли розмноження тварин через гормонозалежні механізми щитовидної залози. Взимку, короткий світловий день пригнічує репродуктивну функцію організмів. Як це відбувається?

Stevenson T.J. і Prendergast B.J. (2013) було встановлено, що в клітинах гіпоталамуса хом'ячка короткий світловий день і зимовий рівень синтезу мелатоніну інгібують роботу гену метилтрансферази ДНК. Ця метилтрансфераза здійснює метилування ДНК і, таким чином, регулює активність роботи генів.

За умови короткого світлового дня відсутність синтезу метилтрансферази ДНК - призводить до зниження рівня метилування ДНК різних генів і, зокрема, промотора гена *dio3*, що сприяє активації цього гену. А робота цього гену викликає регресію гонад (зменшення їх розмірів і активності).

Навесні зростання тривалості світлового дня відновлює роботу гена метилтрансферази ДНК, що сприяє метилуванню промотора гена *dio3* і призводить до інактивації цього гену. А припинення роботи гену *dio3* – забезпечує ріст і активацію гонад хом'ячків. Таким чином, Stevenson T.J. і Prendergast B.J. (2013) було виявлено, що в клітинах мозку зворотне метилування гену *dio3*, яке залежить від довжини світлового дня, сприяє сезонному ритму розмноження хребетних ссавців (Stevenson & Prendergast, 2013).

Самки ос *Nasonia vitripennis* сприймають осінню зміну довжини світлового дня і за допомогою механізму метилування ДНК передають інформацію своїм нащадкам про те, що настала осінь і личинки повинні перейти до стану діапаузи, а не завершувати свій розвиток (т.зв. трансгенеративна передача інформації). Багато організмів відстежують річну зміну тривалості дня і використовують цю інформацію для визначення часу адаптації організму до сезонних змін клімату. Однак молекулярні механізми, які лежать в основі фотоперіодичної синхронізації процесів в організмі, в основному невідомі.

Оси *Nasonia vitripennis* виявляють сильну фотоперіодичну відповідь: короткі осінні дні, на яких експонувалися самки, призводять до затримки розвитку (до діапаузи) у їх потомства, що забезпечує зимове виживання личинок. Як самка *Nasonia vitripennis* контролює траєкторію розвитку свого потомства, не відомо.



Рис. 5. Оса *Nasonia vitripennis* (за <https://www.google.com.ua/search?q=Nasonia+vitripennis>).

Pegoraro M. з колегами (2016) перевірили роль метилювання ДНК у розвитку фотоперіодичної реакції у ос. Авторами роботи було показано, що відключення роботи ДНК-метилтрансфераз (*Dnmt1a* і *Dnmt3*) або блокування метилювання ДНК фармакологічно в значній мірі порушувало фотоперіодичну реакцію ос входу до діапаузи.

Таким чином, Pegoraro M. з колегами (2016) вперше було встановлено роль метилювання ДНК в фотоперіодичній синхронізації комах (Pegoraro et al., 2016).

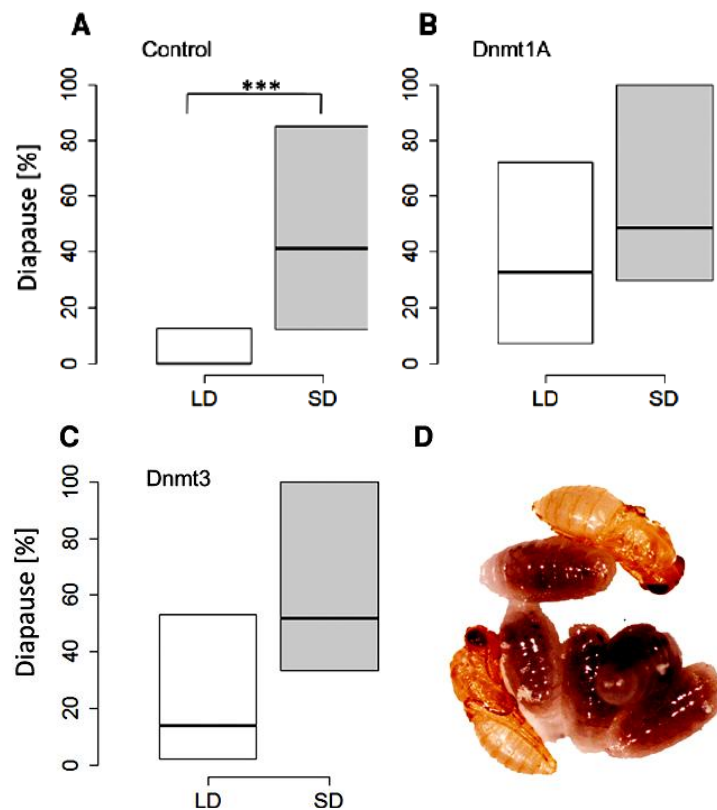


Рис. 6. Після фотоперіодичного сигналу (зміна довжини світлового дня), для своєчасного входу потомства ос *Nasonia vitripennis* в сезонну діапаузу - необхідно метилювання ДНК. (A) - Потомство контрольних самок ос *Nasonia vitripennis* показало нормальний вхід в сезонну діапаузу при зміні довжини світлового дня: при експозиції в умовах довгого світлового дня (LD, 18 год світло) в порівнянні з експозицією в умовах короткого світлового дня (SD, 6 год світло). (B) і (C) - При інгібуванні роботи ДНК-метилтрансферази (*Dnmt1a* або *Dnmt3*) методами молекулярної біології - достовірні відмінності в рівні входження личинок в стан діапаузи між самками, експонованими на довгому і короткому світловому дні - були відсутні. (D) Розвиток у *Nasonia vitripennis* лялечок (жовті) і личинок в стані діапаузи (темні) (Pegoraro et al., 2016).

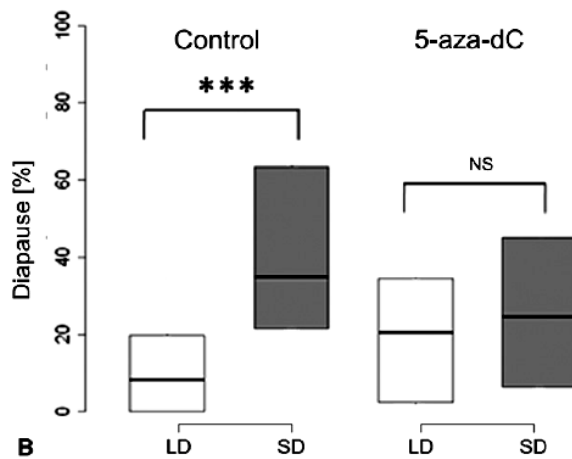


Рис. 7. Фармакологічне блокування метилювання ДНК за допомогою 5-aza-dC. Контрольні самки ос *Nasonia vitripennis* продемонстрували нормальне входження потомства в стан діпаузи в умовах експозиції при короткому світловому дні (SD) в порівнянні з довгим світловим днем (LD); тоді як самки, в їжу яких додавався препарат 5-aza-dC, який інгібує метилювання ДНК, продемонстрували аберантну фотоперіодичну відповідь на зміну довжини світлового дня (Pegoraro et al., 2016).

Техногенне світлове забруднення навколишнього середовища і біологічні ритми організмів

Побудовано карти штучного світіння неба, яке утворюється в результаті нічного світлового забруднення навколишнього середовища. Штучне освітлення підвищує яскравість нічного неба, створюючи найбільш помітний ефект світлового забруднення - штучне світіння неба. Незважаючи на зростаючий інтерес вчених до цього питання, в даний час світлове забруднення не має кількісної оцінки в глобальному масштабі.

Falchi F. з колегами (2016) був розроблений атлас штучної яскравості неба, розрахований за допомогою створеної ними програми поширення світлового забруднення з використанням нових супутникових даних з високою роздільною здатністю і нових прецизійних вимірювань яскравості неба.

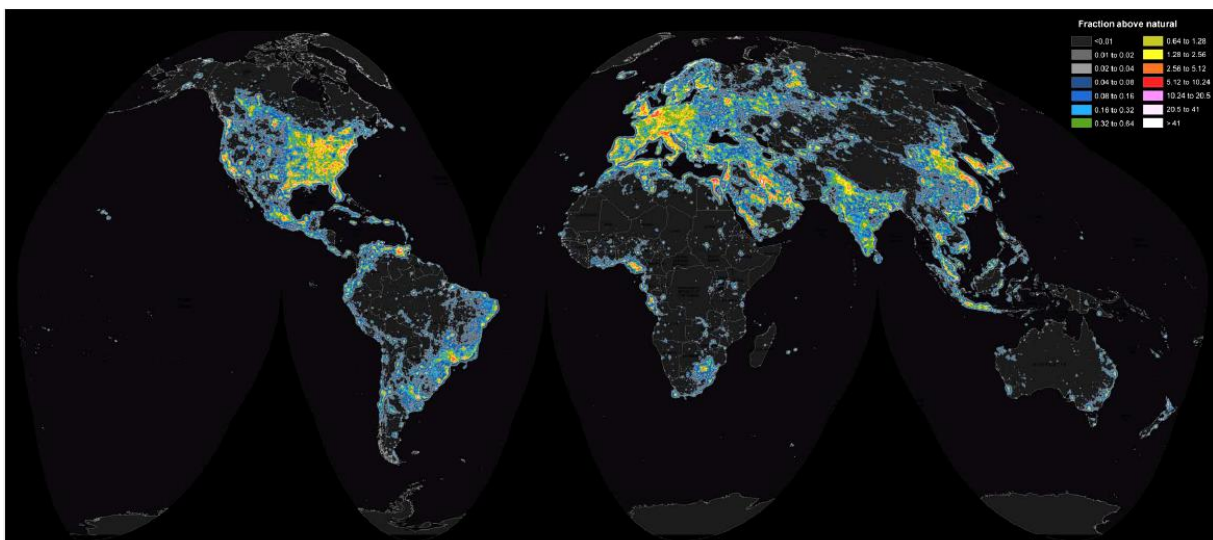
















Рис. 8. Світова карта штучної яскравості неба, яка показує відношення яскравості нічного неба в досліджених екосистемах до природної яскравості нічного неба збільшене в два рази. У таблиці наведені значення кожного рівня кольору (Falchi et al., 2016).

Таблиця 1. Кольорові рівні, використані в карті. У першому стовпчику дано співвідношення між штучною яскравістю і природною фоною яскравістю неба (яка становить 174 мккд/м²); другий стовпець показує штучну яскравість неба (мккд/м²); третій стовпець дає приблизну загальну яскравість (мкд/м²); четвертий і п'ятий стовпці таблиці дають значення кольорів.

Ratio to natural brightness	Artificial brightness ($\mu\text{cd}/\text{m}^2$)	Approximate total brightness (mcd/m^2)	Color	
<0.01	<1.74	<0.176	Black	
0.01–0.02	1.74–3.48	0.176–0.177	Dark gray	
0.02–0.04	3.48–6.96	0.177–0.181	Gray	
0.04–0.08	6.96–13.9	0.181–0.188	Dark blue	
0.08–0.16	13.9–27.8	0.188–0.202	Blue	
0.16–0.32	27.8–55.7	0.202–0.230	Light blue	
0.32–0.64	55.7–111	0.230–0.285	Dark green	
0.64–1.28	111–223	0.285–0.397	Green	
1.28–2.56	223–445	0.397–0.619	Yellow	
2.56–5.12	445–890	0.619–1.065	Orange	
5.12–10.2	890–1780	1.07–1.96	Red	
10.2–20.5	1780–3560	1.96–3.74	Magenta	
20.5–41	3560–7130	3.74–7.30	Pink	
>41	>7130	>7.30	White	

Отримані авторами дослідження дані свідчать про те, що більше 80% населення світу і понад 99% населення США і Європи живуть під нічним небом, забрудненим нічним штучним освітленням. Штучне світіння неба приховує Чумацький Шлях від більш ніж однієї третини людства, включаючи 60% європейців і майже 80% жителів Північної Америки. Крім того, 23% суші між 75° північної широти і 60° південної широти, 88% Європи і майже половина Сполучених Штатів піддаються впливу штучного світлового забруднення вночі (Falchi et al., 2016).

Штучне нічне освітлення порушує добові та сезонні біоритми організмів.

Еволюція життя на Землі відбувалася в умовах добової зміни дня і ночі, що сприяло формуванню у всіх груп організмів добових ритмів, які забезпечують синхронізацію біохімічних, фізіологічних процесів і поведінкових реакцій організмів з умовами навколишнього середовища. Однак, сьогодні в нічний час доби інтенсивно використовується штучне освітлення. При цьому живі організми піддаються як прямому освітленню вуличними ліхтарями, так і непрямому освітленню через світіння неба вночі.

Лабораторні дослідження показали, що у нічних гризунів вплив світла вночі може змінити терміни їх щоденної рухової активності і час прийому їжі з нічного на денний. Крім того, у нічних гризунів у відповідь на навіть тьмяне світло вночі знижується тривожна поведінка (тобто вони починають проводити більше часу на відкритих просторах і у них подовжується період дорослішання потомства). Ці зміни не є адаптивними в умовах дикої природи.

Фотоперіодичні тварини покладаються на сезонні зміни в довжині світлового дня, щоб своєчасно включити програму підготовки організму до несприятливої пори року для виживання і до сприятливої пори року - для залишення потомства. Світло вночі може маскувати виявлення біологічним годинником організму часу початку укорочення світлового дня, неправильно сигналізувати про тривалість світлового дня і, таким чином, десинхронізувати сезонні репродуктивні цикли організмів.

Russart K.L.G. і Nelson R.J. (2018) на підставі аналізу численних літературних даних дійшли до висновку, що нічний вплив штучного світла призводить до порушення як добових, так і сезонних ритмів організмів в дикій природі, що потенційно знижує виживання індивідуальних організмів і впливає на екосистеми в цілому (Russart & Nelson, 2018).

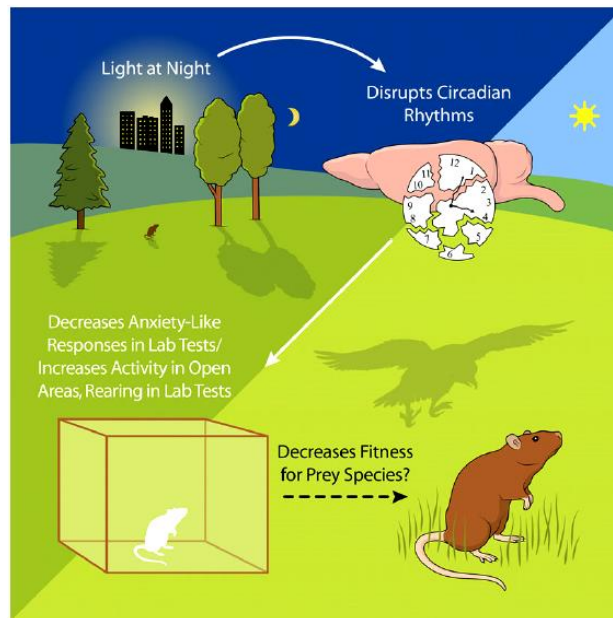


Рис. 9. У дикій природі виживання видів, які є потенційними жертвами хижаків, може бути зменшене при впливі нічного освітлення, оскільки таке освітлення порушує добові біологічні ритми організмів, що змінює їх природну реакцію на стрес і небезпеку (Russart & Nelson, 2018).

Штучне нічне освітлення порушує розмноження морських черепах. Hu Z. з колегами (2018) було показано, що морські черепахи погано відкладають яйця на морському узбережжі, освітленому вночі штучним світлом (Hu et al., 2018).



Рис. 10. Морська зелена черепаха (*Chelonia mydas*) (<https://en.wikipedia.org/wiki/>).

У мальків лососевих риб в умовах штучного нічного освітлення було виявлено зростання рівня кортизолу, що свідчить про стресованість організму риб. Штучне освітлення вночі - це стресор, механізми впливу якого на живі організми точно поки не вивчені. Серед аквальних екосистем - прісноводні спільноти найбільш інтенсивно піддаються антропогенному впливу і в т.ч. світловому забрудненню середовища. Нещодавні дослідження показали, що лососі демонструють порушення в поведінці у відповідь на штучне нічне освітлення (затримка розпливання мальків і молодняка риб - оскільки в нормі ці процеси у лососевих відбуваються вночі). Поки ще не ясно, які фізіологічні процеси стоять за змінами поведінки, які спостерігаються.

Newman R.C. з колегами (2015) вирощували яйця і зародків атлантичних лососів (*Salmo salar* L.) в умовах різної інтенсивності нічного освітлення і досліджували вплив цього освітлення на рівень кортизолу в організмі тварин, який свідчить про ступінь стресованості риб. В ході проведених досліджень було встановлено, що мальки риб, які зазнали впливу нічного освітлення, мають підвищені рівні кортизолу, що вказує на здатність штучного нічного освітлення вже на ранній стадії онтогенезу викликати стресову реакцію у риб (Newman et al., 2015).



Рис. 11. Атлантичний лосось (*Salmo salar* L.) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Слабке нічне штучне освітлення редує клітинну імунну відповідь у австралійських чорних польових цвіркунів *Teleogryllus commodus*. Функціонування імунної системи є критично важливим для захисту організмів від хвороб та патогенів. Однак, все більше фактів свідчить про те, що види, які живуть в міських районах, страждають від пригнічення імунітету через штучне нічне освітлення.

Durrant J. з колегами (2019) досліджували вплив екологічно значущих рівнів штучного нічного освітлення (1, 10 і 100 люкс) на три ключові показники функціонування імунної системи (концентрація гемоцитів, літична активність і активність фенолксидази) у австралійського чорного польового цвіркуна (*Teleogryllus commodus*).



Рис. 12. Австралійський чорний польовий цвіркун (*Teleogryllus commodus*) (https://en.wikipedia.org/wiki/Teleogryllus_commodus).

В результаті проведених досліджень було встановлено, що присутність штучного нічного освітлення мала явний негативний вплив на гемоцити, тоді як вплив на літичну активність і активність фенолксидази не залежав від нічного освітлення. Цікаво відзначити, що ефект впливу нічного освітлення інтенсивністю 1 люкс був порівнянний з ефектами нічного освітлення в 10 і 100 люкс.

*NB! Гемоцити - це клітини, які знаходяться в гемолімфі комах. Однією з функцій гемоцитів є захист комах від інфекційних захворювань та зараження паразитами, оскільки гемоцити здатні до фагоцитозу (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Отримані Durrant J. з колегами (2019) дані свідчать про те, що вплив нічного освітлення на зниження основної імунної відповіді у тварин, може мати серйозні наслідки для виживання природних популяцій (Durrant et al., 2019).

Штучне освітлення вночі змінює активність і розподіл енергії у звичайних жаб (*Bufo bufo*) під час періоду парування. Штучне нічне освітлення, змінюючи фотоперіод, впливає на фізіологію і поведінку організмів. Зокрема, на гормональну регуляцію життєво важливих процесів, обмін речовин, міграцію, репродукцію і т.н.

Touzot M. з колегами (2019) в період спаровування експонували звичайних жаб (*Bufo bufo*) на штучному нічному освітленні різної інтенсивності на протязі 20 днів. Проведені дослідження показали, що штучне нічне освітлення редувало активність жаб протягом доби на 56% при інтенсивності нічного освітлення в 5 люкс, і на 73% - при інтенсивності нічного освітлення в 20 люкс. Таке освітлення не вплинуло на загальні витрати енергії тваринами, але змінило характер розподілу енергії.



Рис. 13. Звичайна жаба (*Bufo bufo*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Отримані Touzot M. з колегами (2019) дані свідчать про те, що штучне нічне освітлення значно впливає на активність тварин і на їх енергетичний метаболізм, що може мати віддалені несприятливі наслідки для популяцій жаб в природних умовах (Touzot et al., 2019).

Нічне освітлення LED лампами сприяє приманюванню комах в порівнянні зі звичайними лампам. Нічне освітлення населених пунктів, промислових зон, доріг і т.н. впливає не тільки на нічні, але і на денні види організмів. Крім того, сьогодні повсюдно відбувається перехід від жовтих натрієвих ламп високого тиску (HPS) до нових білих енергозберігаючих світлодіодних ламп (LED), які мають інший спектр світіння.

Pawson S.M. і Bader M.K.-F. (2014) припустили, що білі світлодіодні лампи будуть більш привабливими для комах і, отже, будуть чинити більший вплив на навколишнє середовище, ніж натрієві лампи високого тиску (HPS), через пікову візуальну чутливість нічних безхребетних до УФ-зеленої-синьої частин світлового спектру. Отримані результати підтвердили висунуту гіпотезу: в середньому світлодіодні світлові пастки вловлювали на 48% більше комах, ніж світлові пастки, оснащені лампами HPS, і цей ефект залежав від температури повітря.

Pawson S.M. і Bader M.K.-F. (2014) не знайшли доказів того, що маніпулювання колірною температурою білих світлодіодів може звести до мінімуму екологічні наслідки використання білих світлодіодних ламп. В цілому, експерименти, проведені Pawson S.M. і Bader M.K.-F. (2014), показали, що нічне освітлення LED лампами дає більш високий рівень приманювання комах шкідників в порівнянні з використанням звичайних ламп.



Рис. 14. Зображення, яке показує розташування в полі експериментального блоку з п'ятьма з шести світлодіодних ламп, що мають різну кольорову температуру (Pawson & Bader, 2014).

Таким чином, широкомасштабне впровадження енергоефективного білого світлодіодного освітлення для муніципального і промислового використання може посилити зараження фітосанітарними шкідниками. Отримані результати підкреслюють необхідність спільних досліджень між екологами та інженерами, для гарантування в майбутньому того, що нові розробки в області світлодіодних технологій мінімізують їх потенційні екологічні наслідки (Pawson & Bader, 2014).

Необхідно змінити параметри LED-ламп для нічного освітлення міст і будинків, оскільки світло певної довжини хвилі приваблює комах - переносників хвороб. Штучне

освітлення дозволяє людям бути активними в нічний час, але, одночасно, викликає багато ненавмисних наслідків, включаючи втручання в екологічні процеси, порушення циркадіанних ритмів, підвищений вплив комах - переносників хвороб і т.н. З усього сонячного спектра для комах, як правило, найбільш привабливими є ультрафіолетові і блакитні промені. Однак, ступінь їх привабливості варіює, залежно від систематичної групи комах.

Longcore T. з колегами (2015) досліджували вплив різних типів світлових ламп на ступінь приманювання членистоногих. Перед початком експерименту автори роботи налаштували три світлодіодні лампи таким чином, щоб мінімізувати привабливість цих ламп для безхребетних на підставі опублікованих кривих привабливості випромінювання для бджіл і молі. Лампи були встановлені з пастками в міських і двох сільських навчальних територіях в Лос-Анджелесі, штат Каліфорнія.

Отримані Longcore T. з колегами (2015) дані свідчать про те, що для всіх груп безхребетних спеціально налаштовані LED світлодіодні лампи були менш привабливими, ніж комерційні світлодіодні ЛІД лампи або люмінесцентні лампи з аналогічними колірними температурами. Таким чином, регулювання спектрального складу білого світла для мінімізації привабливання нічних членистоногих є можливим; слід також враховувати, що не всі джерела світла з однаковою колірною температурою є однаково привабливими для членистоногих (Longcore et al., 2015).

Нічне освітлення за допомогою LED-ламп знижує фотосинтетичну продуктивність аквальних організмів в наслідок порушення природних біоритмів організмів. Зростання рівня використання штучного освітлення вночі призвело до того, що сьогодні в усьому світі прісноводні екосистеми піддаються нічному світловому забрудненню. Одночасно змінюється спектральний склад нічного освітлення, оскільки в технологіях зовнішнього освітлення відбувається перехід від традиційних джерел світла до світлодіодних ламп (LED). Світлодіодні лампи випромінюють біле світло широкого спектра дії із значною кількістю фотосинтетично активного випромінювання і, як правило, з високим вмістом синього світла, який регулює циркадіанні ритми у багатьох організмів. У ряді робіт було досліджено вплив переходу на світлодіодні лампи у нічних тварин. Однак, такий вплив на первинних продуцентів в екосистемах - не вивчався.

Grubisic M. з колегами (2018) було проведено кілька польових експериментів в сільськогосподарській дренажній системі, щоб оцінити наслідки переходу від натрієвих ламп високого тиску (HPS) до білого світлодіодного освітлення (колірна температура 4000K) на первинних продуцентах в перифітоні.

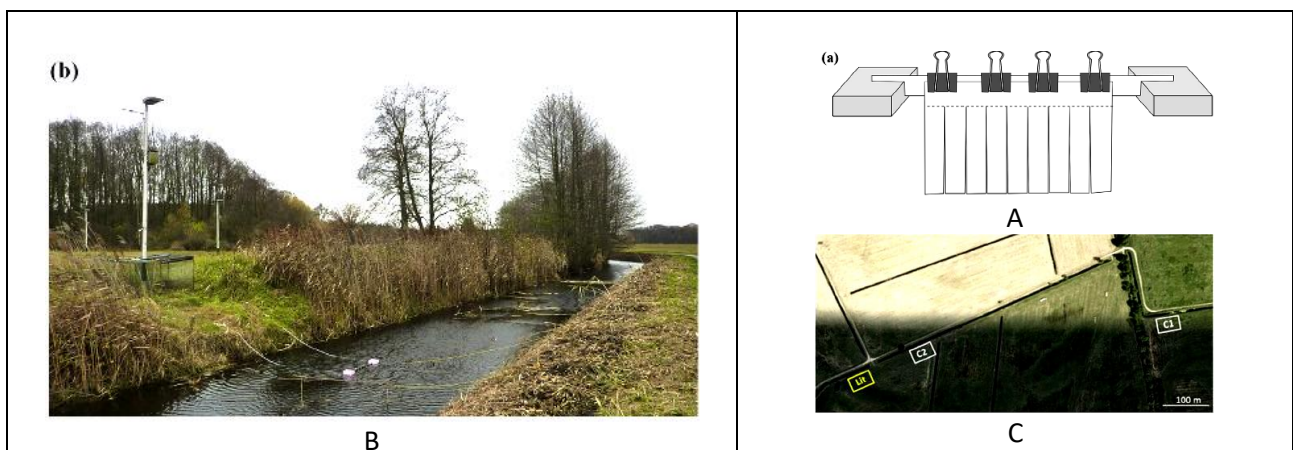


Рис. 15. (А) - Схема плаваючих рам, які використовувалися для утримання підкладок для росту перифітону (прозорих плівок, нарізаних смужками); (В) - ділянка зрошувального каналу, на якій у вертикальному положенні під поверхнею води було встановлено плаваючу раму для проведення дослідження; (С) - аерофотознімок зони дослідження, розташованої в природному парку Westhavelland в Бранденбурзі, Німеччина. Три експериментальні ділянки вздовж дренажного каналу: Lit, Control 1 (C1) і Control 2 (C2) (Grubisic et al., 2018).

*NB! Перифітон - це екологічні угруповання гідробіонтів (рослин, тварин, мікроорганізмів), для яких характерний переважно прикріплений спосіб життя на розділі вода - тверді субстрати різного походження (камені, скелі, вищі водні рослини, покриви тварин, затоплене велике сміття, днища суден і т.н.) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

У всіх експериментах Grubisic M. з колегами (2018) порівнювали біомасу і пігментний склад перифітону, який був вирощений в умовах природного світлового режиму, з режимом перифітону, що піддавався або впливу нічних HPS ламп, або впливу світлодіодних ламп з інтенсивністю світіння, яка зазвичай зустрічається в міських умовах (приблизно 20 люкс).

Перифітон збирали протягом 1-13 тижнів. Отримані дані не показали впливу світла від HPS ламп на біомасу перифітону; проте, після переходу на світлодіодні лампи - біомаса перифітону знизилася на 62%. При цьому жодне з джерел освітлення не чинило істотного впливу на склад пігментів.

Протилежний вплив двох джерел світла на біомасу може бути пояснений відмінностями в їх спектральному складі і, зокрема, у вмісті синіх променів. Отримані результати свідчать про те, що спектральний склад джерела світла відіграє важливу роль у визначенні впливу нічного штучного освітлення на перифітон; при цьому перехід на світлодіодні лампи може посилити екологічний вплив штучного освітлення на первинних продуцентів – мешканців водойм.

У свою чергу, скорочення біомаси в основі харчової мережі може вплинути на функції екосистем, такі як продуктивність і забезпечення їжею організмів вищих трофічних рівнів в освітлених в нічний час екосистемах (Grubisic et al., 2018).

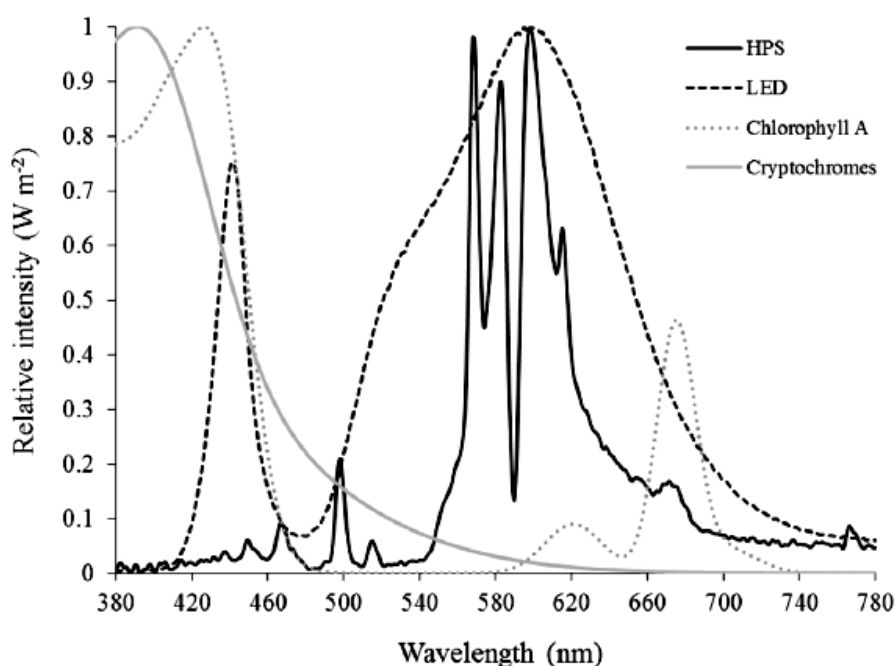


Рис. 16. Спектральний склад двох джерел освітлення, використаних в дослідженні: натрієві лампи високого тиску (HPS) і світлодіодні лампи (LED), а також - спектральна крива поглинання хлорофілу а і спектральна чутливість фоторецептрів кріптохромів (Grubisic et al., 2018).

Нічне освітлення впливає на рослини, а від рослин залежить чисельність популяцій рослиноїдних тварин. Bennie J. з колегами (2015) було показано, що штучне нічне освітлення зменшило кількість квіток у бобових рослин, що в свою чергу знизило чисельність популяції горохової попелиці (*Acyrtosiphon pisum*) на території дослідження. Ці результати дозволяють припустити, що фізіологічний вплив нічного світлення на рослини в різноманітних природних рослинних угруповання може мати помітний демографічний вплив на рослиноїдних тварин (Bennie et al., 2015).



Рис. 17. Горохова попелиця (*Acyrthosiphon pisum*) (<https://www.google.com.ua/search>).

Рослини, які запилюються комахами вночі, страждають від нічного штучного освітлення. Близько 19% наземних екосистем (крім Антарктиди) піддаються впливу штучного нічного освітлення. Нічне освітлення має прямий вплив на терміни цвітіння і фотоперіодизм у рослин. Однак, крім цього - штучне нічне освітлення порушує взаємини між рослинами і тваринами-запилувачами, що також впливає на репродукцію у рослин. Проведені дослідження показали, що рівень нічного запилення рослин істотно знижується при нічному впливі штучного освітлення (Borges, 2018).

Штучне освітлення вночі порушує нічне запилення рослин. Кількість тварин-запилувачів в усьому світі знижується, і це викликає занепокоєння в зв'язку зі зниженням рівня запилюваності як сільськогосподарських, так і диких рослин. Антропогенні фактори, пов'язані з цим зниженням, включають зміни середовища проживання, інтенсивне ведення сільського господарства, використання пестицидів, поширення інвазивних чужорідних видів і патогенних мікроорганізмів, зміни клімату і т.н.

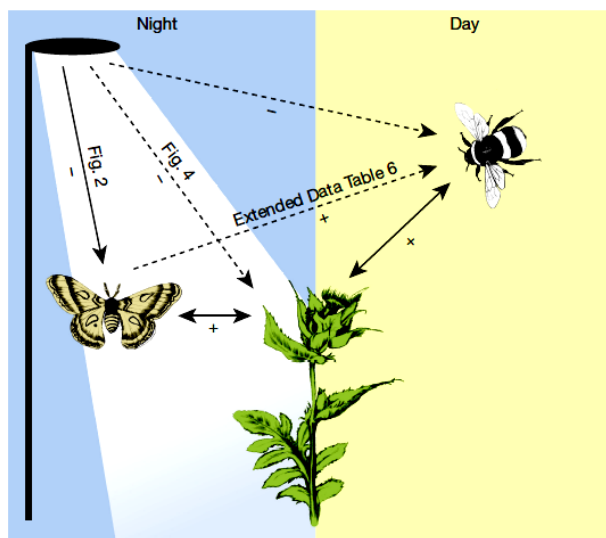


Рис. 18. Вплив штучного нічного освітлення на співтовариства рослин і тварин. Нічне освітлення знижує ефективність запилення рослин і, в результаті, зменшує продуктивність рослин. На схемі суцільні стрілки вказують на пряму взаємодію; пунктирні стрілки позначають непрямі взаємодії. Знаки: (+) - позитивний вплив; (-) негативний вплив (Кпор et al., 2017).

Останнім часом швидко глобальне збільшення штучного освітлення вночі стало новою загрозою для наземних екосистем і наслідки цього збільшення для функціонування екосистем в основному невідомі.

Кпор Е. з колегами (2017) було встановлено, що штучне освітлення вночі порушує нічне запилення рослин. А це - істотно знижує репродуктивні можливості рослин. Зокрема, штучне освітлення вночі призвело до того, що нічні відвідування рослин тваринами-запилувачами скоротилися на 62% в порівнянні з неосвітленими територіями. Це, в свою чергу, сприяло загальному зниженню кількості плодів на рослинах на 13%, навіть

незважаючи на те, що ці рослини одночасно запилювалися і тваринами - денними запилювачами.

Отримані Кноп Е. з колегами (2017) дані свідчать про те, що штучне освітлення вночі впливає не тільки на нічних запилювачів, але також і на денних запилювачів рослин. Що в цілому, ще більше посилює проблему запилення рослин. Авторами роботи також було встановлено, що нічні запилювачі не є надлишковими для добових спільнот запилювачів (Кноп et al., 2017).

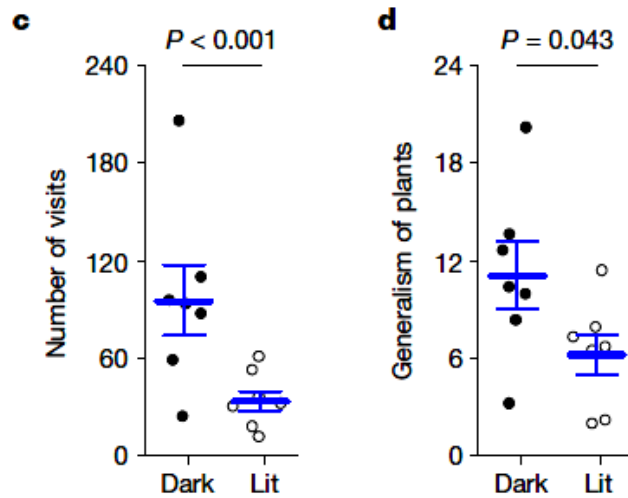


Рис. 19. Вплив штучного нічного освітлення на показники нічного запилення рослин. Де: (c) - кількість візитів нічних тварин-запилювачів на квіти, (Number of visits); (D) - генералізм рослин, (Generalism of plants); Dark - темрява, контроль; Lit - штучне нічне освітлення. В умовах штучного нічного освітлення достовірно знижується кількість візитів нічних тварин-запилювачів на квіти, а також - достовірно знижується рівень генералізму запилюваних рослин (тобто у рослин зменшується кількість тварин-запилювачів, які їх запилюють) (Кноп et al. 2017). Рослини генералісти - це рослини, які запилюються широким колом тварин-запилювачів.

Прибережне освітлення впливає на взаємини в системі хижак-жертва в морських екосистемах. Урбанізовані території і моря все частіше піддаються штучному освітленню в нічний час доби. Зі штучним нічним освітленням пов'язаний цілий спектр екологічних наслідків. Однак, ці зміни залишаються значною мірою не вивченими. Хижацтво є ключовим екологічним процесом, який структурує спільноти і реагує на природні цикли світла і темряви.

Bolton D. з колегами (2017) досліджували вплив штучного нічного освітлення на хижу поведінку риб і на поведінку сидячих безхребетних тварин - їх потенційних жертв. Протягом 21 доби риби і сидячі спільноти безхребетних тварин піддавалися трьом типам світлового впливу (день, ніч і штучне нічне освітлення). Для цього світлодіодні LED прожектори були встановлені під причалом для створення умов штучного нічного освітлення. Автори роботи використовували камери GoPro для зйомок протягом дня і в умовах штучного нічного освітлення, а також SONar (DIDSON) для зйомок під час нічних сеансів.

У зоні дослідження риби були найбільш численними в умовах неосвітлених ночей і при цьому демонстрували низьку рухливість. Хижацька поведінка риб була краще виражена вдень і в умовах штучного нічного освітлення, ніж вночі. Це свідчить про те, що риби використовують прибережні зони не для годування в нічний час, а швидше за все - як укриття. Однак, штучне освітлення різко збільшило їх хижацьку поведінку вночі. Це, в свою чергу, призвело в умовах експериментального нічного освітлення до зміни структури сидячих скельних спільнот безхребетних тварин - потенційних жертв риб.

В результаті проведених Bolton D. з колегами (2017) досліджень було показано прямий вплив штучного нічного освітлення на поведінку риб і на супутні непрямі ефекти на сидячих безхребетних тварин - їх жертв. Таким чином, використання штучного нічного освітлення може значно вплинути на взаємодію хижаків з жертвами в морських екосистемах

шляхом зміни характеру використання довкілля як для хижаків, так і для жертв (Bolton et al., 2017).

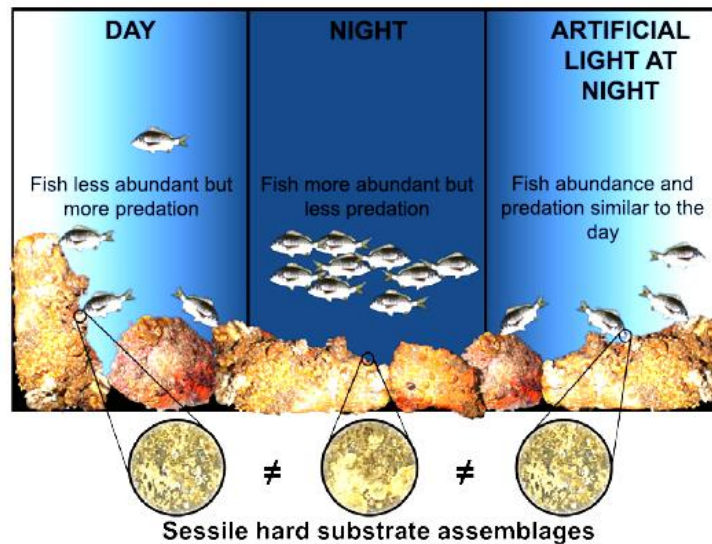


Рис. 20. Штучне нічне освітлення посилювало хижацьку поведінку риб, проте - зменшувало кількість риб в зоні дослідження, в порівнянні з умовами відсутності освітлення вночі. За 21 добу експерименту по впливу штучного нічного освітлення - спільноти сидячих безхребетних тварин змінилися. Де: Sessile hard substrate assemblages - сидячі на твердому субстраті спільноти безхребетних - потенційних жертв риб; Day - день; Night - ніч; Artificial light at night - штучне освітлення вночі (Bolton et al., 2017).

Штучне нічне освітлення змінює водно-прибережні харчові мережі безхребетних тварин. Прибережні екосистеми можуть бути особливо вразливими до впливу штучного нічного освітлення. Sullivan S.M.P. з колегами (2019) досліджували вплив штучного нічного освітлення на склад співтовариства безхребетних і характеристики харчової мережі для прибережних водно-наземних екосистем штату Огайо, США.

Для вивчення довжини харчового ланцюгу в екосистемі авторами роботи використовувалися стабільні ізотопи вуглецю-13 (^{13}C) і азоту-15 (^{15}N). В результаті проведених досліджень було показано, що помірні і високі рівні нічного освітлення змінювали склад співтовариства безхребетних, переважно на користь хижаків і детритофагів. При цьому слід зазначити, що результат впливу нічного освітлення залежав від таксона безхребетних і від інтенсивності освітлення.

Наприклад, помірне нічне освітлення (1-5 люкс) негативно вплинуло на кількість павуків, що плетуть мережі і належать до родин *Tetragnathidae* і *Araneidae*, які є основними безхребетними хижаками в прибережних екосистемах. Тоді як інтенсивне нічне освітлення (10-20 люкс) - сприяло збільшенню кількості павуків родини *Tetragnathidae* вище контрольного рівня і дещо підвищило кількість павуків родини *Araneidae*.

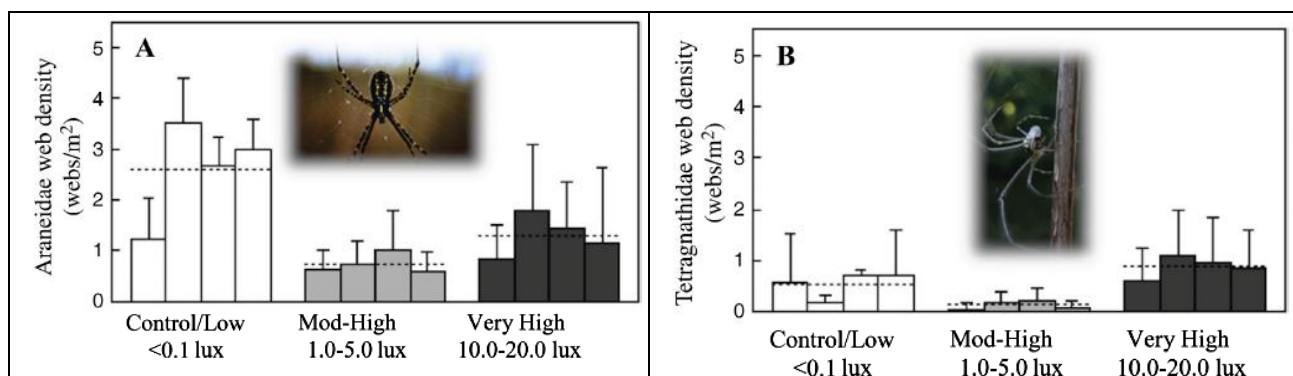


Рис. 21. Кількість павуків родин *Araneidae* (A) і *Tetragnathidae* (B) в різних умовах нічного освітлення. Де: по осі ОУ - щільність мереж павуків (web density, webs/m²); по осі ОХ - нічні

умови в прибережній екосистемі: Control/Low <0,01 lux – контроль, темрява або слабе освітлення менше 0,01 люкс; Mod-High, 1,0-5,0 lux - помірно-високе нічне освітлення 1,0-5,0 люкс; Very High, 10,0-20,0 lux - дуже високий рівень нічного освітлення 10,0-20,0 люкс

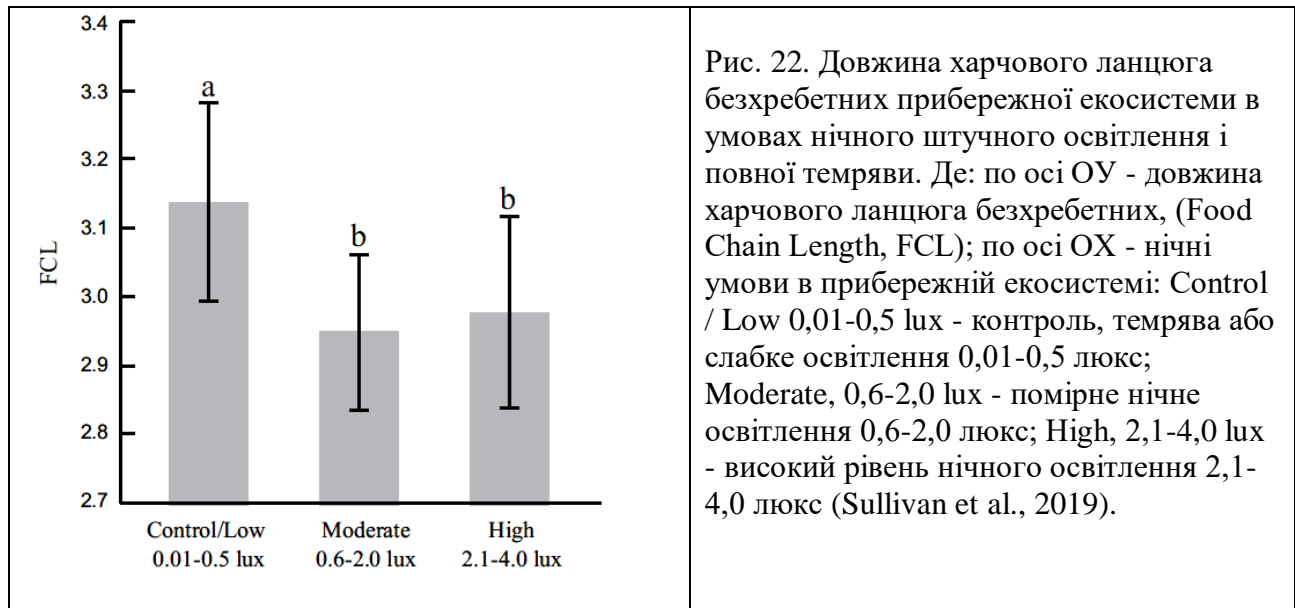


Рис. 22. Довжина харчового ланцюга безхребетних прибережної екосистеми в умовах нічного штучного освітлення і повної темряви. Де: по осі ОУ - довжина харчового ланцюга безхребетних, (Food Chain Length, FCL); по осі ОХ - нічні умови в прибережній екосистемі: Control / Low 0,01-0,5 lux - контроль, темрява або слабе освітлення 0,01-0,5 люкс; Moderate, 0,6-2,0 lux - помірне нічне освітлення 0,6-2,0 люкс; High, 2,1-4,0 lux - високий рівень нічного освітлення 2,1-4,0 люкс (Sullivan et al., 2019).

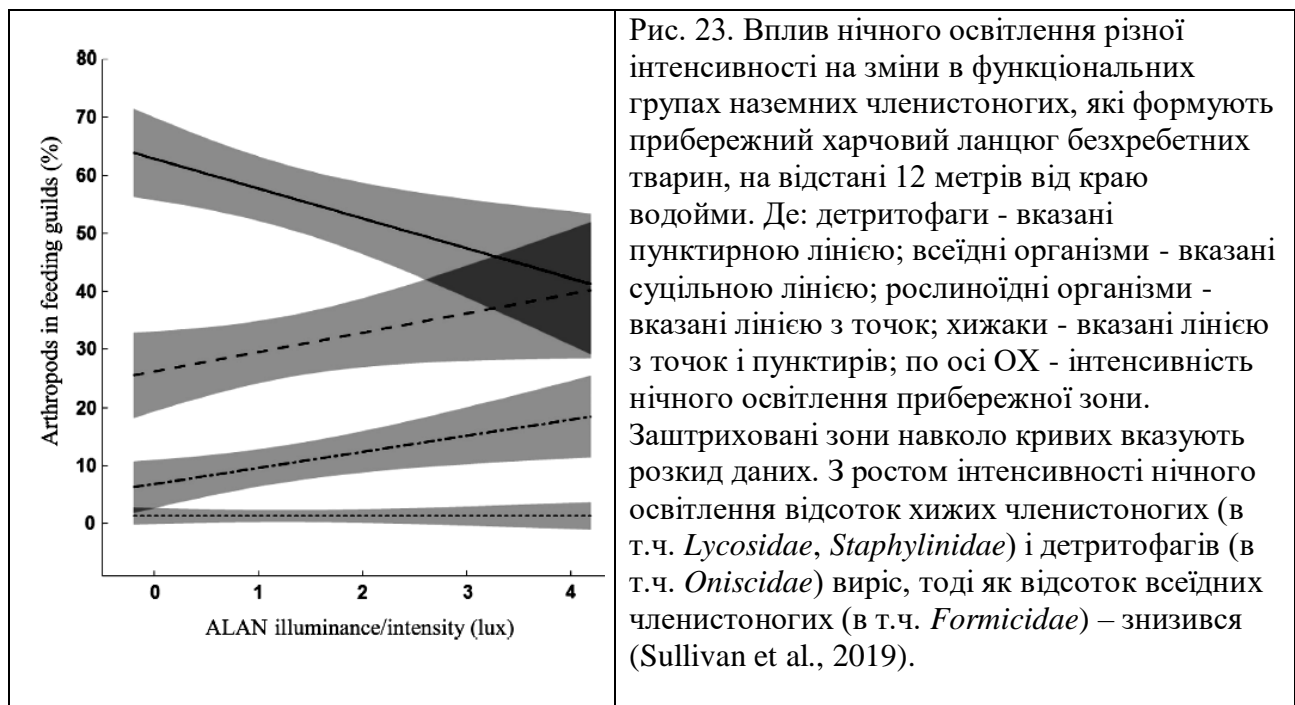


Рис. 23. Вплив нічного освітлення різної інтенсивності на зміни в функціональних групах наземних членистоногих, які формують прибережний харчовий ланцюг безхребетних тварин, на відстані 12 метрів від краю водойми. Де: детритофаги - вказані пунктирною лінією; всеїдні організми - вказані суцільною лінією; рослиноїдні організми - вказані лінією з точок; хижаки - вказані лінією з точок і пунктирів; по осі ОХ - інтенсивність нічного освітлення прибережної зони. Заштриховані зони навколо кривих вказують розкид даних. З ростом інтенсивності нічного освітлення відсоток хижих членистоногих (в т.ч. *Lycosidae*, *Staphylinidae*) і детритофагів (в т.ч. *Oniscidae*) виріс, тоді як відсоток всеїдних членистоногих (в т.ч. *Formicidae*) – знизився (Sullivan et al., 2019).

В цілому, в умовах впливу нічного штучного освітлення, Sullivan S.M.P. з колегами (2019) було виявлено вкорочення харчового ланцюга безхребетних тварин, зниження енергонадходження від аквальної системи і зсув термінів годування у різних груп безхребетних. Проведені дослідження показали, що нічне освітлення може змінювати потоки енергії між водними і наземними екосистемами, тим самим викликаючи екологічні порушення, що виходять за рамки прибережно-аквальних екосистем (Sullivan et al., 2019).

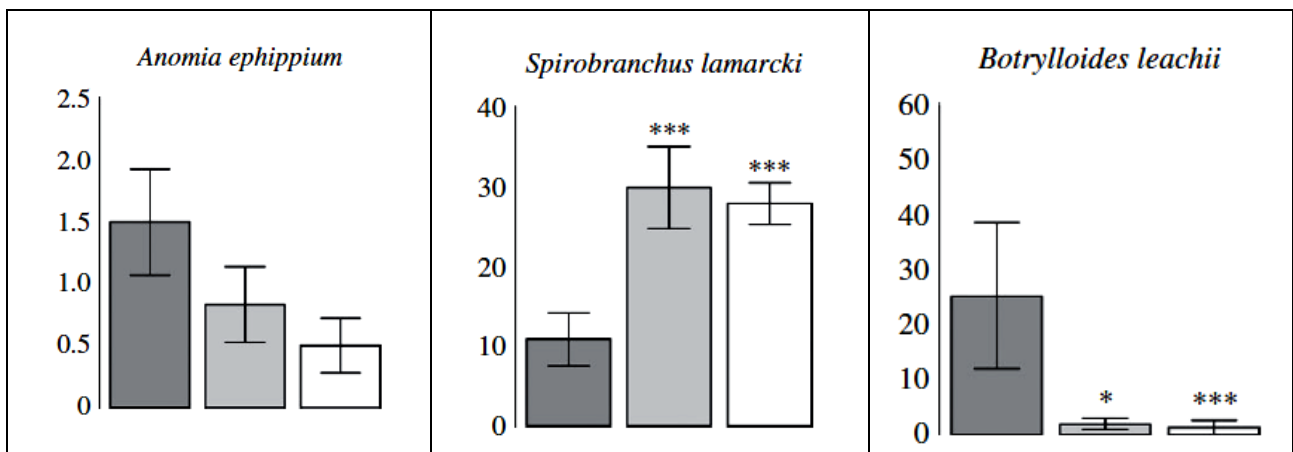
Нічне штучне освітлення змінює склад співтовариств морських безхребетних епіфауни. Морські бентосні спільноти - це функціонально одні з найважливіших екосистем у світі. Однак, антропогенний вплив ставить під загрозу їхнє майбутнє. Вплив штучного нічного освітлення на бентосні екосистеми залишається сьогодні практично не вивченим. Відомо, що світло є важливим сигналом в координації розселення личинок безхребетних.

Тому, зміна природного режиму нічного освітлення може вплинути на модель поповнення сидячої епіфауни безхребетних.

Дослідження, проведене Davies T.W. з колегами (2015), показало, що нічне штучне освітлення білими світлодіодними лампами, рівень якого відповідає сучасному світловому нічному навантаженню в природних екосистемах, змінює склад співтовариств морських безхребетних епіфауни.

Авторами роботи було встановлено, що нічне освітлення призводить у одних видів безхребетних тварин - до пригнічення, а у інших видів - до стимулювання колонізації придонних поверхонь, як серед сидячих, так і серед рухливих видів.

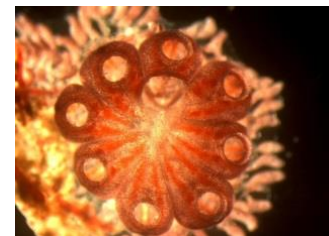
*NB! Епіфауна - це прикріплені або малорухливі водні донні безхребетні, що живуть на поверхні ґрунту, в ущелинах скель, серед каменів і т.п. До епіфауни відносяться тварини, що утворюють обростання, вільно лежать на дні (деякі моллюски), повільно плазують по дну (багато моллюсків, голкошкірі, поліхети, деякі ракоподібні, актинії і ін.) (за https://dic.academic.ru/dic.nsf/dic_biology/).



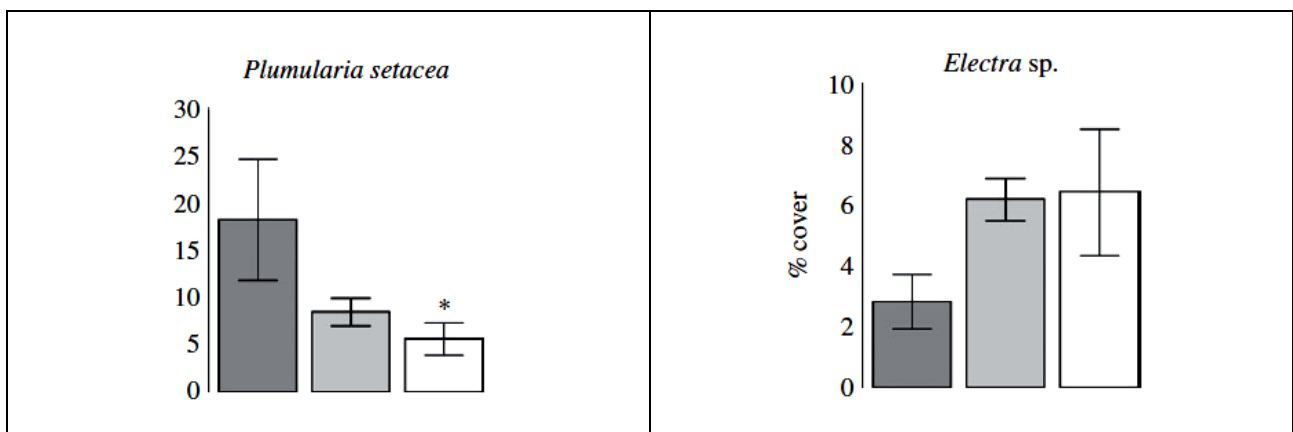
Anomia ephippium
(<https://www.google.com.ua/search?q=Anomia+ephippium>).



Spirobranchus lamarcki
(<https://www.google.com.ua/search?q=Spirobranchus+lamarcki>).



Колоніальний тунікат
Botrylloides leachii
(https://en.wikipedia.org/wiki/Botrylloides_leachii).



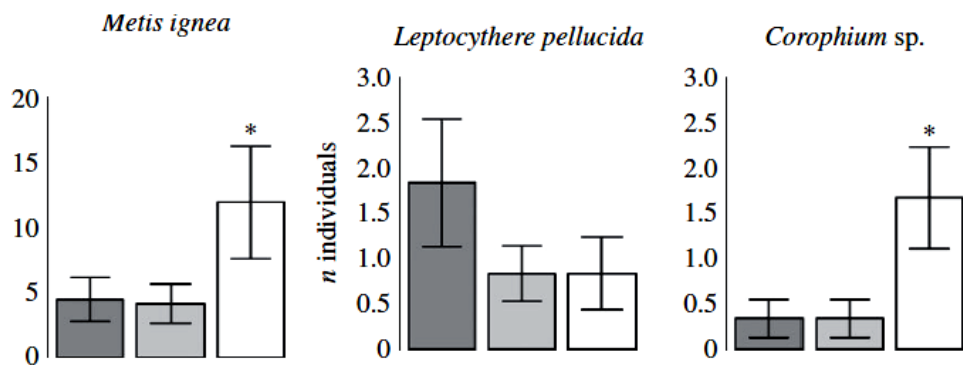


Plumularia setacea (<https://www.google.com.ua/search?q=Plumularia+setacea>).



Мохуватка *Electra pilosa* (<https://www.google.com.ua/search?q=Electra+pilosa>).

Рис. 24. Вплив нічного освітлення світлодіодними LED лампами на колонізацію дна водойми сидячими морськими безхребетними. Де: по осі ОУ - % поповнення епіфауни сидячими морськими безхребетними; по осі ОХ: темно-сірі стовпчики гістограм - контроль, темні ночі; світло-сірі стовпчики - нічне освітлення екосистем інтенсивністю 19 люкс; білі стовпчики гістограм - нічне освітлення екосистем інтенсивністю 30 люкс (Davies et al., 2015).



Corophium heteroceratum (<https://invasions.si.edu/nemesis/calnemo/GroupSummary.jsp?GRP=Crustaceans-Amphipods>).



Metis ignea (<http://www.marinespecies.org/aphia.php>)



Leptocythere pellucida (<https://www.google.com.ua/search?q=Leptocythere+pellucida>).

Рис. 25. Вплив нічного освітлення світлодіодними LED лампами на колонізацію дна водойми рухливими морськими безхребетними. Де: по осі ОУ - % поповнення епіфауни рухливими морськими безхребетними; по осі ОХ: темно-сірі стовпчики гістограм - контроль, темні ночі; світло-сірі стовпчики - нічне освітлення екосистем інтенсивністю 19 люкс; білі стовпчики гістограм - нічне освітлення екосистем інтенсивністю 30 люкс (Davies et al., 2015).

Отримані Davies T.W. з колегами (2015) результати, свідчать про те, що світлове забруднення від прибережної забудови, судноплавства і морської інфраструктури може змінити склад морських співтовариств епіфауни (Davies et al., 2015).

Нічне освітлення порушує синтез репродуктивних гормонів у самок чорних дроздів (*Turdus merula*). У сезонних умовах проживання організми використовують

зовнішні сигнали для оптимального підстроювання своїх життєвих циклів до факторів середовища. Одним з найбільш важливих факторів, який впливає на час початку розмноження організмів, є фотоперіод. Однак, широке використання штучного освітлення вночі в урбанізованих екосистемах - змінює природне співвідношення тривалості світлого і темного часу доби. Це призводить до того, що штучне нічне освітлення впливає на сезонне розмноження організмів.

Russ A. з колегами (2015) досліджували, чи корелює стан ендокринної системи європейських чорних дроздів (*Turdus merula*) з кількістю одержуваного ними штучного нічного освітлення. В ході експериментів оцінювали рівні тестостерону та естрогену в якості метаболітів в пробах фекалій і рівень кортикостерону в зразках крові чорних дроздів.



Рис. 26. Чорний дрізд (*Turdus merula*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Отримані Russ A. з колегами (2015) дані свідчать про те, що нічне штучне освітлення впливає на репродуктивну і стресову фізіологію диких європейських чорних дроздів. При цьому підвищений рівень нічного світла достовірно позитивно корелював з рівнем кортикостерону і негативно - з рівнем жіночого гормону естрогену; вплив штучного освітлення на рівень тестостерону не був виявлений.

В цілому, результати проведених досліджень показали, що самки дроздів сприймають навіть низький рівень штучного освітлення вночі як слабкий, але хронічний стресор, який взаємодіє з гіпоталамо-гіпофізарно-гонадною системою і призводить до зниження секреції репродуктивних гормонів (Russ et al., 2015).

Нічне освітлення порушує сезонну репродукцію у сумчастих ссавців валлабі.

Зміна довжини дня є важливим сигналом для репродуктивної активації у тварин з сезонним типом розмноження. Така синхронізація розмноження з природними процесами дозволяє забезпечити збіг часу вирощування потомства зі сприятливими умовами навколишнього середовища. Однак, штучне нічне освітлення здатне перешкодити сприйняттю таких природних сезонних сигналів.

Robert K.A. з колегами (2015) протягом 5 років було проведено вивчення двох популяцій дикий сумчастих ссавців валлабі, які зазнавали впливу різних рівнів нічного антропогенного освітлення. В результаті проведених досліджень було встановлено, що штучне освітлення в нічний час доби маскує сезонні зміни в світлових сигналах навколишнього середовища, пригнічуючи рівні мелатоніну в організмі і затримуючи народження потомства у валлабі (*Macropus eugenii*) (Robert et al., 2015).



Рис. 27. Валлабі (або тамнар, або кенгуру Євгенії) (*Macropus eugenii*) (https://en.wikipedia.org/wiki/Tammar_wallaby).

У звичайних комарів (*Culex pipiens*) у відповідь на нічне світлове забруднення середовища змінюється експресія генів. Більшість організмів, що живуть в міських або приміських середовищах існування, піддаються впливу низького рівня штучного нічного освітлення. Світло є одним з найбільш важливих екологічних сигналів, які організми використовують для регулювання своєї діяльності. Сьогодні з'явився цілий ряд досліджень, які присвячені встановленню впливу штучного нічного освітлення на фізіологію, поведінку і екологію організмів. Однак, кількість досліджень на молекулярному рівні - залишається обмеженою.

Комари *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) поширені в міських районах, де вони є потенційними переносниками хвороб. Nonnen A.C. з колегами (2016) вивчали, як штучне нічне освітлення може вплинути на біологічно і екологічно значимі ознаки комарів звичайних. Автори роботи вивчали відповідь транскриптому комарів (*Culex pipiens*) на звичайний добовий світловий режим (16 год світло / 8 год темрява) і на умови штучного нічного освітлення (16 год світло / 3 год слабе нічне освітлення + 6 год темрява).



Рис. 28. Комар звичайний (*Culex pipiens*) (<https://citifmonline.com/2014/06/11/>).

Nonnen A.C. з колегами (2016) було встановлено, що у самок комарів в умовах нічного освітлення в порівнянні з повною темрявою достовірно змінився характер експресії (роботи) для п'яти генів, а у самців - для 230 генів. З них 216 генів показали знижену експресію в умовах штучного нічного освітлення; більшість з цих генів пов'язані з гаметогенезом, ліпідним обміном та імунітетом. 14 генів - посилили свою експресію. Слід зазначити, що проведені дослідження виявили значні відмінності в експресії 11660 генів між самцями і самками незалежно від типів світлового впливу (включаючи 14 генів циркадіанного годинника).

Таким чином, виявлені відмінності в експресії генів у самців і самок у відповідь на штучне нічне освітлення можуть вплинути на структуру і життєздатність популяції комарів в урбанізованих екосистемах (Nonnen et al., 2016).

Штучне нічне освітлення призводить до пригнічення діпаузи в процесі онтогенетичного розвитку нічних метеликів (молей). Швидко зростаючий рівень світлового забруднення навколишнього середовища піддає нічні організми серйозним змінам середовища їх проживання, екологічні наслідки яких поки що не визначені. Добре відомо, що світло вночі приваблює нічних метеликів (молей), однак вплив світла на інші аспекти екології молі - такі, як розвиток личинок, вступ в діпаузу і т.н., залишається нез'ясованим.

van Geffen K.G. з колегами (2014) експериментально піддавали гусениць капустяної совки (*Mamestra brassicae*, Noctuidae) дії штучного нічного освітлення низької інтенсивності різної довжини хвилі (зеленого, білого, червоного світла) і визначали швидкість їх росту, максимальну масу гусениці, вік на момент окуклення, масу лялечки і тривалість окуклення.

В результаті проведеного van Geffen K.G. з колегами (2014) дослідження було виявлено специфічний для статі вплив штучного нічного освітлення на гусениць. Зокрема, було встановлено, що гусениці-самці капустяної совки, які піддавалися впливу зеленого і білого світла в нічний час, мали меншу масу тіла, раніше заляльковувалися і мали меншу масу лялечки в порівнянні з гусеницями-самцями, які вирощувалися в присутності нічного червоного освітлення або в темряві. Ці ефекти у самок гусениць були відсутні.

Більше того, на той час, коли перша доросла моль капустяної совки з контрольної лінії, яку вирощували в умовах повної нічної темряви, з'явилася зі своєї лялечки (через 110

діб), вже близько 83%-85% молей, вирощуваних в умовах зеленого або білого нічного освітлення, вже з'явилися. Ці відмінності в тривалості окуклення мали місце у обох статей і були дуже значними, і, ймовірно, вони є результатом гальмування діапаузи штучним нічним освітленням.

Автори роботи прийшли до висновку, що низький рівень нічного освітлення впливає на онтогенез у молі і перешкоджає початку діапаузи у лялечки. Це, в свою чергу, може знизити життєздатність особин і підвищити рівень смертності в популяції. Використання червоного світла замість білого або зеленого світла в системі штучного нічного освітлення може пом'якшити негативний вплив штучного світла на онтогенез молі (van Geffen et al., 2014).



Рис. 29. Совка капустияна (*Mamestra brassicae*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 30. Гусениця совки капустияної ([https://www.google.com.ua/search?q=Mamestra +brassicae](https://www.google.com.ua/search?q=Mamestra+brassicae)).

*NB! Протягом року з'являється два або три нових покоління капустияних совок, дорослих особин можна побачити з травня по жовтень, а іноді і в іншу пору року. Гусениці виростають приблизно на 25 мм задовго до окуклення. Капустияні совки зимують або як личинки, або як лялечки (на заборах, корі дерев і т.п.) (Вікіпедія).

Нічне освітлення порушує роботу біологічного годинника і репродукцію у окунів в наслідок пригнічення експресії мелатоніну і гонадотропіну. Інтенсивність штучного нічного освітлення зростає, що призводить до ряду екологічних наслідків як на рівні окремих організмів, так і екосистем в цілому. Відомо, що низькоінтенсивне освітлення призводить до пригнічення нічної продукції мелатоніну у деяких видів риб.

Bruning A. з колегами (2016) вивчали, які промені світлового спектру пригнічують нічну експресію мелатоніну і впливають на нічну експресію гена гонадотропіну у окуня звичайного (*Perca fluviatilis*). Під час дослідження риби протягом ночі піддавалися впливу світла з різними довжинами хвиль (синій, зелений і червоний). Концентрацію мелатоніну вимірювали в пробах води кожні 3 години протягом 24 годин. Експресію генів гонадотропінів визначали у окунів, які зазнали впливу різних кольорів світла і впливу білого світла різної інтенсивності (0 лк, 1 лк, 10 лк, 100 лк) протягом ночі.



Рис. 31. Річковий окунь (*Perca fluviatilis*) (<http://fishesofaustralia.net.au/home/species/3690>).

Отримані Bruning A. з колегами (2016) результати свідчать про те, що всі колірні промені викликали значне інгібування нічного синтезу мелатоніну. Однак - найменший ефект спостерігався після нічного впливу на риб блакитними променями спектру.

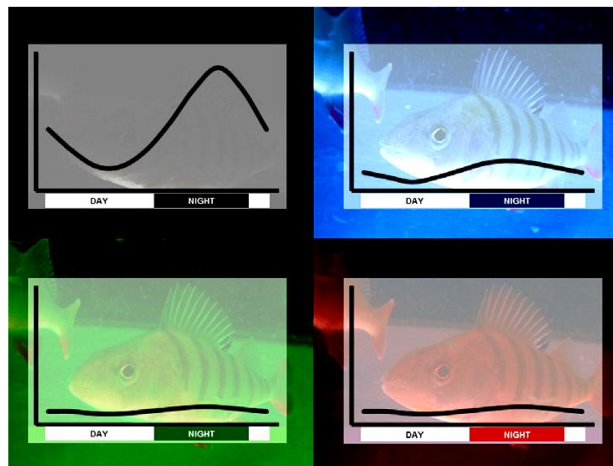


Рис. 32. Нічне освітлення окунів блакитним, зеленим або червоним світлом інгібувало синтез мелатоніну в порівнянні з його звичайним нічним рівнем синтезу. На графіках чорними кривими вказана інтенсивність синтезу мелатоніну в різний час доби (білий прямокутник - день, чорний прямокутник - ніч) в умовах нічної темряви (перший малюнок) або нічного освітлення світловими хвилями різної довжини (Bruning et al., 2016).

На інтенсивність експресії генів гонадотропінів - колір нічного освітлення не вплинув. Однак, у самок окуня експресія гена гонадотропіну була значно знижена нічним білим світлом вже при найнижчому рівні інтенсивності освітлення (1 лк).

Отримані авторами роботи дані свідчать про те, що нічне штучне освітлення з більш короткими довжинами хвиль менше порушує біологічні ритми окуня в порівнянні з більш довгими світловими хвилями. Крім того, біле штучне світло вночі викликає пригнічення експресії гена гонадотропіну, що може порушувати репродукцію окунів навіть при дуже низькій інтенсивності штучного освітлення. Таким чином, світлове забруднення не тільки порушує мелатоніновий цикл, але також і репродуктивний ритм і, отже, може впливати на цілі співтовариства видів (Bruning et al., 2016).

Робота в нічний час доби в умовах штучного нічного освітлення порушує роботу циркадіанного біологічного годинника і призводить до розвитку захворювань у людей.

Нічне освітлення і робота вночі призводять до порушення роботи циркадіанного годинника організму і, як наслідок, до розвитку хвороб. Була виявлена кореляція між роботою вночі і частотою розвитку ракових пухлин, діабету, ожиріння, серцево-судинних захворювань, депресії і т.н. Причиною є пригнічення нічним світлом синтезу мелатоніну, який регулює налаштування роботи організму на добові ритми (Touitou et al., 2017).

Лабораторним мишам підсаджували клітини ракових пухлин і піддавали мишей дії штучного нічного освітлення. Нічне світло різної спектральної композиції по-різному впливало на швидкість росту пухлин у мишей. Короткохвильове випромінювання вночі сильніше гальмувало синтез мелатоніну і сприяло розвитку у мишей пухлин і їх метастазуванню, а також супроводжувалося гіпометилуванням ДНК. Довгохвильове нічне випромінювання - пом'якшувало ці ефекти. Додавання мелатоніну - знімало ефект нічного освітлення. Таким чином, було встановлено, що короткохвильове нічне випромінювання блокує синтез мелатоніну, що змінює схему метилування ДНК і сприяє росту пухлин (Zubidat et al., 2018).

Проведені дослідження показали, що нічне освітлення порушує синтез мелатоніну і це впливає на епігенетичну настройку роботи ДНК. Наприклад, штучне нічне освітлення корелює зі зростанням кількості ракових захворювань. При цьому було показано, що робота одних генів активується (внаслідок гіпометилування, наприклад - робота онкогенів), тоді як робота інших генів – суттєво інгібується (внаслідок їх гіперметилування, наприклад, генів - пухлинних супресорів) (Haim & Zubidat, 2015). Штучне нічне освітлення змінює характер епігенетичних модифікацій не тільки онкогенів, але також і генів біологічного годинника, генів, що відповідають за метаболізм і ін. (Zubidat & Haim, 2017).

Нічне освітлення порушує відповідь сибірських хом'ячків на скорочення тривалості світлового дня. В умовах сезонних коливань умов життя, фотоперіодична регуляція фізіології, морфології і поведінки має вирішальне значення для виживання і своєчасного залишення потомства у багатьох тварин. Фотоперіодична відповідь у ссавців опосередковується нічною секрецією мелатоніну, яка знаходиться під контролем циркадіанного годинника. Однак, штучне освітлення вночі, пов'язане з урбанізацією, може порушити роботу циркадіанного годинника і фотоперіодичну відповідь організму внаслідок інгібування синтезу мелатоніну.

Ікено Т. з колегами (2014) досліджували вплив слабого штучного нічного освітлення на ритми рухової активності, на регуляцію репродукції, засновану на скороченні тривалості світлового дня, масу тіла і імунні реакції сибірських хом'ячків-самців.



Рис. 33. Сибірський хом'ячок (<https://www.google.com.ua/search?q=Siberian+hamsters>).

Тварини, експоновані на короткому світловому дні, зменшували масу гонад і масу тіла, зменшували кількість сперматозоїдів, линяли і змінювали шерсть на щільну білу зимову, в порівнянні з тваринами довгого дня. Однак тварини, які піддавалися впливу короткого світлового дня на тлі нічного штучного освітлення, - не показали вищеписаних сезонних відповідей. Крім того, специфічні імунні відповіді, характерні для тварин короткого дня, були змінені у тварин, експонованих в умовах короткий день + нічне освітлення.

Нічна картина рухової активності була пригнічена у хом'ячків, які піддавалися нічному впливу штучного освітлення, що відповідає спостереженню, згідно з яким нічне освітлення змінює експресію гена циркадіанного годинника *Period1*.

Крім того, Ікено Т. з колегами (2014) було показано, що рівні експресії генів, які беруть участь у фотоперіодичній відповіді (рецептора мелатоніну *Mel-1a*, *Eyes-3*, рецептора тиреотропного гормону, гонадотропін-рилізінг-гормону і гонадотропін-інгібуючого гормону), були вищими у тварин короткого світлового дня, експонованих в умовах нічного освітлення, в порівнянні з тваринами короткого світлового дня без нічного освітлення. Отримані результати свідчать про те, що штучне нічне освітлення порушує функцію циркадіанного годинника і впливає на молекулярні механізми фотоперіодичної відповіді тварин (Ikeno et al., 2014).

12.2. Практична робота

Завдання 1. Інвазивні азіатські москїти змогли заселити територію США завдяки підстроюванню свого сезонного біологічного годинника. Фотоперіодизм - це адаптивне підстроювання роботи живих організмів до добових і сезонних ритмів зміни тривалості світлового дня і ночі. Відомо, що розвиток москїтів контролюється умовами навколишнього середовища. Одним з критичних чинників цього контролю - є довжина світлового дня (тобто має місце фотоперіодичний контроль сезонного розвитку москїтів і їх сезонного входу в стан діапаузи).

Urbanski J. з колегами (2012) було проведено порівняння історичних даних з результатами сучасних досліджень по широтній зміні фотоперіодичної відповіді серед японських і американських популяцій інвазивного азіатського тигрового москїта *Aedes albopictus*.



Рис. 1. Тигровий москіт *Aedes albopictus* (за https://ru.wikipedia.org/wiki/Aedes_albopictus).

Азіатські тигрові москіти вселилися на територію США в 1985 році з вантажем зношених шин, який прибув з кораблями з помірної кліматичної зони Японії. Тигрові москіти швидко поширилися по території США і заселили не лише географічні широти, характерні для вихідної азіатської популяції москітів, але також просунулися ще на 15 градусів широти.

У багатьох членистоногих, які мешкають в помірній кліматичній зоні, фотоперіодична діапauза є адаптивним механізмом, який забезпечує координацію росту, розвитку і дозрівання організмів в сезонно мінливих умовах навколишнього середовища. Величина критичного фотоперіоду (СРР) - це кількість годин світла, необхідних для індукції діапauзи у 50% організмів, що входять до складу популяції. У Північній півкулі величина критичного фотоперіоду зростає з півдня на північ у різних груп комах, що відображає локальну адаптацію до раннього настання зими в більш північних регіонах в порівнянні з більш південними широтами. Крім того, важливим показником, що характеризує вхід комах в стан діапauзи, є відсоток особин, які увійшли в діапauзу. Цей показник у комах також змінюється з широтою місцевості.

Для аналізу змін величини критичного фотоперіоду у тигрових москітів - автори роботи змогли порівняти дані за 1985-1988 рр, зібрані на територіях США і Японії, з даними, отриманими через 20 років для цих же територій (2005-2008 рр). Для показника частоти входження в діапauзу - авторами роботи були використані дані, зібрані в 1998, 2000-2008 рр. Зібрані дані були використані для відповіді на питання: чи мала місце адаптивна еволюція фотоперіодизму (показника величини критичного фотоперіоду і частоти входження в діапauзу) у тигрових москітів після їх розселення на території США після 1985 року?

Отримані Urbanski J. з колегами (2012) результати свідчать про те, що після вселення на територію США, азіатські тигрові москіти адаптували свою фотоперіодичну відповідь і розширили географічні рамки свого проживання на 15° широти в порівнянні з вихідними азіатськими популяціями москітів. Таким чином, було встановлено, що фотоперіодизм відіграє важливу роль в адаптації організмів до зміни кліматичних умов середовища проживання. Крім того, отримані Urbanski J. з колегами (2012) результати також підкреслюють, що фотоперіодизм відіграє важливу роль в адаптивній еволюції інвазивних видів (Urbanski et al., 2012).

Результати досліджень, проведених Urbanski J. з колегами (2012), наведені на рисунках 2-3.

1) Що таке фотоперіодизм? _____

2) Яку роль виконує фотоперіодизм в житті комах і, зокрема, в житті москітів?

Для чого москіти входять в стан сезонної діапauзи? _____

3) Що таке величина критичного фотоперіоду? _____

4) Використовуючи дані рисунка, вкажіть величину критичного фотоперіоду для тигрових москітів, які проживали на території Японії в 1988 році на 26°N північної широти _____ і на 38°N північної широти _____.

Поясніть, чому в більш північних широтах москіти входять в стан діапаузи при більшій довжині світлового дня, в порівнянні з більш південними широтами? _____

5) Вкажіть величину критичного фотоперіоду для тигрових москітів, які проживали на території США в 1988 році на 26°N північної широти _____ і на 38°N північної широти _____.

Як Ви вважаєте, чому величина критичного фотоперіоду у москітів, які проживали на різних широтах - виявилася однаковою? (Для відповіді на це питання згадайте, що тигрові москіти були завезені в США з Японії тільки в 1985 р) _____

6) Вкажіть величину критичного фотоперіоду для тигрових москітів, які проживали на території США на 26°N північної широти в 1988 році _____ і в 2008 р _____.

Як Ви вважаєте, чому величина критичного фотоперіоду після 20 років проживання тигрових москітів на 26°N північної широти достовірно знизилася? _____

Яку перевагу отримують комахи, у яких внутрішні біоритми узгоджуються з зовнішніми сезонними ритмами навколишнього середовища? _____

7) Використовуючи дані рисунка, вкажіть частоту входу тигрових москітів в діапаузу, для москітів, які проживали на території США на 28°N північної широти 2000 року _____ і в 2008 році _____.

Як Ви вважаєте, чому в теплих широтах частота входу москітів в стан діапаузи знизилася в інтервалі з 2000 р по 2008 р? _____

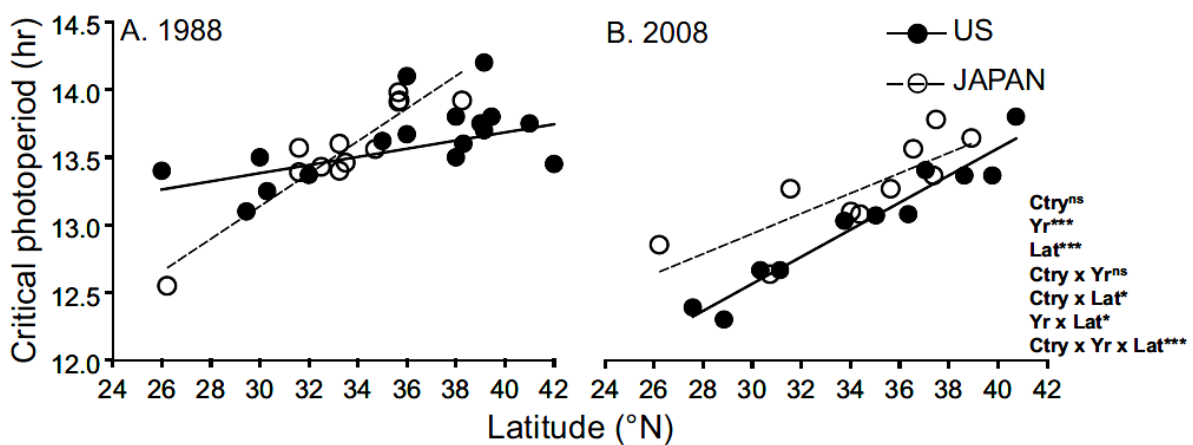


Рис. 2. Величина критичного фотоперіоду для популяцій тигрових москітів *Aedes albopictus*, що мешкали на території США і Японії в 1988 р (А) і в 2008 р. (В). Де: по осі ОУ - величина критичного фотоперіоду, години (Critical photoperiod, hr); по осі ОХ - широта місцевості, градуси північної широти, °N (Latitude, °N); US – територія США; Japan - територія Японії (Urbanski et al., 2012).

8) Чи мала місце адаптивна еволюція фотоперіодизму (показника величини критичного фотоперіоду і частоти входження в діапаузу) у тигрових москітів після їх розселення на території США після 1985 року? _____

9) На підставі отриманих результатів, припустіть, чим може пояснюватися інвазивність (агресивне розселення чужорідних видів на нових територіях) азіатських тигрових москітів на території США? _____

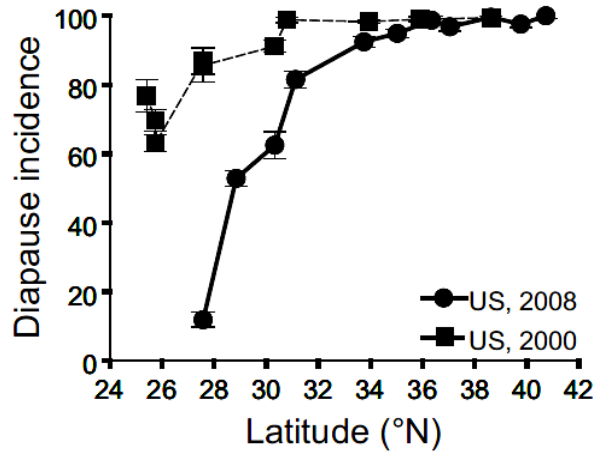


Рис. 3. Залежність частоти входу тигрових москітів *Aedes albopictus* в діапаузу від широти місцевості їх проживання. Де: по осі ОУ - частота входу тигрових москітів в діапаузу, (Diapause incidence); по осі ОХ - широта місцевості, градуси північної широти, °N (Latitude, °N); US – територія США (Urbanski et al., 2012).

Завдання 2. Вплив короткого світлового дня і низьких температур на новонароджених хом'ячків знижує їх чутливість до стресових факторів середовища. Проведені Benderlioglu Z. з колегами (2007) дослідження показали, що вплив короткого світлового дня і низьких температур на новонароджених сибірських джунгарських хом'ячків *Phodopus sungorus* - знижує їх чутливість до стресових факторів навколишнього середовища (тільки у самок) і зменшує рівень флуктуаційної асиметрії їх організму.

*NB! Флуктуаційна асиметрія відображає випадкові неспрямовані відхилення від білатеральної симетрії морфологічних властивостей організму. Особи з низьким рівнем флуктуаційної асиметрії або проходять свій розвиток в стабільних умовах навколишнього середовища, або здатні більш ефективно буферувати стресори навколишнього середовища.



Рис. 4. Джунгарський хом'ячок (*Phodopus sungorus*) (<https://www.inaturalist.org/photos/>).

Рівень стресованості тварин Benderlioglu Z. з колегами (2007) оцінювали за рівнем кортизолу в крові. Відмінності в рівні кортизолу до дії стресора і після дії стресора були мінімальними для самок, яких вирощували на короткому світловому дні і при низьких температурах (Benderlioglu et al., 2007).

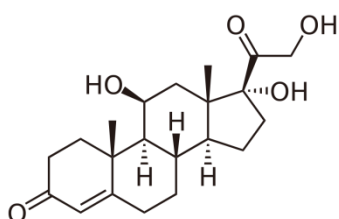


Рис. 5. Кортизол - це гормон, який бере участь в розвитку стресових реакцій організму. Для кортизолу характерний добовий ритм секреції: мінімальна концентрація відзначається в вечірні, а максимальна в ранкові години. Основна функція цього гормону - збереження енергетичних ресурсів організму (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Результати досліджень Benderlioglu Z. з колегами (2007) наведені на рисунку 6.

1) Яку функцію виконує кортизол в організмі тварин? _____

2) Рівень стресової відповіді хом'ячків оцінювали по зростанню вмісту кортизолу в крові тварин після впливу стресу. Вкажіть відсоток зростання концентрації кортизолу в крові хом'ячків після впливу стресу при вирощуванні тварин: при довгому світловому дні і температурі +21°C _____, при короткому світловому дні і температурі +21°C _____.

3) При якій довжині світлового дня рівень стресової відповіді хом'ячків був сильнішим? _____

4) Вкажіть відсоток зростання концентрації кортизолу в крові хом'ячків після впливу стресу при вирощуванні тварин: при довгому світловому дні і температурі +21°C _____, при довгому світловому дні і температурі +8°C _____.

5) Вкажіть відсоток зростання концентрації кортизолу в крові хом'ячків після впливу стресу при вирощуванні тварин: при короткому світловому дні і температурі +21°C _____, при короткому світловому дні і температурі +8°C _____.

6) При якій температурі навколишнього середовища рівень стресової відповіді хом'ячків був сильнішим? _____

7) При якій довжині світлового дня і температурі навколишнього середовища рівень стресової відповіді хом'ячків був мінімальним? _____

8) Як Ви вважаєте, яке адаптивне значення має те, що при короткому світловому дні і низьких температурах рівень стресової відповіді організму є мінімальним? _____

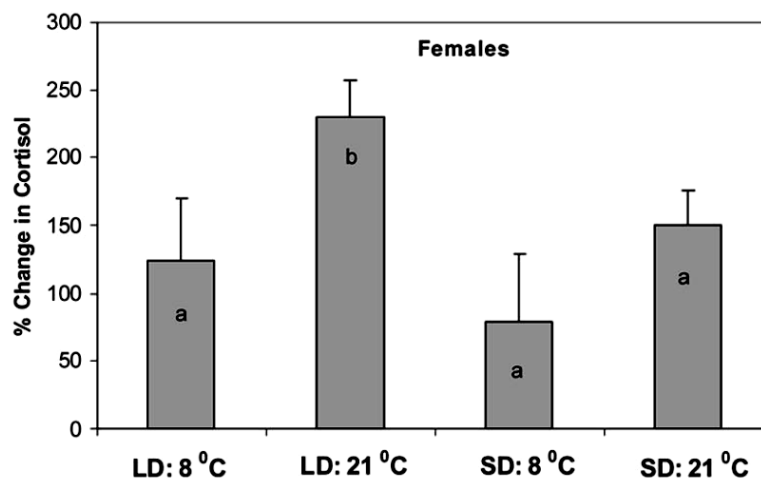


Рис. 6. Зміна вмісту кортизолу в організмі хом'ячків (самки) в залежності від умов вирощування тварин. Де: по осі ОУ - процентна зміна вмісту кортизолу в крові хом'ячків після стресу, % (% Change in Cortizol); по осі ОХ - умови вирощування новонароджених хом'ячків: LD, Long Day - довгий світловий день (16 год світло: 8 год темрява); SD, Short Day - короткий світловий день (8 год світло: 16 год темрява); +8°C +21°C – температура вирощування хом'ячків (Benderlioglu et al., 2007).

Контрольні питання:

1. Типи біологічних ритмів організмів. Необхідність біологічних ритмів для існування організмів і популяцій.
2. Механізм генерування добового циркадіанного ритму центральним біологічним годинником організмів.

3. Механізми підстроювання роботи циркадіанного і сезонного біологічних годинників до умов навколишнього середовища.

4. Наслідки порушення роботи циркадіанних та сезонних біологічних годинників для організмів і популяцій.

Література:

Benderlioglu Z., Dow E., Pyter L.M. Neonatal exposure to short days and low temperatures blunts stress response and yields low fluctuating asymmetry in Siberian hamsters // *Physiol. Behav.* – 2007. – Vol. 90(2-3). – P. 459 - 465.

Bennie J., Davies T.W., Cruse D., Inger R., Gaston K.J. Cascading effects of artificial light at night: resource-mediated control of herbivores in a grassland ecosystem // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 2015. – Vol. 370(1667). pii: 20140131. doi: 10.1098/rstb.2014.0131.

Bolton D., Mayer-Pinto M., Clark G.F., Dafforn K.A., Brassil W.A., Becker A., Johnston E.L. Coastal urban lighting has ecological consequences for multiple trophic levels under the sea // *Sci. Total. Environ.* – 2017. – Vol. 576. – P. 1 - 9. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.037.

Borges R.M. Dark Matters: Challenges of Nocturnal Communication Between Plants and Animals in Delivery of Pollination Services // *Yale J. Biol. Med.* – 2018. – Vol. 91(1). – P. 33 - 42.

Bruning A., Holker F., Franke S., Kleiner W., Kloas W. Impact of different colours of artificial light at night on melatonin rhythm and gene expression of gonadotropins in European perch // *Sci. Total. Environ.* – 2016. – Vol. 543(PtA). – P. 214 - 222. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.11.023.

Davies T.W., Coleman M., Griffith K.M., Jenkins S.R. Night-time lighting alters the composition of marine epifaunal communities // *Biol. Lett.* – 2015. – Vol. 11(4):20150080. doi: 10.1098/rsbl.2015.0080.

Durrant J., Green M.P., Jones T.M. Dim artificial light at night reduces the cellular immune response of the black field cricket, *Teleogryllus commodus* // *Insect. Sci.* – 2019. doi: 10.1111/1744-7917.12665.

Falchi F., Cinzano P., Duriscoe D., Kyba C.C., Elvidge C.D., et al. The new world atlas of artificial night sky brightness // *Sci. Adv.* – 2016. – Vol. 2(6):e1600377. doi: 10.1126/sciadv.1600377.

Grubisic M., van Grunsven R.H.A., Manfrin A., Monaghan M.T., Hölker F. A transition to white LED increases ecological impacts of nocturnal illumination on aquatic primary producers in a lowland agricultural drainage ditch // *Environ. Pollut.* – 2018. – Vol. 240. – P. 630 - 638. doi: 10.1016/j.envpol.2018.04.146.

Haim A., Zubidat A.E. Artificial light at night: melatonin as a mediator between the environment and epigenome // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 2015. – Vol. 370(1667). pii: 20140121. doi: 10.1098/rstb.2014.0121.

Honnen A.C., Johnston P.R., Monaghan M.T. Sex-specific gene expression in the mosquito *Culex pipiens* f. *molestus* in response to artificial light at night // *BMC Genomics.* – 2016. – Vol. 17:22. doi: 10.1186/s12864-015-2336-0.

Horesh S.J., Sivan J., Rosenstrauch A., Tesler I., Degen A.A., Kam M. Seasonal biotic and abiotic factors affecting hunting strategy in free-living Saharan sand vipers, *Cerastes vipera* // *Behav. Processes.* – 2017. – Vol. 135. – P. 40 - 44. doi: 10.1016/j.beproc.2016.11.013.

Hu Z., Hu H., Huang Y. Association between nighttime artificial light pollution and sea turtle nest density along Florida coast: A geospatial study using VIIRS remote sensing data // *Environ. Pollut.* – 2018. – Vol. 239. – P. 30 - 42. doi: 10.1016/j.envpol.2018.04.021.

Ikeno T., Weil Z.M., Nelson R.J. Dim light at night disrupts the short-day response in Siberian hamsters // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 197. – P. 56 - 64. doi: 10.1016/j.ygcen.2013.12.005.

Knop E., Zoller L., Ryser R., Gerpe C., Horler M., Fontaine C. Artificial light at night as a new threat to pollination // *Nature.* – 2017. – Vol. 548(7666). – P. 206 - 209. doi: 10.1038/nature23288.

Le Trionnaire G., Francis F., Jaubert-Possamai S., Bonhomme J., De Pauw E., et al. Transcriptomic and proteomic analyses of seasonal photoperiodism in the pea aphid // *BMC Genomics.* – 2009. – Vol. 10:456. doi: 10.1186/1471-2164-10-456.

Longcore T., Aldern H.L., Eggers J.F., Flores S., Franco L., et al. Tuning the white light spectrum of light emitting diode lamps to reduce attraction of nocturnal arthropods // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 2015. – Vol. 370(1667). pii: 20140125. doi: 10.1098/rstb.2014.0125.

Newman R.C., Ellis T., Davison P.I., Ives M.J., Thomas R.J., Griffiths S.W., Riley W.D. Using novel methodologies to examine the impact of artificial light at night on the cortisol stress response in dispersing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry // *Conserv. Physiol.* – 2015. – Vol. 3(1):cov051. doi: 10.1093/conphys/cov051.

Pawson S.M., Bader M.K.-F. LED lighting increases the ecological impact of light pollution irrespective of color temperature // *Ecol. Appl.* – 2014. – Vol. 24(7). – P. 1561 - 1568.

- Pegoraro M., Bafna A., Davies N.J., Shuker D.M., Tauber E. DNA methylation changes induced by long and short photoperiods in *Nasonia* // *Genome Res.* – 2016. – Vol. 26(2). – P. 203 - 210. doi: 10.1101/gr.196204.115.
- Robert K.A., Lesku J.A., Partecke J., Chambers B. Artificial light at night desynchronizes strictly seasonal reproduction in a wild mammal // *Proc. Biol. Sci.* – 2015. – Vol. 282(1816):20151745. doi: 10.1098/rspb.2015.1745.
- Russ A., Reitemeier S., Weissmann A., Gottschalk J., Einspanier A., Klenke R. Seasonal and urban effects on the endocrinology of a wild passerine // *Ecol. Evol.* – 2015. – Vol. 5(23). – P. 5698 - 5710. doi: 10.1002/ece3.1820.
- Russart K.L.G., Nelson R.J. Artificial light at night alters behavior in laboratory and wild animals // *J. Exp. Zool. A. Ecol. Integr. Physiol.* – 2018. – Vol. 329(8-9). – P. 401 - 408. doi: 10.1002/jez.2173.
- Stevenson T.J., Prendergast B.J. Reversible DNA methylation regulates seasonal photoperiodic time measurement // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – Vol. 110(41). – P. 16651-16656. doi: 10.1073/pnas.1310643110.
- Sullivan S.M.P., Hossler K., Meyer L.A. Artificial lighting at night alters aquatic-riparian invertebrate food webs // *Ecol. Appl.* – 2019. – Vol. 29(1):e01821. doi: 10.1002/eap.1821.
- Tian F., Liu S., Shi J., Qi H., Zhao K., Xie B. Transcriptomic profiling reveals molecular regulation of seasonal reproduction in Tibetan highland fish, *Gymnocypris przewalskii* // *BMC Genomics.* – 2019. – Vol. 20(1):2. doi: 10.1186/s12864-018-5358-6.
- Touitou Y., Reinberg A., Touitou D. Association between light at night, melatonin secretion, sleep deprivation, and the internal clock: Health impacts and mechanisms of circadian disruption // *Life Sci.* – 2017. – Vol. 173. – P. 94 - 106. doi: 10.1016/j.lfs.2017.02.008.
- Touzot M., Teulier L., Lengagne T., Secondi J., They M., Libourel P.A., Guillard L., Mondy N. Artificial light at night disturbs the activity and energy allocation of the common toad during the breeding period // *Conserv. Physiol.* – 2019. – Vol. 7(1):coz002. doi: 10.1093/conphys/coz002.
- Urbanski J., Mogi M., O'Donnell D., DeCotiis M., Toma T., Armbruster P. Rapid adaptive evolution of photoperiodic response during invasion and range expansion across a climatic gradient // *Am. Nat.* – 2012. – Vol. 179(4). – P. 490 - 500. doi: 10.1086/664709.
- van Geffen K.G., van Grunsven R.H., van Ruijven J., Berendse F., Veenendaal E.M. Artificial light at night causes diapause inhibition and sex-specific life history changes in a moth // *Ecol. Evol.* – 2014. – Vol. 4(11). – P. 2082 - 2089. doi: 10.1002/ece3.1090.
- Zubidat A.E., Fares B., Fares F., Haim A. Artificial Light at Night of Different Spectral Compositions Differentially Affects Tumor Growth in Mice: Interaction With Melatonin and Epigenetic Pathways // *Cancer Control.* – 2018. – Vol. 25(1):1073274818812908. doi: 10.1177/1073274818812908.
- Zubidat A.E., Haim A. Artificial light-at-night - a novel lifestyle risk factor for metabolic disorder and cancer morbidity // *J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 28(4). – P. 295 - 313. doi: 10.1515/jbcpp-2016-0116.

**Тема 13. Типи взаємовідносин між організмами різних видів. Хижацтво.
Паразитизм. Мутуалізм.**

13.1. Практична робота

Частина 1. Взаємовідносини хижак-жертва в екосистемах

Завдання 1. Екологічне правило саморегулювання в системі хижак - жертва.

Проаналізуйте графік зміни чисельності північно-американських снігових зайців і їх основного хижака - канадської рисі за період 1845 - 1935 рр. і дайте відповіді на наступні питання:

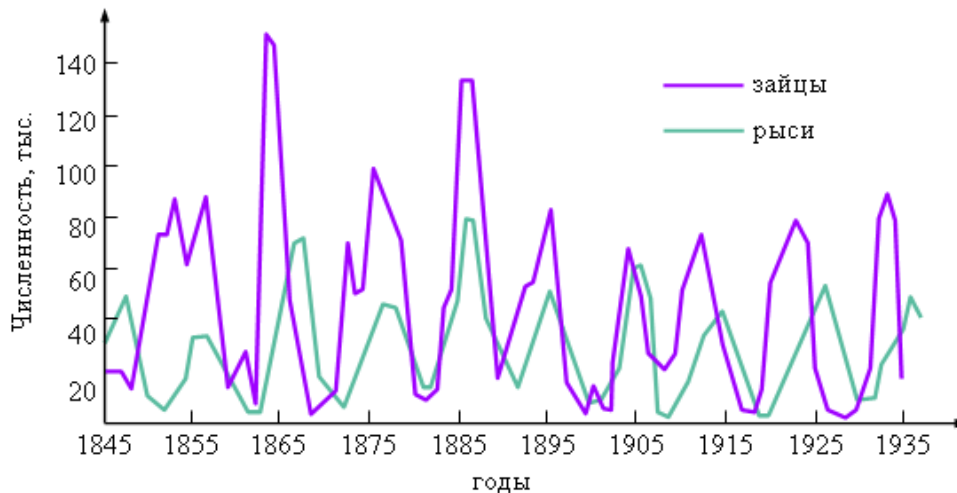


Рис. 1. Зміни чисельності популяцій північно-американського снігового зайця і його основного хижака - канадської рисі в період з 1845 по 1935 рр. (за http://cs.muotr.ru/html/1/lek1_6_3.html).

- 1) Перерахуйте роки з максимальною чисельністю особин в популяції снігового зайця: _____.
- 2) Якою може бути причина зростання чисельності особин в популяції зайців, якщо відомо, що це - травоядні тварини? _____.
- 3) Перерахуйте роки з максимальною чисельністю особин канадської рисі: _____.
- 4) Якою може бути причина зростання чисельності особин канадської рисі? _____.
- 5) Збігаються чи ні роки з максимальною чисельністю зайців і рисі? _____.
- 6) Чому, як правило, спочатку збільшується популяція зайців, а потім - популяція рисі? _____.
- 7) Що відбувається з чисельністю популяції зайців після зростання чисельності популяції рисі? _____.
- 8) Відповідно до правила трофічної піраміди - яким має бути співвідношення між біомасою зайців і рисі в екосистемі, для того, щоб екосистема була стабільною? _____.
- 9) З чим пов'язана така структура трофічної піраміди? _____.

10) Впишіть в таблицю ланки трофічної піраміди (для повночленної екосистеми):

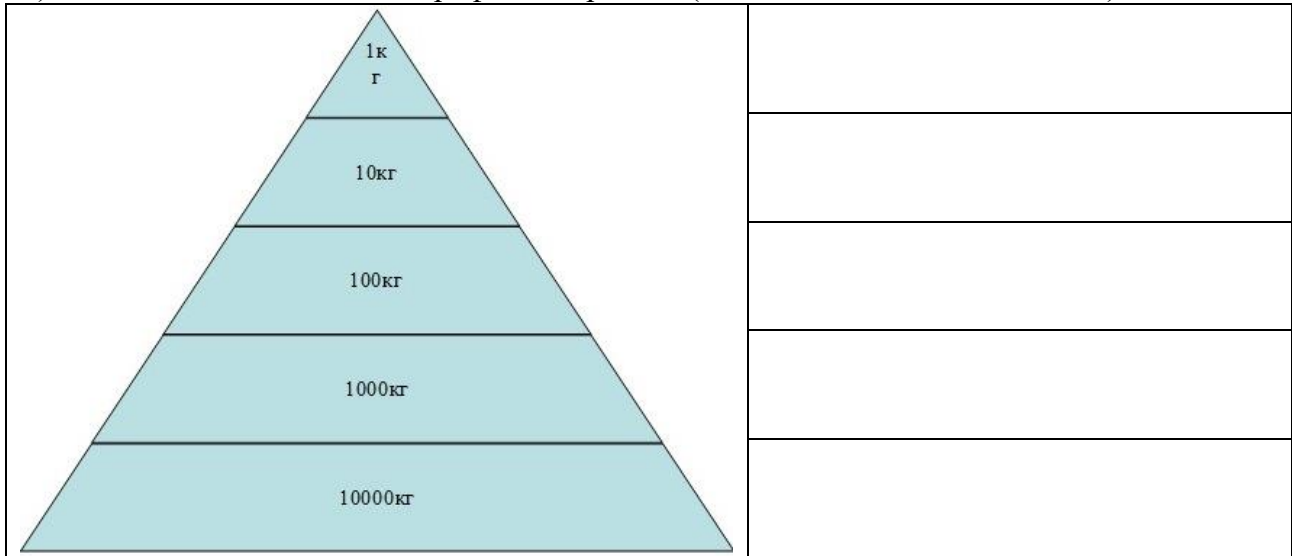


Рис. 2. Трофічна піраміда (за https://yandex.fr/images/search?img_url).

11) Сформулюйте екологічне правило саморегулювання в системі хижак-жертва: _____

12) Вважають, що однією з причин масового вимирання видів в пізньому Девоні - стало перевантаження системи хижак-жертва. Виходячи з правила саморегулювання системи «хижак-жертва», як Ви вважаєте, чи можливо в природних екосистемах абсолютне знищення хижаків всіх жертв і потім вимирання самих хижаків від голоду? _____

*NB! Подальші палеоекологічні дослідження показали, що стародавні безщелепні рибоподібні (фільтратори за типом харчування) поступово вимерли в пізньому Девоні не через тиск хижих риб, а були конкурентно витіснені ракоскорпіонами-фільтраторами.

Завдання 2. Захисне забарвлення організмів і тиск в системі «хижак-жертва».

1) Як Ви розумієте, що таке «захисне забарвлення»? _____

2) Наведіть приклади захисного забарвлення організмів в системі «хижак-жертва»: _____

3) Однією з важливих адаптацій в системі хижак-жертва для тварин, що мешкають на територіях із сезонним кліматом, - є зміна забарвлення шерсті. Поясніть, як дана адаптація може вплинути на чисельність особин в популяціях жертв і хижаків? _____

4) До настання зими - північно-американський сніговий заєць линяє, при цьому нова шерсть має біле забарвлення. Використовуючи знання про механізм роботи сезонного біологічного годинника, вкажіть, які сигнали навколишнього середовища запускають механізм зміни шерстного покриву у снігових зайців? _____

*NB! Біла шерсть формується в результаті відключення роботи генів, які відповідають за синтез пігментів, що забарвлюють шерсть.

5) Чому у тварин, що мешкають за полярним колом, забарвлення шерсті завжди залишається білим (і взимку, і влітку)? _____

6) Як Ви вважаєте, в умовах глобального потепління клімату і зміщення кліматичної снігової лінії до полюсів, чи зможуть тварини, у яких постійно шерсть має біле забарвлення (тобто у яких постійно відключені гени, що відповідають за синтез пігменту), знову включити програму сезонної зміни забарвлення шерсті? _____



А



Б

Рис. 3. А – Літнє забарвлення шерсті; Б - зимове забарвлення шерсті у північно-американського снігового зайця (*Lepus americanus*) (за https://en.wikipedia.org/wiki/Snowshoe_hare). Основний хижак, який полює на снігових зайців, - канадська рись. У рисі до літа - шерсть стає більш рудою, а до зими - світлішає.



Рис. 4. Канадська рись (*Lynx canadensis*) (<https://en.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 5. Білий ведмідь. Має біле забарвлення шерсті через постійне відключення генів, що відповідають за синтез пігменту шерсті (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Завдання 4. Екологічне правило «гонки озброєнь» між хижаками і їх жертвами.

- 1) Наведіть приклади пристосувань у організмів для самозахисту від нападу хижаків: _____.
- 2) Наведіть приклади пристосувань у хижаків для пошуку і нападу на жертву: _____.
- 3) Відомі численні приклади «гонки озброєнь» між хижаками і їх жертвами:
 - а) поява ехолокації у кажанів - призвела до появи у деяких нічних метеликів здатності заглушати ультразвуковий сигнал кажанів;



Рис. 6. Під час полювання в темряві кажани видають ультразвуки, які відбиваються від комах, що спрямовує політ миші до жертви (<http://prikol.bigmir.net/ua/view/>).



Рис. 7. Метелики совки (*Ambulyx pryeri*) - придбали здатність генерувати ультразвук у відповідь на ультразвуковий сигнал летючих мишей, що збиває маршрут хижака (https://en.wikipedia.org/wiki/Ambulyx_pryeri).

б) у молюсків конусів в геномі знайдено велику кількість генів для синтезу різних токсинів; причина такого різноманіття не тільки різна видова чутливість до цих отрут жертв, які відносяться до різних біологічних видів, але і придбання жертвами стійкості до отрути молюсків-конусів;

в) поява токсичних шкірних виділень у тритонів (*Taricha* spp.) - призвела до появи у під'язкових змії (*Thamnophis sirtalis*), які полюють на цих тритонів, стійкості до даної отрути;



Рис. 8. Шкірні виділення тритонів (*Taricha* spp.) є токсичними (https://en.wikipedia.org/wiki/Rough-skinned_newt).



Рис. 9. Під'язкові змії (*Thamnophis sirtalis*) придбали стійкість до отрути цих тритонів (<https://en.wikipedia.org/wiki/>).

г) поява на кордоні між Ордовиком і Силуром у риб щелеп - спричинила появу захисних панцирів, шипів, колючок і т.п. у багатьох груп організмів (у трилобітів, у морських лілій, у безщелепних рибоподібних і у самих риб) і т.н.

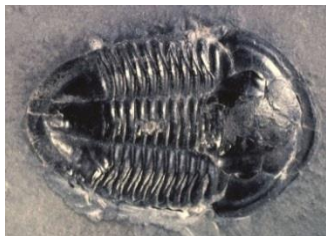


Рис. 10. Кембрійські і Ордовицькі трилобіти не мали екзотичних виростів тіла (<http://drydredgers.org/billwhite/>).



Рис. 11. Посилення тиску хижаків призвело до появи в Силурі-Девоні трилобітів, «озброєних» виростами тіла. Девон (<http://www.fossilmuseum.net/>).

Спробуйте сформулювати екологічне правило «гонки озброєнь» в системі «хижак-жертва»: _____

Завдання 5. Наслідки зняття тиску в системі «хижак-жертва».

1) У Неогеновому періоді в результаті зростання рівня моря на острові Мінорка в Середземному морі опинилися в ізоляції кролики. В умовах відсутності тиску хижаків - ці кролики набули гігантських розмірів (до 25 кг), втратили довгі чутливі вуха, втратили гнучкість хребта, яка дозволяла їм стрибати на великі відстані, і т.н. В результаті - з'явився новий вид кроликів: гігантські кролики-нуралагуси. Поясніть, чому на континенті не міг з'явитися такий вид кроликів? _____

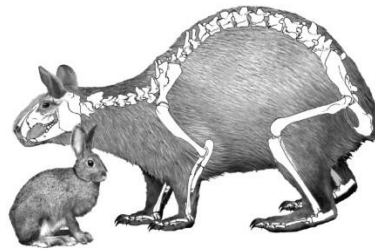


Рис. 12. Порівняння розмірів сучасного європейського кролика (*Oryctolagus cuniculus*) і Неогенового гігантського кролика (*Nuralagus rex*) з острова Мінорка (Іспанія) (за <http://www.wired.com/2011/03/night-of-the-nuralagus-rex/>; Quintanaa et al., 2011).

2) На кордоні Крейда-Палеоген після термінального Крейдяного вимирання динозаврів з'явилося багато груп нелітаючих птахів, які не тільки втратили здатність до польоту, але і придбали гігантські розміри (до 3 м) (страуси, ему, ківі, моа і ін). Поясніть, чому на кордоні Крейда-Палеоген могли з'явитися такі групи птахів? _____

3) У 18 столітті на острів Маврикій прибули кораблі з Європи. З трюмів на сушу потрапили корабельні щури, які розселилися на острові і через деякий час повністю знищили нелітаючих птахів-дронтів. Поясніть, чому на континенті присутність в екосистемах щурів не призводить до таких драматичних наслідків? _____

Як Ви вважаєте, цей приклад не суперечить екологічному правилу динамічної рівноваги в системі «хижак-жертва»? _____



Рис. 13. Нелітаючий птах маврикійський дронт (*Raphus cucullatus*) з острова Маврикій. Ці птахи були повністю знищені щурами до 1662 р. (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

4) Завезення в Австралію першими поселенцями кроликів - призвело до їх катастрофічного розмноження і розселення по всьому континенту. Кролики стали справжнім лихом для екосистем Австралії: вони знищили більшу частину рослинності континенту. Поясніть, чому в Європі і на інших континентах присутність кроликів в екосистемах не призводить до таких катастрофічних наслідків? _____

Завдання 6. Канібалізм. Канібалізм - це внутрішньовидове хижацтво (тобто поїдання своїх родичів, свого потомства і т.н.). Виявлено у більш ніж в 1300 видів тварин.

1) Як Ви вважаєте, якими є можливі причини появи канібалізму у тварин? _____

*NB! Цікаво відзначити, що у багатьох тварин канібалізм має місце і при достатній кількості їжі. Наприклад, у риб та інших мешканців водойм і т.п. Крім того, у нехижких комах теж виявили канібалізм. Наприклад, твердокрилі (Жуки, *Coleoptera*) і Лускокрилі (Метелики, *Lepidoptera*) - поїдають свої яйця. Таким чином, канібалізм - це метод регулювання чисельності популяції не тільки серед хижаків, а й серед рослиноїдних тварин, і один із проявів внутрішньовидової конкуренції.



Рис. 14. Три цвіркуна-мормона поїдають четвертого цвіркуна-мормона (за <https://www.myplanet-ua.com/zhivotnyie-kannibalyi/>).



Рис. 15. Самка павука каракурта (т.зв. «чорна вдова») - з'їдає самця після запліднення (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Частина 2. Типи взаємодій між популяціями: конкуренція, кооперація, симбіоз.

Симбіоз – це будь-який тип тривалої взаємодії між організмами різних видів. Розрізняють такі типи симбіозу:

- мутуалізм (взаємовигідна взаємодія організмів різних видів);

Наприклад, мікоризні гриби і корені рослин; мікрофлора кишечника і рослиноїдні тварини, блаттгабактерії в клітинах тарганів і т.н.;

- коменсалізм (система взаємовідносин між різними видами організмів, за якої одному виду добре, а іншому - все одно);

Наприклад: на поверхні тіла людини і всередині організму мешкає багато різних бактерій і грибів, які живуть за рахунок людини, але не завдають їй шкоди; проте, якщо людина ослаблена хворобами, то такі підселенці - спроможні стати паразитами, небезпечними для здоров'я людини. До таких бактерій відносяться бактерії золотистого стафілокока (*Staphylococcus aureus*), що живуть на поверхні шкіри людини, гриби аспергілуси (*Aspergillus*), які живуть у верхніх відділах шлунково-кишкового тракту і т.н.

- аменсалізм (система взаємовідносин між різними видами організмів, за якої одному виду все одно, а іншому - погано);

Наприклад, більш крупний організм використовує всі ресурси, що призводить до голодування дрібнішого організму; організм виділяє в процесі життєдіяльності речовини, токсичні для організму іншого виду і т.н.



Рис. 18. Бактерії золотистого стафілокока (*Staphylococcus aureus*) під мікроскопом (за <https://yandex.ua/images/search?rdrnd>).



Рис. 19. Корені чорного волоського горіха виділяють хімічну речовину, яка шкодить сусіднім рослинам (за <https://en.wikipedia.org/wiki/Symbiosis#Amensalism>).

- паразитизм (система взаємовідносин між різними видами організмів, за якої одному виду добре, а іншому - погано);

Наприклад, мікогетеротрофія (паразитивання рослин на грибах); паразитування грибів на рослинах, рослин на рослинах, тварин на рослинах і т.н. (за <https://en.wikipedia.org/wiki/Symbiosis>).

Екологи вважають, що при тісних взаємовідносинах між різними видами - неможливо зі 100% упевненістю стверджувати, що взаємини - байдужі. Більш глибокий аналіз, як правило, показує, що будь-які, на вигляд «нейтральні» відносини, по суті, виявляються або паразитичними, або мутуалістичними.

Наприклад, якщо «вигнати» аспергил і золотистий стафілокок з організму людини - то це може відкрити ворота для підселення інших бактерій і грибів, які можуть виявитися патогенними. Один із прикладів аменсалізму: виділення токсину організмом одного виду - шкодить іншим організмам. Але, не дарма ці токсини виділяються! Тобто, вочевидь, це одна з активних форм витіснення видів, що конкурують за подібні ресурси.

Завдання 1. Конкуренція і кооперація між організмами.

Проаналізуйте дані таблиці «Приклади летючих органічних речовин...».

1) Вкажіть, як впливають хімічні речовини, які продукують гриби і бактерії, на життєдіяльність інших організмів? _____

2) Використовуючи таблицю «Типи міжвидових біотичних взаємодій» (див. нижче), встановіть тип взаємодії між організмами в кожному з варіантів експерименту.

Таблиця. Приклади летючих органічних речовин, які утворюються грибами і бактеріями, і їх вплив на інші організми (за «Біологія ґрунтів»).

Організм продуцент:	Летючі органічні речовини, які продукує організм:	Організм, на якому перевіряли дію летючих органічних речовин:	Характер впливу:
Гриби: <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i>	Альдегіди, спирти, органічні кислоти, ефіри	Гриби: <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Cunninghamella elegans</i>	Пригнічують проростання спор
Гриб <i>Trichoderma sp.</i>	Ацетальдегід, етанол, ацетон, етилен	Різні гриби і бактерії	Пригнічують ріст грибів, не впливають на бактерії
Гриби: <i>Phomes scutellatus</i> , <i>Marasmius oreacles</i> , <i>Pholiota aurea</i> , <i>Clitocybe geotropa</i>	Ціаністий водень	Різні гриби і бактерії	Пригнічують ріст і спорування деяких грибів, зазвичай не впливають на бактерії
Гриб <i>Aureobasidium pullulans</i>	Етанол	Гриб <i>Armillaria mellea</i>	Стимулює утворення різформ
Бактерії: <i>Agrobacterium radiobacter</i> , <i>A. rhizogenes</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	Не ідентифіковані	Гриби: <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. conglutinans</i> , <i>Gelasinospora cerealis</i> , <i>Penicillium viridicatum</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Zygorhynchus vuilleminii</i>	Пригнічують ріст і спорування у грибів, викликають зміни в морфології колоній і гіфів грибів

Таблиця. Типи міжвидових біотичних взаємодій («Біологія ґрунтів»).

Тип взаємодії:	Види:		Загальний характер взаємодії:
	1	2	
1. Нейтралізм	0	0	Популяції не впливають одна на одну
2. Конкуренція, безпосередня взаємодія	-	-	Пряме взаємне пригнічення обох видів
3. Конкуренція, взаємодія через ресурси	-	-	Опосередковане пригнічення, що виникає, коли з'являється нестача в будь-якому факторі середовища, який використовується обома видами
4. Аменсалізм	-	0	Популяція 2 пригнічує популяцію 1
5. Паразитизм	+	-	Популяція паразита 1 зазвичай більша, ніж популяція жертви 2
6. Хижацтво	+	-	Особини хижаків 1 зазвичай є крупнішими за розмірами, ніж особини жертв
7. Коменсалізм	+	0	Користь від об'єднання отримує тільки популяція 1
8. Протокооперація	+	+	Взаємодія є сприятливою для обох видів, але вона не є обов'язковою
9. Мутуалізм	+	+	Взаємодія є сприятливою для обох видів і вона є обов'язковою.

Завдання 2. Конкуренція між спорідненими видами.

1) Проаналізуйте динаміку росту чисельності популяцій двох видів інфузорій при їх спільному культивуванні. Яке екологічне правило проявляється в даному експерименті? _____

Таблиця. Динаміка популяцій двох видів інфузорій при їх спільному культивуванні (за «Біологія ґрунтів»).

Число особин:	Доба спільного культивування:									
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
<i>Paramecium caudatum</i>	20	52	54	48	36	23	16	8	2	0
<i>Paramecium aurelia</i>	25	49	75	102	126	143	149	152	152	153



Рис. 16. *Paramecium caudatum*

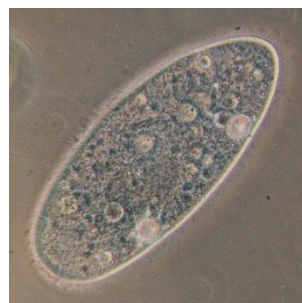


Рис. 17. *Paramecium aurelia* (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Завдання 3. Взаємодія популяцій.

1) Проаналізуйте динаміку росту популяцій трьох видів бактерій: *Curtobacterium* (1), *Mycoplasma sp.* (2) і *Pseudomonas sp.* (3) в ризосфері пшениці за умови їх спільного росту.

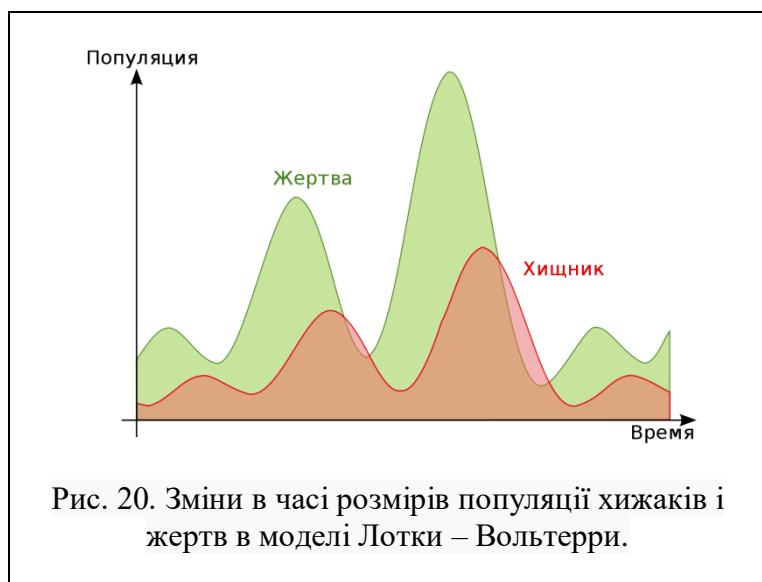
Який тип взаємодії має місце між 1 і 2 видами? Між 2 і 3 видами? Для відповіді використовуйте дані таблиці «Типи міжвидових біотичних взаємодій» (див. вище): _____

Таблиця. Динаміка чисельності популяцій бактерій *Curtobacterium* (1), *Mycoplasma sp.* (2) і *Pseudomonas sp.* (3) в ризосфері пшениці за умови їх одночасного росту («Біологія ґрунтів»).

Кількість особин, lgN	Доба сумісного росту:								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Curtobacterium</i> (1)	3	3,5	2	1	-	-	-	-	-
<i>Mycoplasma sp.</i> (2)	3	4	5	6	6	6	6	6	6
<i>Pseudomonas sp.</i> (3)	3	5,5	6,5	7	7	7	7	7	7

Частина 3. Взаємовідносини в системі паразит – господар.

Завдання 1. Як Ви вважаєте, чи можливо застосовувати модель Лотки-Вольтерри (див. рис), розроблену для вивчення змін розмірів популяцій хижаків і їх жертв, для вивчення розмірів популяцій паразитів і їх господарів? _____



Модель Лотки - Вольтерри - це модель взаємодії двох видів типу «хижак - жертва», названа на честь її авторів (Лотка, 1925; Вольтерра, 1926), які запропонували модельні рівняння незалежно один від одного. Такі рівняння можна використовувати для моделювання систем «хижак - жертва», «паразит - господар», конкуренції та інших видів взаємодії між двома видами (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Обґрунтуйте свою відповідь: _____

Завдання 2. Взаємовідносини аменсалізму і коменсалізму між видами-паразитами.

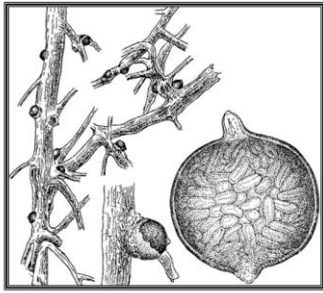
1) Які взаємини між організмами різних видів називаються аменсалізмом? _____

2) Які взаємини між організмами різних видів називаються коменсалізмом? _____

3) Організм господаря здатний захистити себе від нападу організмів-паразитів. Так, рослини під час нападу на них рослиноїдних тварин або паразитів - починають синтезувати захисні речовини (реактивні форми кисню, калозу для депозиції в клітинній стінці і т.н.).

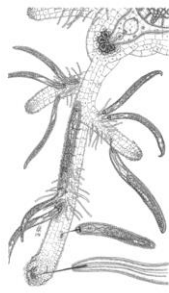
Відомо, що в результаті нападу на рослину паразитичних комах і черв'яків - тканини рослини розростаються з утворенням т.зв. галів, в яких відбувається розвиток потомства організму-паразита.

Jatala P. і Jensen H.J. (1976) досліджували результати зараження коренів рослин буряка звичайного (*Beta vulgaris*) паразитичними черв'яками різних видів.



Самка свекловичной нематоды (*Heterodera schachtii*) в корнях растений и отдельно.

А



Б

Рис. 21. Самка бурякової нематоди в корнях рослини (А) і окремо (Б). На рис. А - самка в корені рослини перетворюється на цисти - це оболонка з відмерлої самки, наповнена яйцями і личинками першого віку (за <https://yandex.ua/images/search?text=Heterodera>).



Рис. 22. Самець і самка бурякової нематоди. У своєму розвитку паразити проходять кілька стадій: яйце бочковидної форми; циста - оболонка відмерлої самки, наповнена яйцями і личинками першого віку; личинки другого-четвертого віку; дорослі особини. У ґрунті знаходяться цисти нематод. Коли поблизу виявляються корені цукрового буряка, личинки вловлюють речовини, які виділяє корінь, прогризають оболонку цисти і спрямовуються до рослини. Усередині рослини личинка харчується, проходить всі стадії розвитку і перетворюється на цисти (за <http://beetlestop.ru/sveklovichnaya-nematoda/>).

Отримані Jatala P. і Jensen H.J. (1976) дані свідчать про те, що якщо спочатку рослину-господаря заразити паразитичними нематодами *Heterodera schachtii* (т.зв. бурякова нематода), а через 10 днів спробувати цю ж рослину заразити *Meloidogyne hapla* - то формування галів *Meloidogyne hapla*, що містять цисти з яйцями нематод, не відбувається. Така система міжвидових взаємовідносин між організмами-паразитами була віднесена до аменсалізму. Чи згодні Ви з цією точкою зору? _____.

4) Як Ви думаєте, чому при такій схемі експерименту - ефективність повторного зараження рослини-господаря паразитичними нематодами - знизилася? _____

5) Якщо експеримент провести навпаки: на початку рослину-господаря заразити нематодами *Meloidogyne hapla*, а через 10 днів - цю ж рослину заразити нематодами *Heterodera schachtii* - то у нематод зростає кількість сформованих цист (за Jatala & Jensen, 1976). Така система взаємовідносин між різними видами була віднесена до відносин коменсалізму. Чи згодні Ви з цією точкою зору? _____.

6) Як Ви вважаєте, чому при такій схемі експерименту - ефективність повторного зараження рослини-господаря паразитичними нематодами - підвищилася? _____

*NB! Коли в експерименті паразитичні нематоди двох видів були щеплені на рослину-господаря одночасно - ніякого ефекту на спроможність популяції паразитів формувати цисти не було виявлено. Рослини, заражені одночасно двома видами нематод, - загинули раніше, ніж ті, які були заражені різними видами нематод по-черзі. Як Ви можете пояснити цей результат? _____

Завдання 3. Дослідження, проведені Weinstein S.B. і Kuris A.M. (2016), показали, що в царстві тварин (*Animalia*) паразитизм виникав не менше 223 разів в 15 різних філіях; 40% всіх видів тварин - є паразитами. Як Ви вважаєте, чому серед тварин паразитизм більш поширений, ніж хижацтво? _____

Завдання 4. Більшість риб-карапусів (*Carapidae*) є коменсалами, які не завдають шкоди своїм господарям - придонним морським безхребетним тваринам (морським анемонам, морським огіркам, голотуріям, морським зіркам, двостулковим молюскам і т.н.). Ці карапуси використовують своїх господарів як притулок, при цьому вони харчуються за межами організму-господаря.

Однак, деякі види риб-карапусів є паразитами, які харчуються тканинами своїх господарів (наприклад, тканинами безхребетних тварин морських огірків). Дослідження, проведені Parmentier E. з колегами (2016), показали, що в групі карапусових риб (*Carapidae*) паразитичні види походять від видів-коменсалів, а не від вільно живучих форм.

1) Який тип міжвидових взаємовідносин називається коменсалізмом? _____

2) Припустіть, якими могли бути причини переходу риб-коменсалів до паразитизму? _____

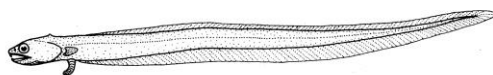


Рис. 23. *Echiodon rendahli* - представник карапусових риб (*Carapidae*) (за <https://uk.wikipedia.org/wiki/>).

3) Паразитичні види риб карапусів (*Carapidae*) цікаві тим, що після викльовування з ікринок вони проходять дві стадії метаморфоза: передличинка веде планктонний спосіб життя, а личинка - опускається на дно, входить в порожнину тіла тварини-господаря, де веде паразитичний спосіб життя і перетворюється на дорослу рибу. Цікаво відзначити, що личинка - є облігатним паразитом морських безхребетних (наприклад, анемонів і ін.), тоді як дорослі риби спроможні вести вільний спосіб життя (іноді їх ловлять з раками в шлунках).

Згідно біогенетичного закону - онтогенез (індивідуальний розвиток організму) є коротким повторенням філогенезу (історичний розвиток даної групи). Виходячи з цього закону, зробіть припущення про те, яким є походження паразитизму в лінії карапусових риб:

Завдання 5. Рослини-паразити виростають гаусторіями-присосками в стебла або в корені інших рослин і забирають у них воду, мінеральні речовини і органічні поживні речовини. Як Ви вважаєте, якими є причини переходу рослин до паразитичного способу життя? _____



У рафлезії відсутні стебла і листя. Всі речовини, необхідні для свого розвитку, рафлезія отримує з коренів або стебел рослини-господаря через корені-присоски. Розвиток рафлезії відбувається в тканинах рослини-господаря. Тіло рослини-паразита при цьому називається ендофітом, а такий спосіб паразитизму - ендопаразитизмом. У тканинах рослини-господаря тіло рафлезії поширюється у

Рис. 24. Раффлезія Прайса (*Rafflesia pricei*) – паразитична квіткова рослина.

вигляді клітинних тяжів, що нагадують грибні гіфи. Для раффлезієвих характерні гігантські, діаметром до 1 м, квітки (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Завдання 6. Наземні рослини паразитують не тільки на інших рослинах - але і на грибах. Цей феномен отримав назву мікогетеротрофії. При цьому корені рослини забирають органічні поживні речовини у ґрунтових грибів. *NB! Майже всі наземні рослини формують мутуалістичний симбіоз з ґрунтовими грибами: гриби доставляють рослині воду і мінеральні речовини з великої території, а рослина годує гриби цукрами. Як Ви вважаєте, що могло змусити рослини стати паразитами і забирати органічні поживні речовини у грибів?



Рис. 25. Під'ялиник одноквітковий (*Monotropa uniflora*) - облігатний мікогетеротроф, що паразитує на грибах родини Сироїжкові (*Russulaceae*) (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Завдання 7. Як Ви вважаєте, чому серед водних рослин - більше паразитів (50% всіх видів), ніж серед наземних рослин (паразитизм був виявлений лише у 1% квіткових рослин)?

*NB! Серед наземних рослин паразитизм виявлено лише у 1% квіткових рослин. Крім того - була виявлена одна паразитична рослина серед хвойних (паразитакус - ендемік острова Нова Каледонія).

Завдання 8. Паразити і паразитоїди.

1) У чому полягають відмінності між паразитами і паразитоїдами при їх взаємодії з організмом господаря? _____

2) Паразитичний гриб *Batrachochytrium dendrobatidis* вражає шкіру жаб. За останні 20 років цей паразитичний гриб почав вести себе як паразитоїд і після зараження жаб - призводить до їх загибелі.



Рис. 26. Паразитичний гриб *Batrachochytrium dendrobatidis* вражає шкіру жаб, викликаючи захворювання хітрідіомікоз.



Рис. 27. *Batrachochytrium dendrobatidis* (за <http://tierdoku.com/index.php?title=Chytridiomycetes>). В Центральній Америці через цей гриб вимерло 40% видів земноводних. Жаби не спроможні виробити імунітет до цього гриба.

3) За яких умов паразит може стати паразитоїдом? _____

Частина 4. Переходи між різними типами симбіозу. Муталізм - як взаємно корисне спільне існування різних видів живих організмів.

Завдання 1. Дослідження, проведені Sachs J.L. з колегами (2013), показали, що відносини мутуалізму між протеобактеріями і клітинами організму-господаря в основному виникають з паразитичних відносин. Більше того, нові таксони бактерій-мутуалістів - утворюються не в результаті збільшення різноманітності мутуалістичних ліній, а з'являються в результаті переходу паразитичних протеобактерій до мутуалізму. Крім того, бактерії-мутуалісти - спроможні повертатися до паразитизму і до вільного способу життя. Як Ви вважаєте, що може змусити внутрішньоклітинного симбіонта - знову стати паразитом або навіть повернутися до вільного способу життя? _____

В якому випадку - це повернення буде неможливим? _____

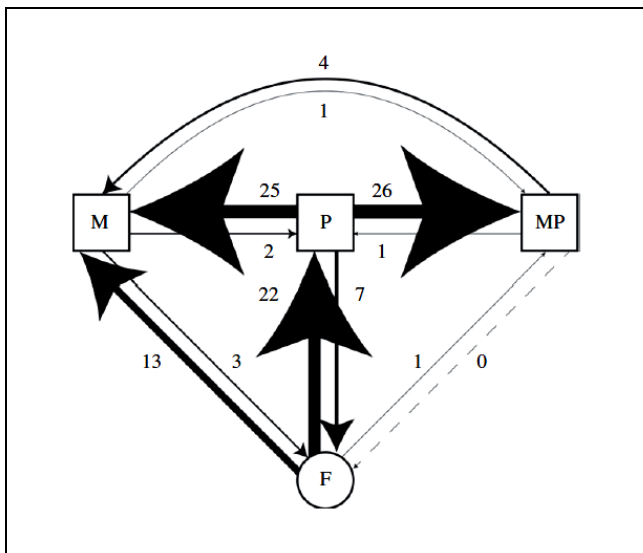


Рис. 28. Діаграма, яка показує можливі переходи між різними типами симбіозу в системі господар-протеобактерії. Де: P - відносини паразитизму; M - відносини мутуалізму; MP - протеобактерії даних груп ведуть подвійний спосіб життя (і мутуалістичний, і паразитичний) F - вільно-живучі протеобактерії. Цифрами біля стрілок вказана виявлена для протеобактерій (*Proteobacteria*) частота переходів типів симбіозу між організмом-господарем і протеобактеріями (за Sachs et al., 2013).

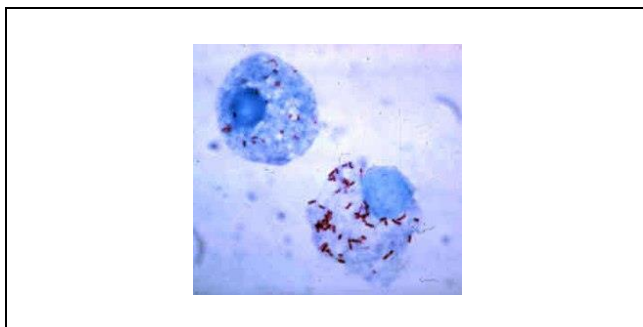


Рис. 29. На фотографії показані дві клітини, всередині яких знаходяться паличкоподібні рикетсії - паразитичні альфа-протеобактерії. Бактерії цієї групи викликають висипний тиф, плямисту лихоманку Скелястих гір і т.н. (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Звдання 2. Мітохондрії - це внутрішньоклітинні органели всіх сучасних еукаріотичних організмів. Предками мітохондрій є паразитичні альфа-протеобактерії. Використовуючи приклад з мітохондріями, покажіть вірність твердження, згідно з яким еволюційно - мутуалізм з'явився з паразитизму: _____

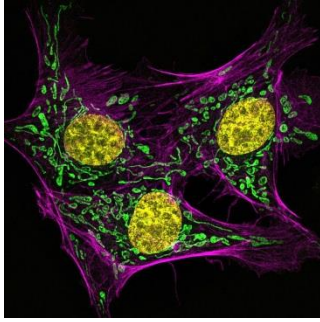


Рис. 30. На мікропрепараті видно три клітини: ядра пофарбовані жовтим барвником, нитки цитоскелета - фіолетовим барвником; мітохондрії - зеленим барвником. Світлова флюоресцентная мікроскопія (за <https://fullpicture.ru/nauka/>).



Рис. 31. Дві мітохондрії всередині клітини еукаріота; електронна мікроскопія (за <https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

*NB! Мітохондрії - це одомашнені паразитичні альфа-протеобактерії, які напали на клітини предків еукаріот приблизно 1,2 млрд.р.т.

Завдання 3. Взаємини між вірусами і рослинами можуть змінюватися від паразитичних до мутуалістичних. Наприклад, віруси спроможні підвищувати плодючість заражених рослин в порівнянні з незараженими рослинами в певних умовах навколишнього середовища. Поясніть, чому такі взаємини між двома видами називаються мутуалізмом? _____

Hamelin F.M. з колегами (2017), використовуючи математичні моделі, показали, що в довгостроковій перспективі мутуалізм може конкурувати з паразитизмом. Як Ви вважаєте, в яких умовах середовища перевагу отримують паразитичні штами вірусів, а в яких умовах - мутуалістичні штами вірусів? _____

*NB! Дослідження показали, що одні штами вірусів поширюються через насіння (вертикально від батьків до дітей), а інші - за допомогою комах і т.н. (горизонтально від однієї рослини до іншої) (за Hamelin et al., 2016). Таким чином, еволюційно йде відбір на поширення вірусів або одним, або іншим способом. Вірус, що поширюється з насінням - повинен дозволити батьківській рослині залишити насіння, і, як правило, такі віруси мають меншу патогенність. Тоді як вірус, що поширюється горизонтально - як правило, вбиває свого господаря. Вважають, що саме перехід від горизонтального поширення до вертикального (тобто через насіння батьківських рослин) є першим кроком на шляху перетворення відносин паразитизму в стосунки коменсалізму і потім - мутуалізму в системі рослина-вірус (за Genkai-Kato & Yamamura, 1999).

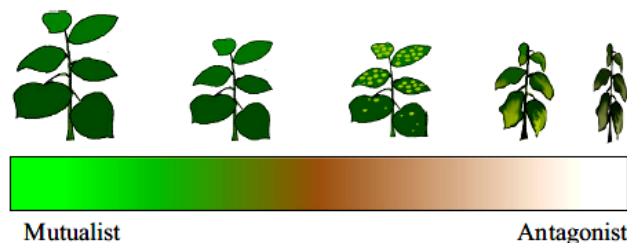


Рис. 32. Взаємовідносини між вірусами і рослинами спроможні змінюватися від мутуалізму до паразитизму (за Roossinck, 2015).

Завдання 4. Відомо, що всередині клітин коралових поліпів живуть ендосимбіотичні одноклітинні водорості - динофлагеляти роду *Symbiodinium*. При цьому всередині клітин коралів виявлено не менше восьми різних клад цих ендосимбіотичних водоростей: А, В, С, D, E, F, G і H.

1) Як потрапляють одноклітинні динофлагеляти всередину клітин коралових поліпів? _____

2) Яку користь отримує кораловий поліп від присутності фотосинтезуючих динофлагелят всередині своїх клітин? _____

3) Яку користь отримують динофлагеляти, потрапивши всередину клітин коралового поліпа? _____

4) Перерахуйте, які типи симбіотичних взаємовідносин між двома видами організмів Вам відомі, виходячи з користі чи шкоди, які отримують види в результаті спільного існування: _____

5) Виходячи з вищевикладеного, зробіть висновок про те, який тип симбіозу формується між кораловими поліпами і фотосинтезуючими динофлагелятами: _____
Поясніть свою відповідь: _____

6) Проведені Stat M. з колегами (2008) дослідження показали, що коралові поліпи *Acropora cytherea*, в клітинах яких живуть ендосимбіотичні динофлагеляти *Symbiodinium* класу А, - частіше хворіють і є менш стійкими до дії стресових умов навколишнього середовища, в порівнянні з кораловими поліпами, в клітинах яких живуть динофлагеляти *Symbiodinium* класу С.



Рис. 33. Здорові колонії коралових поліпів *Acropora cytherea*. Північний Захід Гавайських островів (за Stat et al., 2008).

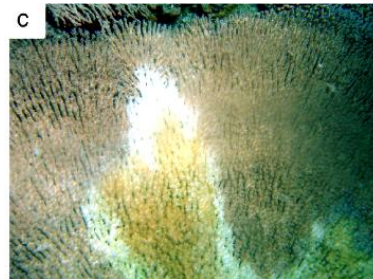


Рис. 34. Хворі колонії коралових поліпів *Acropora cytherea*, активно втрачають тканини. Північний Захід Гавайських островів (за Stat et al., 2008).

7) Потім автори роботи з клітин коралових поліпів вилучали фотосимбіонтів і перевіряли, наскільки інтенсивно вони фіксують вуглекислий газ перебуваючи просто в морській воді (варіант FSW) або в морській воді, в яку додані речовини з клітин коралових поліпів (варіант SHF). Отримані результати наведені на гістограмах.

Вкажіть кількість вуглекислого газу, яку фіксують фотосимбіонти, перебуваючи просто в морській воді (варіант FSW): для класу А _____, для класу С _____.

Вкажіть кількість вуглекислого газу, яку фіксують фотосимбіонти, перебуваючи в морській воді в присутності речовин з клітин коралових поліпів (варіант SHF): для класу А _____, для класу С _____.

8) Крім того, автори роботи перевірили, скільки зафіксованого вуглецю фотосимбіонти виділяють в навколишнє середовище просто в морській воді і в воді, яка містить речовини з клітин коралового поліпа. Отримані результати наведені на гістограмах.

Вкажіть, яку кількість вуглецю виділяють фотосимбіонти, перебуваючи просто в морській воді (варіант FSW): для класу А _____, для класу С _____.

Вкажіть, яку кількість вуглецю виділяють фотосимбіонти, перебуваючи в морській воді в присутності речовин з клітин коралових поліпів (варіант SHF): для кладі А _____, для кладі С _____.

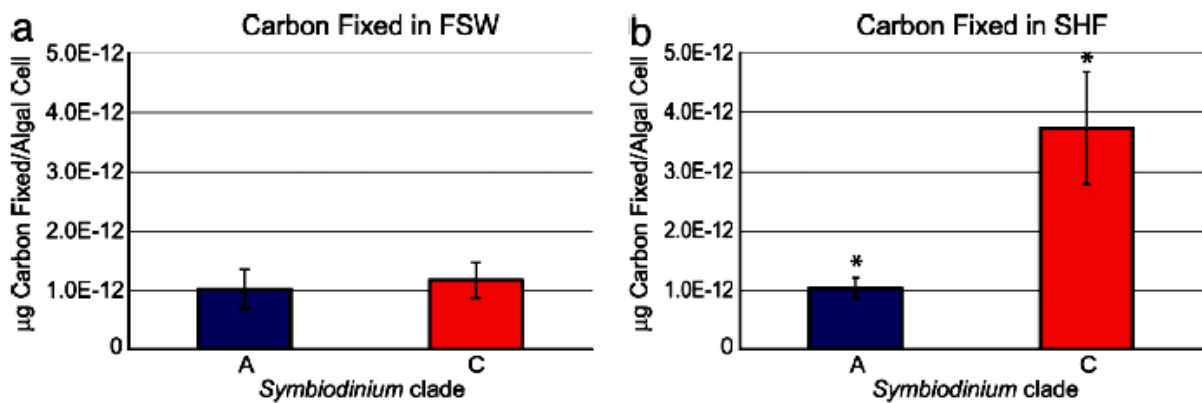


Рис. 35. Інтенсивність фіксації вуглекислого газу (в мкг/на клітину) фотосимбіонтами клад А і С в морській воді (варіант FSW) і в морській воді, в яку додані речовини з корала-симбіонта (варіант SHF) (за Stat et al., 2008).

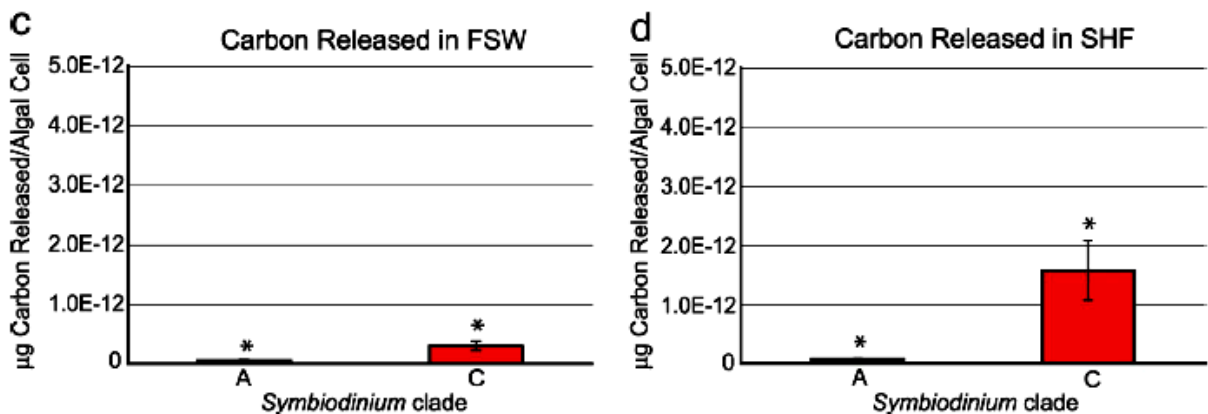


Рис. 36. Інтенсивність виділення вуглецю клітинами фотосимбіонтів (в мкг/на клітину) клад А і С в морській воді (варіант FSW) і в морській воді, в яку додані речовини з корала-симбіонта (варіант SHF) (за Stat et al., 2008).

10) На підставі отриманих результатів зробіть висновок про те, фотосимбіонти якої кладі А або С є більш корисними для коралових поліпів-господарів? _____

Поясніть свою відповідь: _____

11) На підставі отриманих результатів поясніть, чому колонії з фотосимбіонтами кладі А частіше хворіють і є більш чутливими до дії стресових факторів в порівнянні з колоніями, в клітинах яких живуть фотосимбіонти кладі С? _____

12) Як Ви вважаєте, чи можна охарактеризувати взаємини між кораловими поліпами і фотосимбіонтами кладі А - як паразитичні? _____

Поясніть свою відповідь: _____

*NB! Вважають, що еволюційно мутуалізм виник з паразитизму. Філогенетичні побудови свідчать про те, що серед динофлагелят-фотосимбіонтів на початку з'явилася кладі А, а кладі С - з'явилася еволюційно значно пізніше. Спробуйте пояснити, як з давнього симбіозу паразитичного типу між коралами і динофлагелятами міг сформуватися симбіоз мутуалістичного типу: _____

Завдання 5. Організм-симбіонт може потрапляти в організм господаря від батьків до дітей (т.зв. вертикальний механізм передачі симбіонта). Крім того, відносини симбіозу можуть кожного разу встановлюватися заново між господарем і симбінтом (т.зв. горизонтальний механізм передачі симбіонта). Відповідно до теорії вірулентності, горизонтальне перенесення симбіотичного виду сприяє розвитку паразитизму, а вертикальне - розвитку відносин мутуалізму між двома видами.

Sachs J.L. і Wilcox T.P. (2006) вивчали перехід до паразитизму у фотосинтезуючого симбіонта медузи - найпростішого динофлагелята *Symbiodinium microadriaticum*.

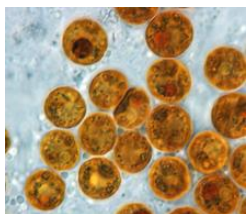


Рис. 37. Одноклітинний фотосинтезуючий симбіонт - динофлагелят *Symbiodinium* (за <https://en.wikipedia.org/wiki/Symbiodinium>).



Рис. 38. Медуза господар *Cassiopea xamachana* (відносяться до групи так званих «перевернутих медуз») (за https://en.wikipedia.org/wiki/Cassiopea_xamachana).

*NB! Одноклітинні фотосинтезуючі динофлагеляти *Symbiodinium* потрапляють в клітини організму-господаря за допомогою фагоцитозу і забезпечують організм господаря поживними речовинами за рахунок фотосинтезу.

Експерименти, проведені авторами роботи, показали, що при вертикальній передачі від батьків до дітей - симбіонт поводить себе як мутуаліст, а при горизонтальній передачі - починає вести себе як паразит (тобто він починає розмножуватися без урахування швидкості розмноження організму-господаря).

Поясніть, чому вертикальне перенесення симбіотичного організму - сприяє розвитку відносин мутуалізму, тоді як горизонтальне перенесення симбіотичного організму - сприяє розвитку взаємин типу паразит-господар? _____

Завдання 6. Горизонтальний механізм встановлення ендосимбіозу між коренями рослин і мікоризними ґрунтовими грибами.

- 1) Що таке ендосимбіоз? _____
- 2) Яку користь отримує рослина-господар від симбіозу з ґрунтовими грибами? _____
- 3) Яку користь отримує ґрунтовий мікоризний грибок від симбіозу з коренями рослини-господаря? _____
- 4) Коли в історії розвитку життя на Землі вперше з'явився ендосимбіоз між коренями рослин і ґрунтовими мікоризними грибами? _____
- 5) Який механізм встановлення ендосимбіозу між різними видами організмів називається вертикальним? _____
- 6) Який механізм встановлення ендосимбіозу між різними видами організмів називається горизонтальним? _____
- 7) Використовуючи схему, наведену нижче, опишіть етапи встановлення ендосимбіозу між коренями рослини і ґрунтовими арбускулярними мікоризними грибами: _____

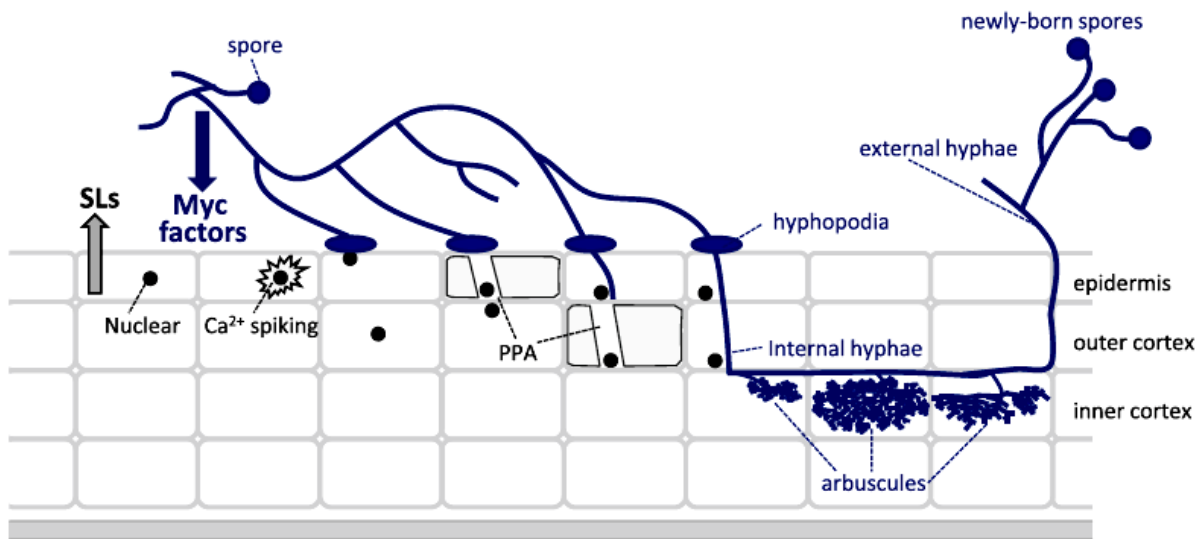


Рис. 39. Схема встановлення ендосимбіозу між коренями рослини і арбускулярними мікоризними ґрунтовими грибами. Де: SLs - стріголактони: речовини, що виділяються коренями рослини-господаря для індукції проростання спор і підростання гіфів мікоризних грибів до коренів рослини; spore - спори ґрунтових арбускулярних мікоризних грибів; Myc factors - речовини, які секретуються мікоризними грибами для розпізнавання гриба рослиною-господарем; Internal hyphae - гіфи мікоризного гриба всередині клітин організму-господаря; arbuscules - арбускули мікоризного гриба (гіфи мікоризного гриба всередині клітин кореня організму-господаря є розгалуженими і мають складну форму); external hyphae - гіфи мікоризного гриба за межами кореня рослини-господаря; newly-born spores - нові спори мікоризного гриба; epidermis - епідерміс рослини; outer cortex - клітини зовнішнього кортекса коренів рослини-господаря; inner cortex - клітини внутрішнього кортекса коренів рослини-господаря (за Nakagawa & Imaizumi-Anraku, 2015).

6) Для чого організму-господаря необхідний такий складний горизонтальний механізм встановлення ендосимбіозу? _____

7) Сьогодні забруднення навколишнього середовища призвело до накопичення в ґрунтах значних кількостей важких металів і пестицидів. Багато вільножувучих ґрунтових грибів і бактерій здатні руйнувати пестициди і переводити водорозчинні небезпечні форми важких металів в нерозчинні безпечні форми. Симбіоз таких ґрунтових грибів і бактерій міг би вирішити проблему накопичення небезпечних речовин в сільсько-господарських рослинах. Однак, всі спроби вчених сформувані нові симбіотичні пари між рослинами і грибами (бактеріями) - виявляються безуспішними. Як Ви вважаєте - чому? _____

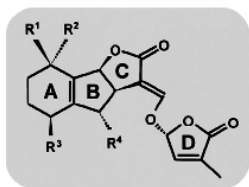


Рис. 40. Молекула стріголактона, що виділяється коренями рослини при необхідності встановлення симбіозу з ґрунтовими грибами (за López-Ráez et al., 2015).

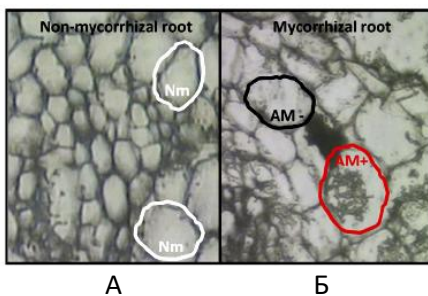


Рис. 41. Корені помідор: А – які ще не сформували ендосимбіоз з мікоризними грибами (Nm); Б – які вже сформували ендосимбіоз з мікоризними грибами (AM + в цій клітині присутні гіфи мікоризного гриба) (за López-Ráez et al., 2015).

Завдання 7. Паразитичний гриб *Batrachochytrium dendrobatidis* викликає сьогодні загибель жаб у всьому світі. Однак, деякі види амфібій виявилися стійкими до цього гриба. Проведені дослідження показали, що у стійких видів на шкірі живуть бактерії *Janthinobacterium lividum*. Це - ґрунтові бактерії, які синтезують речовину віолацеїн, що має антибактеріальні, антивіральні і антигрибкові властивості (за Harris et al., 2009). Як Ви вважаєте, для чого бактерії *Janthinobacterium lividum* синтезують речовину віолацен? _____

2) Що могло змусити ґрунтові бактерії *Janthinobacterium lividum* оселитися на шкірі земноводних? _____

3) Відомо, що клітини шкіри і мікрофлора шкіри синтезують речовини, які перешкоджають поселенню інших мікроорганізмів. За якої умови можливо виживання ґрунтових бактерій *Janthinobacterium lividum* на шкірі земноводних? _____



Рис. 42. Бактерії *Janthinobacterium lividum* на поживному середовищі (за https://en.wikipedia.org/wiki/Janthinobacterium_lividum).

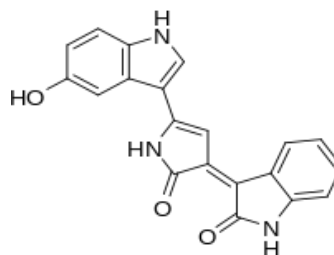


Рис. 43. Структурна формула віолацена, синтезованого бактеріями *Janthinobacterium lividum* (за <https://en.wikipedia.org/wiki/Violacein>).

4) Який тип взаємин сформувався між земноводними і бактеріями *Janthinobacterium lividum*, що поселилися на їх шкірі? Поясніть свою відповідь _____

Контрольні питання:

1. Хижі бактерії. Хижі найпростіші.
2. Хижі гриби і механізми роботи ловчих кілець.
3. Хижі рослини. Механізм роботи листя-капкану. Механізм появи хижацтва у рослин.
4. Саморегулювання системи хижак-жертва.
5. Канібалізм як внутрішньовидове хижацтво.
6. Типи симбіозу в залежності від користі або шкоди від сумісного існування організмів різних видів.
7. Ектосимбіоз. Ендосимбіоз. Факультативний і облігатний симбіоз.
8. Механізм формування облігатного симбіозу між паразитичними бактеріями і господарем (роль зворотних транскриптаз і інтеграз; на прикладі мітохондрій).
9. Паразити і паразитоїди.
10. Типи паразитизму: соціальний і біотрофний паразитизм.
11. Небезпека трофічного паразитизму для організму господаря
12. Механізми формування внутрішньоклітинного мутуалізму (на прикладах саламандр-амбістом і зелених водоростей; коренів і ґрунтових грибів).
13. Поява нових видів після підселення бактерій в клітини господаря через утворення генетичних і географічних бар'єрів для схрещування (на прикладі тарганів і блаттабактерій).

Література:

Биология почв / Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Изд. Московского университета.

Genkai-Kato M., Yamamura N. Evolution of mutualistic symbiosis without vertical transmission // *Theor. Popul. Biol.* – 1999. – Vol. 55(3). – P. 309 - 323.

Hamelin F.M., Allen L.J., Prendeville H.R., Hajimorad M.R., Jeger M.J. The evolution of plant virus transmission pathways // *J. Theor. Biol.* - 2016. – Vol. 396. – P. 75 - 89. doi: 10.1016/j.jtbi.2016.02.017.

Hamelin F.M., Hilker F.M., Sun T.A., Jeger M.J., Hajimorad M.R., Allen L.J.S., Prendeville H.R. The evolution of parasitic and mutualistic plant-virus symbioses through transmission-virulence trade-offs // *Virus Res.* – 2017. – Vol. 241. – P. 77 - 87. doi: 10.1016/j.virusres.2017.04.011.

Harris R.N., Brucker R.M., Walke J.B., Becker M.H., Schwantes C.R., et al. Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus // *ISME J.* – 2009. – Vol. 3(7). – P. 818 - 824. doi: 10.1038/ismej.2009.27.

Jatala P., Jensen H.J. Parasitism of *Beta vulgaris* by *Meloidogyne hapla* and *Heterodera schachtii* alone and in combination // *J. Nematol.* – 1976. – Vol. 8(3). – P. 200 - 205.

López-Ráez J.A., Fernández I., García J.M., Berrio E., Bonfante P., Walter M.H., Pozo M.J. Differential spatio-temporal expression of carotenoid cleavage dioxygenases regulates apocarotenoid fluxes during AM symbiosis // *Plant Sci.* – 2015. – Vol. 230. – P. 59 - 69. doi: 10.1016/j.plantsci.2014.10.010.

Nakagawa T., Imaizumi-Anraku H. Rice arbuscular mycorrhiza as a tool to study the molecular mechanisms of fungal symbiosis and a potential target to increase productivity // *Rice.* – 2015. – Vol. 8:32 DOI 10.1186/s12284-015-0067-0.

Parmentier E., Lanterbecq D., Eeckhaut I. From commensalism to parasitism in Carapidae (Ophidiiformes): heterochronic modes of development? // *Peer J.* – 2016. – Vol. 4:e1786. doi: 10.7717/peerj.1786.

Roossinck M.J. Plants, viruses and the environment: Ecology and mutualism // *Virology.* – 2015. – Vol. 479-480. – P. 271 - 277. doi: 10.1016/j.virol.2015.03.041.

Sachs J.L., Skophammer R.G., Bansal N., Stajich J.E. Evolutionary origins and diversification of proteobacterial mutualists // *Proc. Biol. Sci.* – 2013. – Vol. 281(1775):20132146. doi: 10.1098/rspb.2013.2146.

Sachs J.L., Wilcox T.P. A shift to parasitism in the jellyfish symbiont *Symbiodinium microadriaticum* // *Proc. Biol. Sci.* – 2006. – Vol. 273(1585). – P. 425 - 429.

Stat M., Morris E., Gates R.D. Functional diversity in coral-dinoflagellate symbiosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105(27). – P. 9256 - 9261. doi: 10.1073/pnas.0801328105.

Weinstein S.B., Kuris A.M. Independent origins of parasitism in Animalia // *Biol Lett.* – 2016. 12(7). pii: 20160324. doi: 10.1098/rsbl.2016.0324.

Тема 14. Феромони. Кайромони.

14.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Феромони – це речовини, які виділяють організми в навколишнє середовище і які забезпечують хімічну комунікацію між особинами одного виду. Феромони керують поведінковими реакціями і процесами розвитку організму у особин того ж виду. Феромони синтезуються тваринами, грибами, рослинами, найпростішими, бактеріями.

Деякі типи феромонів: статеві аттрактанти; мітки шляху, що вказують дорогу до дому або до знайденої здобичі; мітки на кордонах індивідуальної території; феромони страху і тривоги; феромони, що індукують зміну статі; феромони статевого дозрівання; феромони, що маскують тварину під інший вид і т.н.

Кайромони - це речовини, що виділяються організмом у докільця і специфічним чином впливають на представників інших видів. Викликають адаптивні поведінкові або фізіологічні реакції. При цьому кайромони можуть бути небезпечними для окремої особини, що виділяє їх, але корисними на рівні популяції, здійснюючи регуляцію її чисельності і т.н.

Прикладами кайромонів служать пахучі виділення, що привертають хижаків або паразитів даного виду. Феромони деяких видів тварин спроможні одночасно відігравати роль кайромонів. Так, агрегаційний феромон жука-короїда *Ips confusus* приваблює до нього хижака цього виду – жука *Enoclerus lecontei* (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 1. Жук-короїд *Ips confusus*
(<https://bugguide.net/node/view/887067/bgpage>).
Феромон агрегації цих жуків приваблює їх хижаків – жуків *Enoclerus lecontei*.



Рис. 2. Хижий жук *Enoclerus lecontei*, що полює на жуків-короїдів
(<https://www.google.com.ua/search?q=Enoclerus+leconteib>).

Феромони агрегації

Феромони агрегації у бактерій. У патогенних бактерій досить легко формується стійкість до антибіотиків. Це пов'язано зі здатністю окремих бактерій збиратися разом і формувати т.зв. біоплівку - колонію, в якій поява стійкості до антибіотика у однієї бактерії дозволяє вижити всій колонії внаслідок перенесення інформації між бактеріями у вигляді молекул РНК через білкові відростки - пілії. Формування біоплівки забезпечується особливими хімічними сигналами бактерій - т.зв. кворум сенсінг факторами. Ці речовини, по суті, є аналогами феромонів агрегації у тварин.

Крім того, бактерії використовують свою сигнальну систему кворум сенсінг для регулювання активності і поведінки, включаючи конкуренцію, кон'югацію, симбіоз, патогенність, рухливість, споруляцію, продукування антибіотиків і т.н.

Shaaban M. з колегами (2019) було запропоновано шляхом блокування сигнальної системи агрегації бактерій в біоплівки - спробувати вирішити проблему розвитку множинної лікарської стійкості у клінічних патогенних бактерій (Shaaban et al., 2019).

Феромони агрегації кавового довгоносика *Araecerus fasciculatus* - космополітного шкідника сховищ. Yang S. з колегами (2017) аналізували екстракти тіла кавового довгоносика за допомогою газової хроматографії-мас-спектрометрії. У самців було виділено феромон сквален (squalene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene). Ця

речовина привертала самців і самок довгоносіка до сховища кавових зерен. Автори пропонують використовувати сквален для контролю поширення кавових довгоносіків (Yang et al., 2017).



Рис. 3. Кавовий довгоносік (*Araecerus fasciculatus*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Araecerus+fasciculatus>).

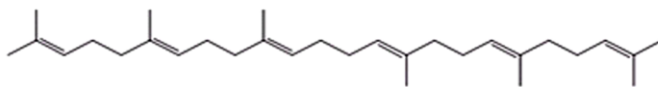


Рис. 4. Структурна формула сквалена (<https://en.wikipedia.org/wiki/Squalene>).

Феромони агрегації німф у комах *Callitettix versicolor*. Відомо, що німфи деяких видів комах об'єднуються разом, покриваючи себе пінистою масою. Така поведінка значною мірою сприяє виживанню німф, які розвиваються. Однак мало що відомо про точні механізми, які викликають і регулюють таку агрегацію. *NB! Німфа - це личиночна стадія розвитку деяких членистоногих з неповним перетворенням.

Chen X. і Liang A.P. (2015) в пінистій масі агрегованих німф комах *Callitettix versicolor* ідентифікували шість n-алканових сполук: ун-, до-, три-, тетра-, пента- і гексадекан. Важливо відзначити, що одинична німфа і скупчення німф продукували речовини, які значно різнилися за кількістю і складом цих сполук. У присутності одиничних німф були надмірно представлені ун-, до-, три-, тетра- і гексадекан, тоді як пентадекан був виявлений в значно більш високих концентраціях серед вже агрегованих німф.



Рис. 5. Комаха *Callitettix versicolor* (<https://www.google.com.ua/search?q=Callitettix+versicolor>).

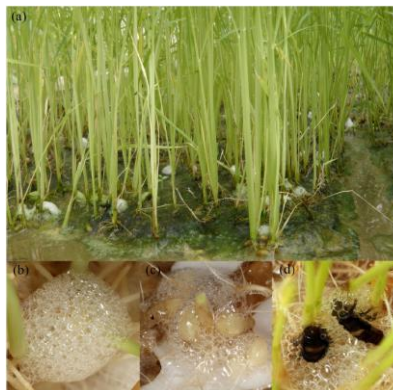


Рис. 6. Агрегація німф комах *Callitettix versicolor*. Де: (а) - німфи покривають себе пінистою масою на коренях рослин рису; (В) - збільшена фотографія пінистої маси з німфами; (с-d) - агрегація німф в пінисту масу (Chen & Liang, 2015).

Електрофізіологічні експерименти показали, що відповіді антен комах на ці шість сполук були значно вищими, ніж на контрольні речовини - гексан і докозан, що свідчить про особливу роль даних шести летючих алканів в якості феромонів цих комах.

Відповідно до цієї гіпотези поведінкові тести показали, що п'ять з шести сполук (ун-, до-, три-, тетра- і гексадекан) діяли як атрактанти в широкому діапазоні концентрацій. Таким чином, ці п'ять сполук дозволяють збирати разом додаткову кількість німф.

Шоста сполука, пентадекан, приваблювала німф при низьких концентраціях, тоді як при більш високих концентраціях цей ефект зникав. Вочевидь, в високих концентраціях цей алкан функціонує як репелент, запобігаючи, таким чином, залученню додаткових особин до повністю зібраних в групу німф.

Таким чином, проведене авторами роботи дослідження дозволило виявити простий, але повністю функціональний механізм зворотного зв'язку, який дозволяє збирати окремих німф разом при невеликій кількості німф, в той же час, запобігаючи перенаселенню цієї системи (Chen & Liang, 2015).

Феромони небезпеки. Кайромони потенційних жертв і хижаків.

Феромони небезпеки у гороховій попелиці. Joachim C. з колегами (2013) вивчали феромонні сигнали небезпеки у попелиці *Acyrtosiphon pisum*, яка веде колективний спосіб життя. Під час нападу хижака попелиця виділяє летючий феромон небезпеки фарнезин (E- β -farnesene), який активує поведінку уникнення небезпеки. При цьому напад личинок сонечка призводить до виділення попелицями менших кількостей феромона небезпеки в порівнянні з нападом личинок іншого хижака (Joachim et al., 2013).



Рис. 7. Горохова попелиця (*Acyrtosiphon pisum*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Acyrtosiphon+pisum>)

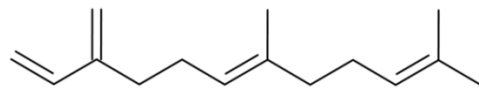


Рис. 8. Структурна формула феромону попелиці E- β -farnesene, який у особин попелиці викликає поведінку уникнення небезпеки (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Бактерії, що живуть на поверхні тіла попелиць, виділяють хімічні речовини, які приваблюють хижаків, що нападають на цих попелиць. Leroy P.D. з колегами (2011) ізолювали бактерій *Staphylococcus sciuri*, що живуть на гороховій попелиці *Acyrtosiphon pisum*, і виділяють речовини, які приваблюють хижаків цього виду попелиці. Таким чином, хімічні речовини, синтезовані бактеріями, які живуть на попелиці, є кайромонами, що привертають хижаків (Leroy et al., 2011).



Рис. 9. Горохова попелиця (*Acyrtosiphon pisum*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

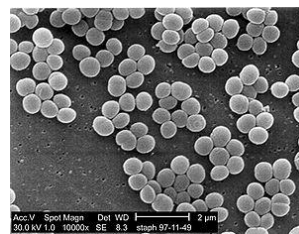


Рис. 10. Бактерії роду стафілококи (*Staphylococcus*) (<https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus>).

Феромони небезпеки індукують експресію (роботу) генів. Відомо, що феромони-праймери впливають на експресію генів. Однак, інформація про можливий вплив швидкодіючих феромонів-релізерів на експресію генів - відсутня.

Alaux C. і Robinson G.E. (2007) показали, що ізопентил ацетат, який є феромоном-релізером, що передає сигнал небезпеки медоносним бджолам (*Apis mellifera*), не тільки провокує швидку захисну відповідь, але також впливає на поведінку бджіл в більш віддаленій перспективі і впливає на експресію генів мозку.



Рис. 11. Бджола медоносна (*Apis mellifera*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Apis+mellifera>).

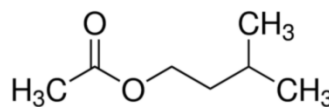


Рис. 12. Ізопентил ацетат - феромон-релізер, який передає сигнал небезпеки бджолам (<https://www.google.com.ua/search?q=isopentyl+acetate>).

Отримані авторами роботи дані змінюють давно усталені уявлення про відмінності між феромонами-праймерами і феромонами-релізерами і підкреслюють поширеність екологічної регуляції експресії генів мозку (Alaux & Robinson, 2007). *NB! Ізопентил ацетат - це феромон небезпеки, що входить до складу жала бджоли.

Вплив феромонів небезпеки на час розвитку і розміри особин при метаморфозі личинок жаб (*Bufo marinus*). Nagman M. (2010) було показано, що присутність у навколишньому середовищі феромонів небезпеки редукує час розвитку і розмір особин при метаморфозі личинок очеретяної жаби. При цьому у дорослих тварин, що з'явилися, зареєстровано збільшення кількості токсичного буфаліну, що свідчить про посилення вкладень організму в хімічну захисну систему (Nagman, 2010).



Рис. 13. Індукована феромонами небезпеки фенотипічна пластичність у очеретяних жаб, які нещодавно пройшли метаморфоз. Зліва - особина нормального розміру, яка розвивалася в ставку без феромонів небезпеки; праворуч - особина, яка розвивалася в сусідньому водоймищі в умовах періодичного впливу феромонів небезпеки (Nagman, 2010).

Присутність в навколишньому середовищі хижака активує онтогенетичну пластичність деревних жаб *Hyla femoralis*. Захисні механізми у потенційних жертв, викликані присутністю хижака, можуть виникати в результаті безконтактних сигналів, пов'язаних з присутністю хижака, що харчується; однак природа фактора, який при цьому виділяє хижак і який впливає на потенційних жертв, - різна для різних груп хижак-жертва.

LaFiandra E.M. і Babbitt K.J. (2004) перевірили роль двох безконтактних сигналів, метаболітів перетравлення здобичі, що виділяються хижак, і сигнальних феромонів, що вивільняються атакованою здобиччю, в розвитку індукованого захисту. Для цього пуголовків соснової деревної жаби (*Hyla femoralis*) поміщали в умови, в яких відбувалося годування їх хижаків - личинок бабки (*Anax junius*).

Експерименти проводилися або всередині експериментальних бункерів, або особини видалялися з бункерів, щоб усунути вплив феромонів небезпеки. Узагальнена морфологічна відповідь пуголовків жаби *Hyla femoralis* на присутність феромонів хижаків включала розвиток більш коротких тіл і хвостів, менший загальний розмір тіла, а також посилене помаранчеве забарвлення хвостового плавця і чорного контуру хвоста.



Рис. 14. Деревна жаба *Hyla femoralis* (<https://www.google.com.ua/search?q=Hyla+femoralis>).



Рис. 15. Личинки бабки *Anax junius* поїдають пуголовків деревних жаб (<https://www.google.com.ua/search?q=Anax+junius>).

Присутності метаболітів травлення хижака було достатнім, щоб ініціювати розвиток індукованої захисної реакції у жаб; проте комбінація метаболітів травлення і сигналу небезпеки призвела до більш сильної реакції. Крім того, у пуголовків, які демонстрували індуковану захисну морфологію, сповільнювалися ріст і розвиток.

Отримані результати показують, що два хімічних сигнали присутності в навколишньому середовищі хижака працюють разом, викликаючи морфологічну відповідь потенційних жертв проти нападів хижака (LaFiandra & Babbitt, 2004).

Фенотип рибок гуппі залежить від присутності хижаків. Рибки гуппі (*Poecilia reticulata*), вирощені в умовах тиску хижаків і в умовах відсутності тиску хижаків - мають різний фенотип (відрізняються за морфологією голови і розмірами тіла) (Torres-Dowdall et al., 2012).



Рис. 16. Рибка гуппі (*Poecilia reticulata*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Poecilia+reticulata>).

Фенотипічна пластичність дафній *Daphnia pulex* у відповідь на дію кайромонів хижих водних личинок *Chaoborus*. Інформаційні хімічні речовини відіграють важливу роль у водних екосистемах. Вони спроможні змінювати взаємодію в харчовій мережі, наприклад, викликаючи реакції самозахисту у організмів - потенційних жертв.

Наприклад, планктонні прісноводні ракоподібні дафнії (*Daphnia pulex*) формують специфічні морфологічні захисні структури (т.зв. шийні зуби), у відповідь на хімічні сигнали (кайромони), які вивільняються з організму їх хижака - личинки фантомної мошки *Chaoborus*.

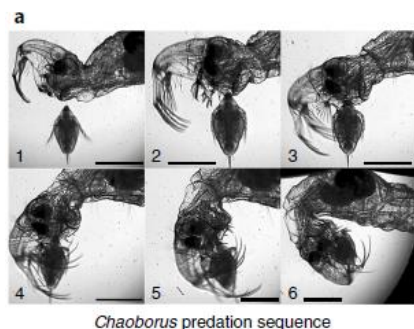
Weiss L.C. з колегами (2018) ідентифікували цей кайромон хижака *Chaoborus*. Біологічно активною основою даного кайромона є жирні кислоти, кон'юговані з аміногрупою глютаміну через N-кінець. Ці біологічно активні структурні молекули беруть участь в процесах травлення *Chaoborus*, що пояснює, той факт, чому вони постійно вивільняються в навколишнє середовище в присутності даного хижака, не дивлячись на те, що це є не сприятливим для самого хижака (Weiss et al., 2018).



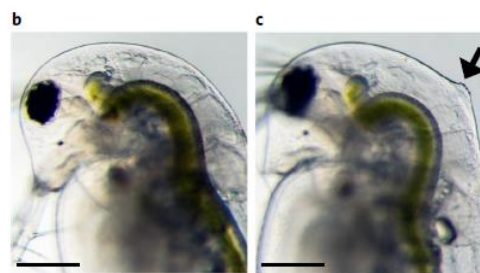
Рис. 17. Хижа водна личинка комара *Chaoborus* (<http://ptichka.net/kormlenie-ryb/koretra-chaoborus-ili-corethra>).



Рис. 18. Рачок дафнія (*Daphnia pulex*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Daphnia+pulex>).



Chaoborus predation sequence



Daphnia pulex control

Daphnia pulex induced

Рис. 19. Біологічна активність кайромона хижака *Chaoborus*. Де: (а) - послідовність подій нападу на рачків дафній у личинки хижака *Chaoborus*: дафнія, яка наближається (1-2), захоплюється (3-4) головою хаборуса і переноситься в ротовий отвір (5-6). 1 бар = 800 мкм; (В, с) - приклад дафнії без (b) і з (с) шийним зубом в області дорсальної частини голови (вказано чорною стрілкою). Оскільки дафнії потрапляють в рот хижакові головою вперед - то передбачається, що шийні зуби заважають личинці проковтнути дафнію, і що дафнії з шийними зубами з'їдаються рідше. 1 бар = 100 мкм (Weiss et al., 2018).

Самозахист дафній від хижаків робить їх більш чутливими до паразитів. Yin M. з колегами (2011) показали, що у дафній особини, у яких була індукована підвищена захищеність від хижаків, виявилися більш чутливими до зараження паразитичними дріжджовими грибами в порівнянні з менш захищеними особинами.

У двох незалежних експериментах відсоток успішного інфікування і кількість спор паразитів були вище серед захищених дафній в порівнянні з незахищеними дафніями. Результати цього дослідження проливають світло на еволюційне підґрунтя виникнення фенотипічної пластичності (Yin et al., 2011).

Речовини – репеленти

Осли (*Equus asinus*) є стійкими до укусів іксодових кліщів *Amblyomma sculptum* в результаті виділення їх організмом особливих речовин, що відлякують кліщів. Кліщі *Amblyomma sculptum* є переносниками рикетсії *Rickettsia rickettsii*, які викликають бразильську плямисту лихоманку (плямиста лихоманка Скелястих гір в США) - найбільш смертоносне захворювання, що переноситься кліщами і вражає людину. Осли (*Equus asinus*), на відміну від коней і людей, є стійкими до укусів цих кліщів.

Ferreira L.L. з колегами (2019) досліджували летючі речовини, які виділяють організми ослів і коней, і виявили відмінності в синтезі (E)-2-октена. Подальші дослідження показали, що ця речовина є репелентом - тобто речовиною, яка відлякує кліщів від потенційної жертви укусу (Ferreira et al., 2019).



Figura 3. *Amblyomma sculptum*. macho dorsal

Рис. 20. Кліщ *Amblyomma sculptum* - переносник рикетсій, які викликають бразильську плямисту лихоманку (<https://cloud.cnpqg.embrapa.br/controle-do-carrapato-ms/amblyomma-sculptum-f3/>).



Рис. 21. Осли, на відміну від коней і людей, є стійкими до укусів кліщів *Amblyomma sculptum*, внаслідок синтезу речовини, яка відлякує цих кліщів (<https://www.horsetalk.co.nz/2019/04/22/donkey-s-tick-repellent/>).

Статеві феромони

Статеві феромони паразитичних грибів. Статеве спілкування між комплементарними партнерами по спаровуванню в групі грибів зигоміцетів опосередковується системою триспороїдних феромонів. Ключовим ферментом для біосинтезу гормонально активних триспороїдів є 4-дігідрометилтриспоратдегідрогеназа (TSP1), фермент, що зустрічається у всіх зигоміцетних грибів. Триспорова кислота і деякі молекули її попередники виконують у грибів функції феромонів для розпізнавання комплементарних партнерів по спаровуванню і для індукції програми диференціювання грибів в напрямку утворення статевих спор.

У паразитичного зигоміцета *Parasitella parasitica*, який є біотрофним паразитом, що інфікує багато інших зигоміцетів, ці речовини виконують додаткову функцію: вони також відповідальні за розпізнавання господаря-паразита і формування характерних інфекційних структур (Ellenberger et al., 2017).



Рис. 22. Гриб *Parasitella parasitica*, який паразитує на грибі *Mucor circinelloides*. Де: (g) – галі; (s) – сикотичні клітини (https://pure.uva.nl/ws/files/2352250/161528_The_family_structure_of_the_Mucorales.pdf).

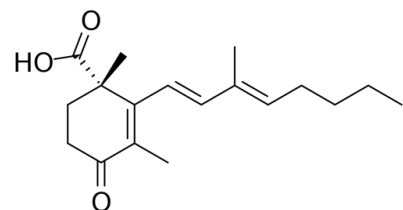


Рис. 23. Триспорова кислота - це статевий феромон, що дозволяє грибам розпізнавати партнерів по спаровуванню (<https://www.google.com.ua/search?q=Parasitella+parasitica>).

Рослини впливають на склад феромонів тварин, і, таким чином, на їх партнерів для спаровування. Geiselhardt S. з колегами (2012) показали, що жуки гірчицевого листа *Phaedon cochleariae* спаровуються переважним чином з самками, що виростили на таких же рослинах, в порівнянні з самками, що виростили на інших рослинах, ґрунтуючись на відмінностях в кутикулярних гідрокарбонах, які виконують функції контактних феромонів.



Рис. 24. Жуки гірчичного листа *Phaedon cochleariae* (<https://www.google.com.ua/search?q>).

У свою чергу, склад кутикулярних гідрокарбонів залежить від типу рослини, на якій харчується жук. Через два тижні після зміни рослини-господаря - змінюється склад кутикулярних гідрокарбонів жуків. Автори роботи вважають, що фенотипічна пластичність жуків, індукована рослиною-господарем, може бути раннім бар'єром, що обмежує потік генів і, в подальшому, який забезпечує появу нового виду жуків за рахунок т.зв. екологічного видоутворення (Geiselhardt et al., 2012).

Механізми зміни рослини-господаря у комах-фітофагів і феромони. Механізми зміни рослини-господаря у комах-фітофагів погано вивчені. Серед безлічі передбачуваних процесів нещодавно був запропонований статевий відбір за допомогою семіохімічних речовин. Ця гіпотеза припускає, що статеве спілкування у комах з використанням феромонів модифікується в результаті появи нової рослини-господаря, і така, викликана рослиною, фенотипова розбіжність в розпізнаванні партнерів може призвести до репродуктивної ізоляції між лініями господаря.

Vuts J. з колегами (2018) протестували цю гіпотезу на комах-олігофагах *Acanthoscelides obtectus*, які по всьому світу харчуються бобами *Phaseolus vulgaris*, і які також спроможні розвиватися на деяких рослинах-негосподарях, таких як нут (*Cicer arietinum* L.).

Проведене дослідження показало різний склад чоловічих статевих феромонів у комах, штучно поміщених на різні рослини-господарі (боби, нут, боби-нут). Самки, вирощені на рослинах бобів, не розрізняли ці суміші феромонів; в той час як самки, вирощені на рослинах нуту і нуту/боби, надавали перевагу чоловічим феромонам самців, вирощених на рослинах нуту.



Рис. 25. Жук квасолева зернівка (*Acanthoscelides obtectus*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Проте, електрофізіологічні відповіді антен на чоловічий запах у трьох ліній самок, вирощених на різних рослинах-господарях, були однаковими: усі вони надавали перевагу самцям, вирощеним на бобах. Тести вибору рослин для відкладання яєць також виявили однакову перевагу насіння бобів у всіх ліній самок, вирощених на різних рослинах-господарях, навіть після кількох поколінь, тоді як їх личинки не розрізняли насіння бобів і нуту. Автори роботи прийшли до висновку, що поява змін в хімічних сигнальних системах під час зміни рослини-господаря не сприяє еволюції нових рас комах *A. obtectus*, оскільки переваги в рослинах-господарях для відкладання яєць самками залишаються незмінними (Vuts et al., 2018).

Феромони соціального домінування

У цвіркунів соціальне домінування корелює зі складом гідрокарбонів їх кутикули: у підлеглих самців в кутикулі більше гідрокарбонів певного типу для

залучення самок. Агресивна поведінка між самцями поширена серед тварин. У багатьох видів домінуючі самці подають сигнали певного типу для того, щоб мінімізувати ескалацію конфліктів в співтоваристві. Це і забарвлення пір'я, і феромони, і ін. сигнали. Для багатьох таксонів тварин (для ссавців, ракоподібних, риб, комах) показано, що домінуюча і підпорядкована особини мають відмінності в феромонах.

Однак, статус самця - може змінитися. Що при цьому відбувається з феромонами? Вони змінюються теж. Але як? Кутикулярні гідрокарбони - це хімічні речовини, які входять до складу кутикули більшості наземних членистоногих. Первісна функція цих речовин - захист від зневоднення. Крім того, ці речовини використовуються в процесі близької комунікації між особинами. Для самців було показано, що їх соціальне оточення впливає на склад гідрокарбонів їх кутикули (тобто на експресію відповідних генів) і зміна складу кутикулярних гідрокарбонів може відбуватися досить швидко.

Thomas M.L. і Simmons L.W. (2011) вивчали австралійських польових цвіркунів *Teleogryllus oceanicus*, у яких статус домінування самців визначається успішністю їх спаровування та запліднення самок.

Статус домінування визначається здатністю самців залучати самок акустичними сигналами. При цьому пісні домінуючого самця не перериваються підлеглими самцями, тоді як пісні підлеглих самців - перериваються нападами домінуючого самця.



Рис. 26. Австралійський цвіркун (*Teleogryllus oceanicus*) (<https://carnivora.net/showthread.php?tid=1109&pid=1767>).

Тому, підлеглі самці мають більшу кількість кутикулярних гідрокарбонів певного типу, щоб хоч таким чином привернути самку. Автори роботи показали, що якщо домінуючий самець перестає битися з підлеглими самцями - то у нього змінюється склад гідрокарбонів кутикули (Thomas & Simmons, 2011).

Експресія основних білків сечі (MUP) і дарцина є надійним сигналом статусу домінування у самців мишей. Комунікаційні сигнали є ключовими регуляторами соціальних мереж і, як вважають, перебувають під тиском добору, щоб чесно відобразити соціальний статус, включаючи статус домінування. Запах домінуючих і не домінуючих особин по-різному впливає на поведінку, і ідентифікація конкретних феромонів, пов'язаних зі станом домінування і прогнозування його, має важливе значення для розуміння механізмів формування та підтримки соціальної мережі.

У мишей основні білки сечі (MUP) виділяються в надзвичайно великих кількостях. Було висловлено припущення, що рівні експресії цих білків достовірно відображають сигнал про статус домінування. Nelson A.C. з колегами (2015) була проведена оцінка того, чи пов'язані основні білки сечі (MUP) з домінуванням у мишей дикого типу, шляхом аналізу рівнів експресії цих білків до, під час і після змагання мишей за репродуктивні ресурси протягом 3 днів.

Під час змагання у домінуючих самців експресія основних білків сечі була на 24% вище, ніж у не домінуючих самців. Дарцин, виявлений в складі основних білків сечі (MUP), - це феромон, який стимулює залучення самок, і який є прогностичним фактором статусу домінування: у домінуючих самців експресія дарцина була вище, ніж у конкурентів.

Домінуючі особини також мали більш високе співвідношення дарцина до інших основних білків сечі (MUPs) до і під час змагання за репродуктивні ресурси. Ці відмінності, очевидно, є тимчасовими, оскільки після завершення змагання - не було виявлено ніяких відмінностей в основних білках сечі (MUPs) або в дарцині.

Необхідною умовою для розвитку комунікаційних сигналів є чесність, і отримані авторами роботи результати надають нове розуміння феромонів і соціальних мереж, показуючи, що експресія основних білків сечі (MUP) і дарцина є надійним сигналом статусу домінування особи в популяції (Nelson et al., 2015).

Феромони уникнення інбридингу

Феромони уникнення близькоспоріднених схрещувань (інбридингу). Домашні миші (*Mus musculus domesticus*) спроможні відрізнити близьких родичів від більш віддалених родичів на основі сигналів запахів, які забезпечуються основними білками сечі (MUP). Це дозволяє їм уникати спаровування з близькими родичами і зводить до мінімуму шкоду від інбридингу. Зокрема, було встановлено, що у інбредних білоногих мишей (*Peromyscus leucopus*) значно знижувався рівень виживання, коли їх знову вводили в природні місця існування.

Джмелі *Bombus bifarius* і *Bombus frigidus* також використовують феромони як засіб розпізнавання родичів, щоб уникнути близькоспоріднених схрещувань (інбридингу) (https://en.wikipedia.org/wiki/Pheromone#Avoidance_of_inbreeding).



Рис. 27. Джмелі *Bombus bifarius* використовують феромони для уникнення інбридингу (<https://bugguide.net/node/view/1462638>).

Феромони внутрішньовидової конкуренції

Морфологія самців павуків залежить від щільності популяції і коригується феромонами. Kasumovic M.M. з колегами (2009) вивчали два види павуків (*Nephila plumipes* і *Argiope keyserlingi*), у яких самці, що розвиваються, спроможні використовувати феромони як ознаку щільності популяції особин свого виду.



Рис. 28. Павук *Nephila plumipes* (<https://www.google.com.ua/search?q=Nephila+plumipes>).



Рис. 29. Павук *Argiope keyserlingi* (<https://www.google.com.ua/search?q=Argiope+keyserlingi>).

Метою роботи було з'ясувати, чи здатні самці змінювати свій розвиток у відповідь на демографічний тиск в природних популяціях. Отримані авторами роботи дані свідчать про те, що в межах кожного виду розмір і маса самців позитивно корелювали з щільністю популяції самців, але негативно корелювали зі щільністю популяції самок відповідного виду (Kasumovic et al., 2009).

Можливість контролю поширення інвазивних очеретяних жаб-аг *Rhinella marina* за допомогою феромонів, що сигналізують про внутрішньовидову конкуренцію. Багато інвазивних видів зазнають значної внутрішньовидової конкуренції, внаслідок їх інтенсивного розмноження. Clarke G.S. з колегами (2016) запропонували використовувати феромони внутрішньовидової конкуренції для контролю інвазивних видів.

В ході дослідження автори роботи використовували речовини, що виділяються в воду пуголовками інвазивних очеретяних жаб-аг (*Rhinella marina*), для пригнічення розвитку зародкових ембріонів цих жаб.

Проведені дослідження показали, що феромон-супресор є ефективним при дуже низьких концентраціях: достатньою є кількість феромону-аутоінгібітору, що виробляється трьома пуголовками в межах 750 л води. В цілому, феромон-супресор очеретяної жаби-аги може бути використаний в якості нового ефективного способу контролю поширення інвазивних жаб (Clarke et al., 2016).



Рис. 30. Інвазивний вид - жаба ага (*Rhinella marina*) (<https://www.google.com.ua/search?q>).

Феромони, що запобігають канібалізму (внутрішньовидовому хижацтву)

Мушки дрозофіли виділяють феромони, які запобігають канібалізму їх яєць. Яйцекладучі тварини в багатьох таксонах виробили різні стратегії, які запобігають поїданню їх яєць. Наприклад, спільне відкладання яєць у несоціальних видів зводить до мінімуму хижацтво яєць.

Однак, у видів канібалів, така поведінка навпаки, полегшує хижацтво яєць. При цьому токсини і апосематична передача сигналів, які утримують хижаків інших видів, що поїдають яйця, часто є неефективними проти родичів, стійких до таких дій.

Ячний канібалізм може бути адаптивним, оскільки канібали можуть виграти за рахунок зниження конкуренції і додаткового харчування. Але, оскільки яйцевий канібалізм знижує дарвінівську пристосованість, еволюція антиканібалістичних стратегій є досить поширеною. При цьому такі адаптивні стратегії, швидше за все, будуть нетоксичними, тому що застосування токсинів проти сородичів - знижує пристосованість виду.

Narasimha S. з колегами (2019) було показано, що мушки дрозофіли (*D. melanogaster*) використовують специфічні гідрокарбони для хімічного маскуваня своїх яєць від канібалізму (поїдання) своїми ж личинками.

Зокрема, було встановлено, що синтезуємий материнським організмом феромон 7,11-гептакозадієн (7,11-HD) у восковому шарі яєчної шкаралупи перешкоджає канібалізму яєць. Було також показано, що 7,11-HD є нетоксичним і може маскувати субстрати, які розташовані під ним (наприклад, дріжджі), при нанесенні на них у вигляді покриття (Narasimha et al., 2019).

Феромони стресу і голодування дорослих особин

У круглих черв'яків феромони впливають на синтез молекул мікроРНК і, таким чином, на перехід черв'яків до стадії спокою - личинки дауер. Неприятливі умови навколишнього середовища спроможні впливати на швидкість розвитку тварин і призводити до тимчасової зупинки їх розвитку (до діапаузи). Прикладом є перехід у нематод *Caenorhabditis elegans* до стадії спокою у вигляді личинки дауер (dauer).

Ilbay O. і Ambros V. (2019) було встановлено, що голодування, а також феромони аскарозиди, які індукують у нематод *Caenorhabditis elegans* перехід до діапаузи, пригнічують

синтез молекул мікроРНК родини let-7 і таким, чином, впливають на перехід нематод до стадії спокою дауер (Ilbay & Ambros, 2019).

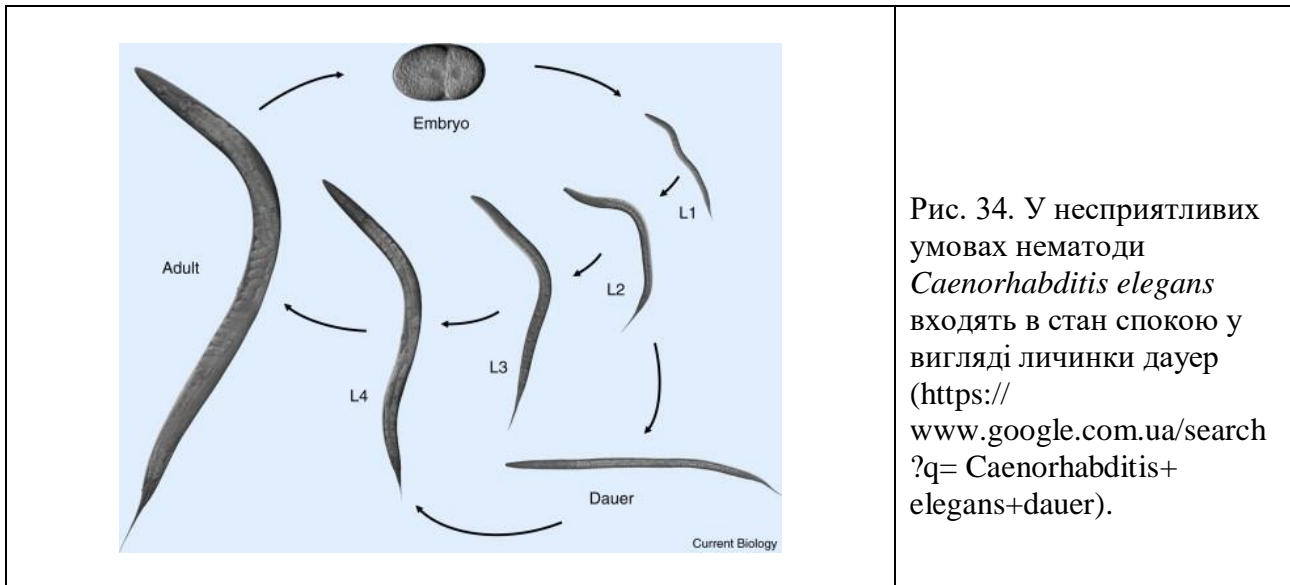


Рис. 34. У несприятливих умовах нематоди *Caenorhabditis elegans* входять в стан спокою у вигляді личинки дауер (<https://www.google.com.ua/search?q=Caenorhabditis+elegans+dauer>).

В стресових умовах і при нестачі їжі феромони аскарозида дорослих круглих хробаків регулюють фенотипічну пластичність рота молодих черв'яків і перехід до стадії личинки дауер (стадія спокою). Недавні дослідження модельного організму *Caenorhabditis elegans* показали, що ці нематоди синтезують цілу родину низькомолекулярних сигнальних молекул, аскарозидів, які контролюють безліч аспектів життєвої історії *Caenorhabditis elegans*, включаючи розвиток личинок, спаровування особин і соціальну поведінку.

Як і *Caenorhabditis elegans*, *Pristionchus pacificus* є вільноживучою нематодою, яка була використана в якості модельного організму для вивчення біології розвитку і еволюції. *Pristionchus pacificus* утворює некроменічну асоціацію з жуками, що може бути попередньою адаптацією до еволюції справжнього паразитизму. *NB! Круглі черви живляться бактеріями і їх багато в зонах загиблих організмів. Некроменічна асоціація нематод і їх господарів полягає в тому, що молоді черв'яки залишаються пов'язаними зі своїми тваринами-господарями до їх смерті - і потім їх з'їдають. Тоді як при форетичній асоціації - нематоди просто транспортуються тваринами і потім залишають їх, потрапляючи в умови, багаті на бактерії, якими вони харчуються.

Нематоди *Pristionchus pacificus* виявляють два типи фенотипічної пластичності, які є ключовими для виживання цих круглих черв'яків в дикій природі. Як і у багатьох інших видів нематод, суворі умови навколишнього середовища, наприклад, нестача їжі, викликають зупинку розвитку у черв'яків і формування личинки-дауер - стресостійкої альтернативної личинкової стадії.

Крім того, *Pristionchus pacificus* також демонструє унікальний диморфізм у розвитку рота, представляючи приклад фенотипічної пластичності морфології у дорослої багатоклітинної тварини. У дорослих нематод може формуватися або вузький («стеностоматозний»), або широкий і більш складний («евристоматозний») отвір рота, причому останній тип ротового отвору розвивається у відповідь на умови низької доступності їжі. Дві різні форми рота пов'язані з різними типами харчування: вважається, що стеностоматозні черв'яки живляться головним чином бактеріями, тоді як евристоматозна форма ротового отвору підходить для хижої поведінки по відношенню до інших нематод.

Попередні дослідження *Pristionchus pacificus* показали, що як формування личинки дауер, так і диморфізм ротового отвору регулюються щільністю популяції черв'яків, що дозволяє припустити, що ці два фенотипи управляються міжорганізменною передачею сигналів за допомогою маленьких сигнальних молекул.

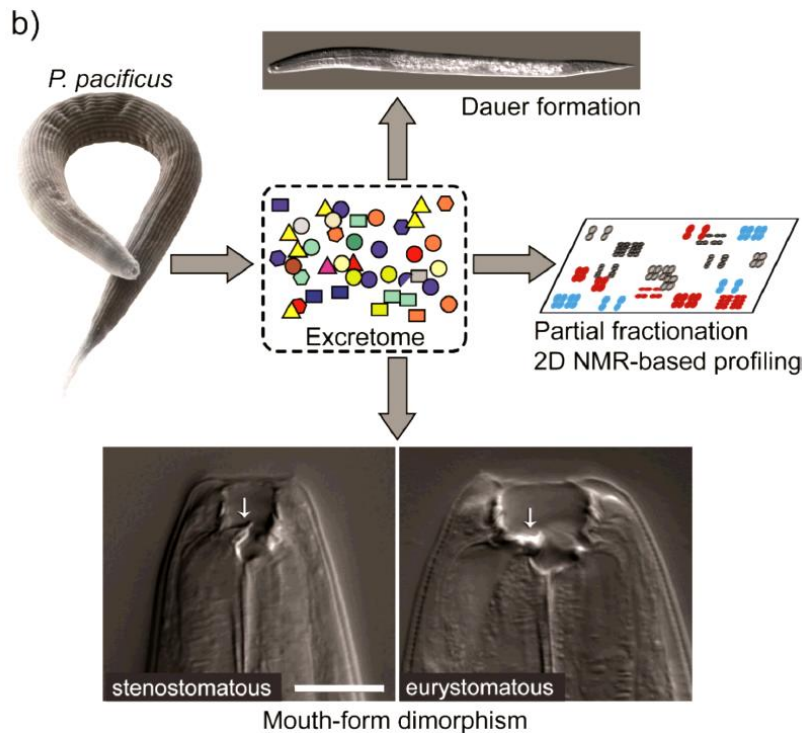


Рис. 31. Сигнальні молекули екзо-метаболама *Pristionchus pacificus* викликають зупинку розвитку личинки дауер і впливають на напрямок розвитку форми ротової порожнини нематод, сприяючи формуванню евристоматозної форми (Bose et al., 2012).

Аналіз екзо-метаболомних фракцій *Pristionchus pacificus* з дауер-індукуючою активністю, виявив вражаюче розмаїття речовин - первинних метаболітів, задіяних в передачі сигналу, таких, як ксилоза, треонін, аденозин, короткі жирні кислоти, сукцинат, фенілетаноламін, декілька похідних дідезоксисуکرів.

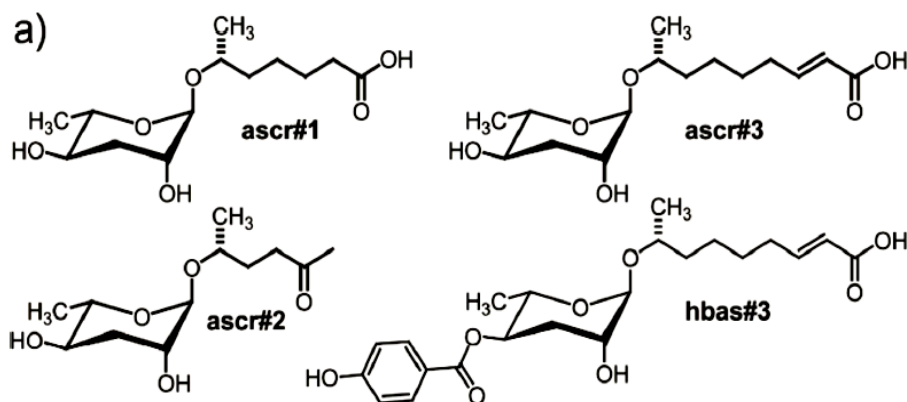


Рис. 32. Структури раніше ідентифікованих низькомолекулярних сигнальних молекул, що регулюють розвиток і поведінку *Caenorhabditis elegans* (Bose et al., 2012).

Проведене Bose N. з колегами (2012) тестування синтетичних аналогів виявлених аскарозидів показало, що фенотипічна пластичність і розвиток личинок у *Pristionchus pacificus* контролюються різними, але такими, що частково перекриваються, наборами сигнальних молекул, які в природних умовах синтезуються дорослими особинами.

Крім того, отримані авторами роботи результати дають прямий доказ того, що низькомолекулярний контроль фенотипічної пластичності дорослих організмів у багатоклітинних тварин заснований на консервативних ендокринних сигнальних шляхах (Bose et al., 2012).

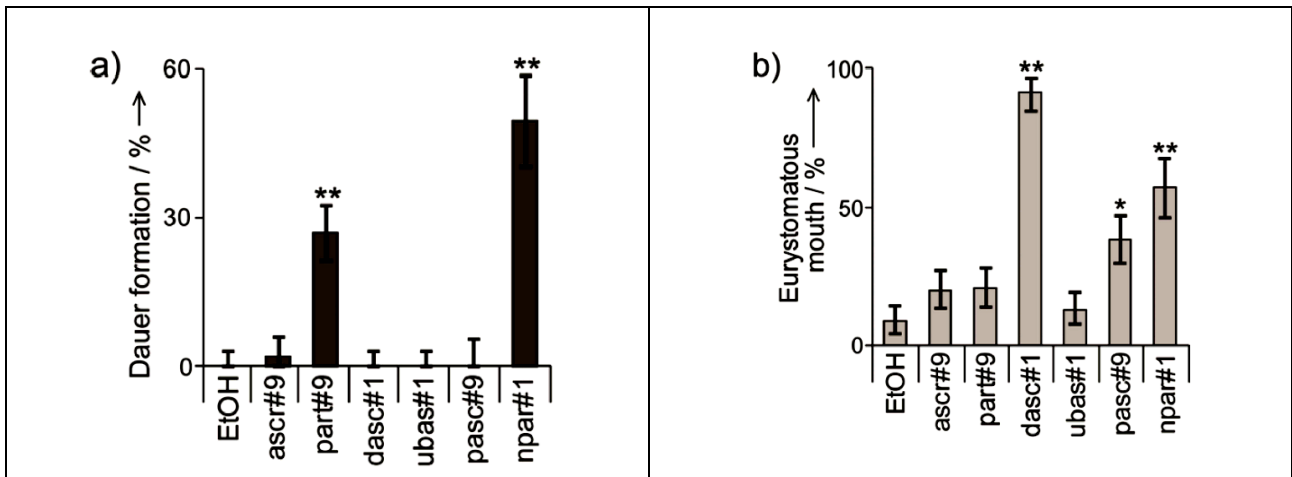


Рис. 33. Регуляція диморфізму ротової порожнини (b) і індукція розвитку личинки дауер (a) синтетичними аналогами ідентифікованих метаболітів *Pristionchus pacificus*. Синтетичні аналоги аскарозидів наведені по осі ОХ. *NB! Синтетичні аналоги аскарозидів аналізували при концентрації 1 мкМ (*P < 0,01, **P < 0,001) (Bose et al., 2012).

Феромони соціальних комах

Роль феромонів-праймерів в експресії генів, які визначають кастову приналежність термітів (за Tarver et al., 2010). Фенотипічна пластичність - це формування різних фенотипів в межах одного генотипу в результаті впливу факторів навколишнього середовища на розвиток організму. Фенотипічна пластичність може проявлятися градуально і дискретно. Наприклад, норма реакції - це фенотипічно градуальна відповідь організму, що розвивається, на певні умови середовища. Тоді як поліфенізми - мають місце в тому випадку, коли під впливом факторів середовища формуються альтернативні дискретні фенотипи без проміжних форм. У соціальних комах з'явилося кілька альтернативних фенотипів (поліфенізмів), які дозволяють їм виконувати різні функції в колонії.

Каста - це фенотипічно і поведінково дискретні особини, які кооперуються одна з одною для забезпечення нормального функціонування колонії. Основні каста термітів: робітники, солдати і особини, які залишають потомство. Всі яйця термітів є тотипотентними. Диференціація на каста відбувається на підставі зміни експресії генів онтогенезу у відповідь на дію чинників навколишнього середовища і внутрішньо-організменних сигналів.

Перша гілка диференціації личинки - безкрила особина або імагінальна німфа. Потім німфа може: а) перетворитися на робочу особину; б) перетворитися на крилату зрячу особину, яка дасть початок новій колонії; в) перетворитися на крилату і зрячу особину, яка буде розмножуватися в цій же колонії, без розселення.



Рис. 35. Терміти (*Reticulitermes flavipes*) (<https://www.google.com.ua/search?q>).

Робочі особини є поліпотентними, тобто вони спроможні стати: а) робітниками; б) диференціюватися в солдатів; в) диференціюватися в безкрилих і безоких неотенічних продуцентів, які виконують допоміжні репродуктивні функції.

До внутрішніх факторів, що спрямовують онтогенез термітів, відносяться: ювенільні гормони, запасні протеїни і тип харчування. До зовнішніх факторів належать феромони праймери, температура, якість їжі, тип пору року і т.н. Крім того, наявність солдат -

пригнічує формування нових солдат: дослідження показали, що тіло термітів-солдат виділяє феромон-праймер, за хімічною структурою це γ -cadinene і його альдегід γ -cadinenal; але, він сам по собі не є ефективним - необхідна присутність якихось ще додаткових речовин (Tarver et al., 2010).

Подвійний ефект феромону королеви ос в регулюванні соціальної структури колонії комах. Еусоціальні комахи демонструють поділ функцій між репродуктивними королевами і, як правило, стерильними робочими особинами. Нещодавно було показано, що королеви різних груп соціальних комах використовують специфічні, еволюційно консервативні кутикулярні вуглеводні, щоб сигналізувати про присутність королеви і перешкоджати розмноженню робочих особин.

Крім того, робочі особини також спроможні розрізняти яйця, знесені королевою, і яйця, знесені робочими особинами, причому останні знищуються робочими в процесі, відомому як «охорона». «Охоронна» діяльність робочих особин являє собою класичний приклад механізму зменшення конфліктів, в якому репродуктивна монополія королеви підтримується шляхом виборчого знищення яєць, знесених робочими особинами. Однак точні сигнали, що використовують в роботі «охоронців», до цих пір залишаються неясними.

Оі С.А. з колегами (2015) було встановлено, що у звичайної осі, *Vespula vulgaris*, феромон, який сигналізує про походження яєць і дозволяє робочим вибірково знищувати яйця, відкладені робочими особинами, фактично збігається з одним із сигналів королеви, який викликає безпліддя у робочих особин. Отримані дані свідчать про те, що феромони королеви регулюють соціальну активність комах двома різними і взаємодоповнюючими способами, тобто, сигналізуючи про присутність королеви і перешкоджаючи розмноженню робочих, а також полегшуючи розпізнавання і контроль над яйцями, знесеними робочими особинами (Oй et al., 2015).



Рис. 36. Оса звичайна (*Vespula vulgaris*) (<https://www.google.com.ua/search?q>).

Консервативний клас феромонів королеви зупиняє розмноження соціальних комах. Великий еволюційний перехід до еусоціальності з репродуктивним поділом праці між королевами і робочими особинами відбувався незалежно щонайменше 10 разів у мурах, бджіл і ос. Вважається, що феромони, які продукують королеви, відіграють ключову роль в регулюванні цієї складної соціальної системи, але їх еволюційна історія залишається невідомою.

Van Oystaeyen А. з колегами (2014) ідентифікували феромони королеви, що викликають безпліддя робочих особин у ос, джмелів і мурах пустелі і узагальнили наявні дані про сполуки, які характеризують плодючість самок у 64 видів соціальних комах.



Рис. 37. Три види еусоціальних комах, у яких цариці пригнічують репродуктивну функцію робочих за допомогою ідентичних або дуже подібних за структурою насичених вуглеводнів: звичайна оса *Vespula vulgaris*, земляний джміль *Bombus terrestris*, мураха-бігунок *Cataglyphis iberica* (https://elementy.ru/novosti_nauki/432174/).

Отримані результати свідчать про те, що феромони королеви є надзвичайно консервативними щонайменше в трьох незалежних лініях еусоціальних комах: у ос, мурах і у деяких бджіл - королеви всіх цих груп використовують нелеткі, насичені вуглеводні для інформування колонії про свою плодючість і для пригнічення розмноження робочих особин. Отримані дані свідчать про те, що феромони королеви еволюціонували з консервативних сигналів одиночних предків (Van Oystaeyen et al., 2014).

Різні таксони еусоціальних комах використовують однакові королівські феромони. Holman L. з колегами (2019) було встановлено, що у еусоціальних комах гени, робота яких є чутливою до дії феромонів королеви, - це давні гени, які є подібними у мурах, ос, бджіл, не дивлячись на те, що ці таксони розійшлися від загального предка 150 млн.р.т. і вже після цього в межах цих таксонів з'явилися робочі особини і королеви. Королівські феромони впливають на транскрипцію і сплайсинг багатьох генів. Було також показано, що мурахи і бджоли використовують подібні генетичні модулі для поділу популяції на робочих особин і королев (Holman et al., 2019).

Епігенетика як відповідь на «особливу складність Дарвіна» (за Herb, 2014). Епігенетичні модифікації дозволяють отримувати різні фенотипи на базі одного і того ж генома через геномний контроль транскрипції. Нещодавно було виявлено, що метилування ДНК у бджіл і модифікації гістонів у мурах сприяють формуванню кастових фенотипів в процесі розвитку особин і в зрілому віці.

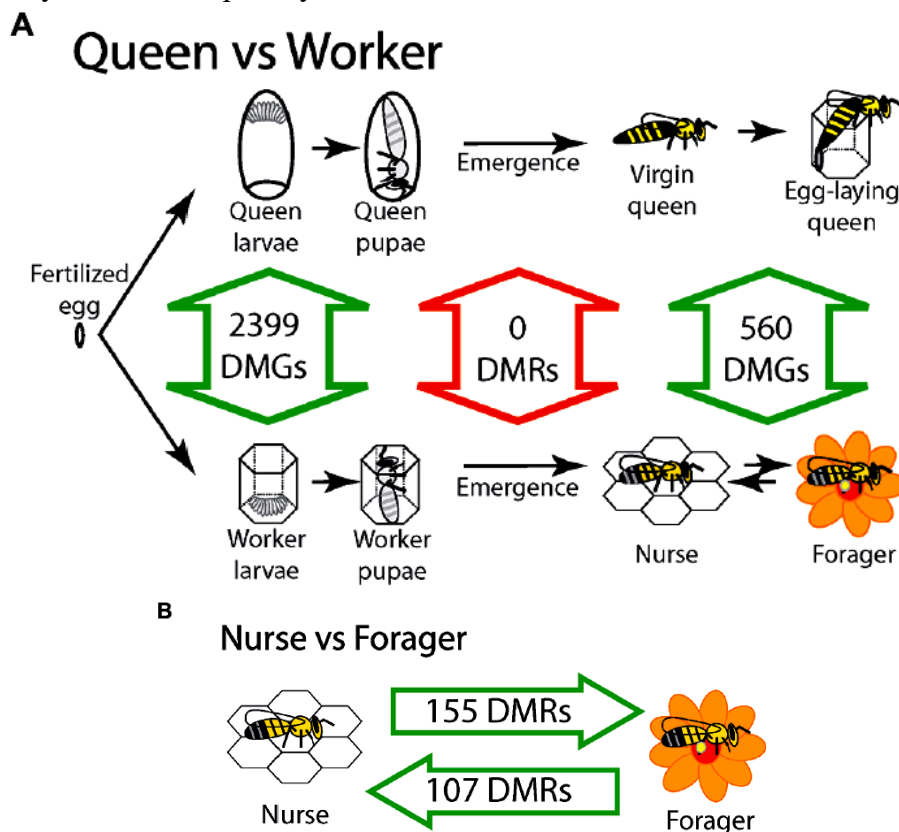


Рис. 38. Касты медоносних бджіл відрізняються метилуванням їх ДНК, за винятком часу появи особин. (А) Аналіз результатів численних досліджень показує, що метилування ДНК розділяє королев і робочих особин під час розвитку личинок, але ця різниця зникає на той час, коли вони стають дорослими. Де: DMGs - кількість диференційно метильованих генів; DMR - кількість диференційно метильованих областей. (В) Оборотність відмінностей між особинами «няньками» і особинами «фуражирами» показує, що метилування ДНК використовується для тимчасової фіксації фенотипів суб-касти протягом життя робочих особин при переході між суб-кастовими завданнями. Внутрішньокастові зміни в метилуванні ДНК у «няньок» і «фуражирів» в дорослому віці можуть пояснити відмінності між кастами, які спостерігаються між дорослими королевами і робочими особинами. Оскільки королеви і робочі особини однакові під час їх появи, можливо, що метилування ДНК є більше не

потрібним для підтримки незворотних морфологічних відмінностей між королевами і робочими особинами, і будь-які відмінності в метилуванні ДНК, що спостерігаються між дорослими королевами і робочими особинами, є просто результатом кастових змін у дорослих особин.

Це розуміння дозволяє вченим повернутися до однієї з найбільших проблем Дарвіна в його теорії природного відбору: походження декількох форм стерильних робочих особин в межах еусоціальних різновидів.

Диференціальне харчування личинок створює два різних шляхи розвитку між королевами і робочими особинами, причому робочі додатково змінюються феромонними сигналами. А гнучкий епігенетичний контроль забезпечує механізм для інтерпретації соціальних сигналів, які створюють відмінні суб-кастові фенотипи робочих особин.

Нещодавні відкриття вказують на чітке використання метилування ДНК до і після появи дорослих особин. Крім того, порівняння генів, які диференційно метиловані і транскрипційно змінені при передачі сигналів феромонами, дозволяє припустити, що епігенетика може відігравати ключову роль у передачі сигналів феромонів для отримання субкастових фенотипів.

Таким чином, епігенетичні модифікації є молекулярним механізмом, який спроможний пояснити «особливу складність» Дарвіна і забезпечити появу безлічі субфенотипів серед стерильних індивідуумів (Herb, 2014).

Феромони і кайромони рослин

Об'їдання рослиноїдними тваринами призводить до виділення рослинами огірка (*Cucumis sativus* L.) летючих речовин, які привертають природних хижаків, що поїдають шкідників огірків. У відповідь на об'їдання членистоногими, рослини виділяють летючі речовини, які залучають хижих ворогів цих членистоногих. Kappers I.F. з колегами (2011) в умовах теплиці порівняли привабливість восьми сортів огірка (*Cucumis sativus* L.) для хижих кліщів *Phytoseiulus persimilis* після зараження рослин трав'янідними павутинними кліщами *Tetranychus urticae*.

Отримані результати свідчать про те, що привабливість рослин огірка для хижих кліщів значно відрізнялася, причому найбільш привабливий сорт привертав вдвічі більше хижаків, ніж найменш привабливий сорт.



Рис. 39. Напад хижого кліща *Phytoseiulus persimilis* на рослиноїдного павутинного кліща *Tetranychus urticae* (<https://www.arbico-organics.com/product/mite-predator-phytoseiulus-persimilis-spidermite-killer-greenhouse/beneficial-insects-predators-parasites>).

Хімічний аналіз летких речовин, що виділяються зараженими рослинами, виявив суттєві відмінності між сортами огірків як за кількістю, так і за якістю речовин, що виділяються. При цьому якість (склад) суміші є більш важливою для привабливості, ніж кількість виділених летючих речовин. Зокрема, кількість (E)- β -оксигену, (E,E)-ТМТТ, дігідоактинідіоліду і міристинової кислоти позитивно корелювала з залученням хижих кліщів (див. рис) (Kappers et al., 2011).

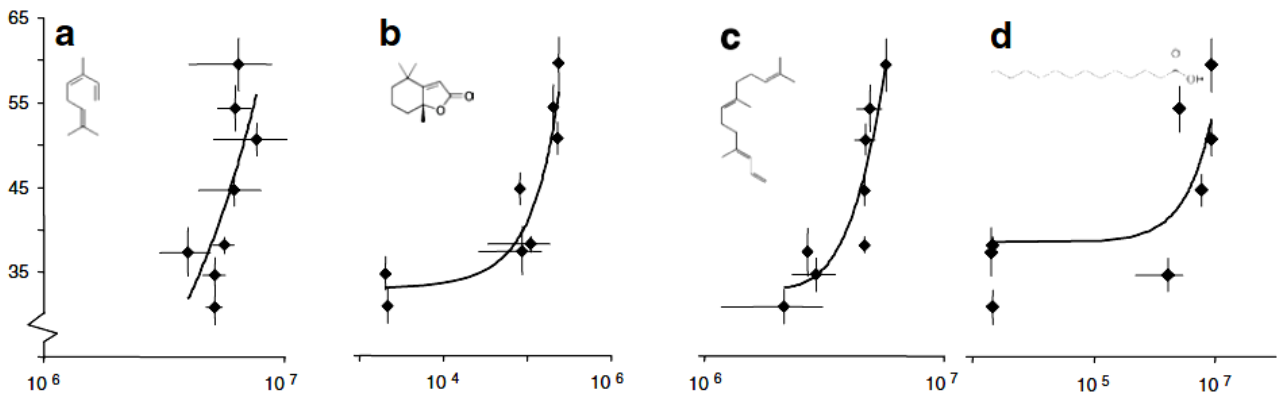


Рис. 40. Кореляція між кількістю залучених до рослин огірка хижих кліщів (вісь ОУ) і концентрацією певних летких речовин в виділеннях пошкоджених рослин огірка (вісь ОХ); a-d - речовини, концентрація яких позитивно корелювала з кількістю залучених хижих кліщів: (a) - (E)- β -ocimene, (b) - dihydroactinidiolide, (c) (E,E)-ТМТТ, (d) - myristic acid (Kappers et al., 2011).

Леткі речовини, які виділяють рослини у відповідь на локальне обгризання рослиноїдними тваринами, активують захисні реакції всієї рослини, а також - самозахист сусідніх рослин. Рослини реагують на місцеве ушкодження рослиноїдними тваринами або патогенну інфекцію фенотипічними змінами, які знижують небезпеку подальшого нападу. Цей так званий індукований опір зазвичай не обмежується ураженим органом рослини, але також проявляється у віддалених, непошкоджених частинах рослини.

Було встановлено, що сигнальні молекули, такі як жасмонова кислота і саліцилова кислота, здатні переміщатися в рослині по ксилемі або флоемі і забезпечувати формування стійкості у всієї рослини. Крім того, Neil M. і Bueno J.C. (2007) було виявлено, що леткі речовини, які вивільняються у відповідь на пошкодження рослини рослиноїдними тваринами, є необхідними для того, щоб викликати секрецію екстрафлорального нектару в інших частинах цієї ж рослини. Екстрафлоральний нектар приваблює мурах і інших хижих членистоногих і служить ефективним непрямим захистом від рослиноїдних тварин.

Проведені дослідження показали, що леткі речовини вивільняються з листя протягом декількох хвилин у відповідь на пошкодження тканини і є речовинами, які викликають секрецію нектару не тільки в неушкоджених частинах вже пошкодженої рослини, але також і у сусідніх рослин (Neil & Bueno, 2007).

Рослини здатні сприймати феромони комах: вплив на рослини *Solidago altissima* статевих феромонів самців мухи *Eurosta solidaginis* активує захисні механізми рослини, що запобігає подальшому об'їданню даної рослини і відкладанню в її тканини яєць самками мух. Недавні дослідження показали, що рослини реагують на запахи навколишнього середовища. Наприклад, деякі рослини-паразити ростуть у напрямку до летючих сигналів від своїх рослин-господарів, крім того, було встановлено, що рослини виявляють підвищену захисну здатність після впливу летких виділень від сусідніх рослин, пошкоджених рослиноїдними тваринами. Незважаючи на такі інтригуючі відкриття, поки мало відомо про виникнення та значення реакції рослин на запахи в природних системах.

Helms A.M. з колегами (2013) досліджували можливість того, що деякі рослини спроможні реагувати на пахучі речовини, які виділяються шкідниками даних рослин. Самки мух *Eurosta solidaginis* відкладають яйця в рослини золотушника (*Solidago altissima*) і викликають формування на цих рослинах галів.

Проведені авторами роботи дослідження показали, що рослини золотушника, які піддавалися впливу статевого аттрактанта самця мухи *Eurosta solidaginis*, проявляють посилені захисні реакції і знижену сприйнятливості до пошкодження від обгризання комахами. У польовому експерименті самки мух *Eurosta solidaginis* не виявили бажання відкладати яйця в рослини золотушника, які раніше піддавалися впливу статевих летючих

феромонів самців; крім того, загальні показники обгризання були знижені у рослин, що піддавалися впливу статевого феромону самців мух.



Рис. 41. Самець мухи *Eurosta solidaginis* сідає на рослину-господаря *Solidago altissima* і виділяє статеві феромони, приваблює для потенційних партнерів (Helms et al., 2013).



Рис. 42. Розвиток гала *Eurosta solidaginis* на стеблі рослини *Solidago altissima* (Helms et al., 2013).

Лабораторні тести підтвердили зниження ефективності обгризання рослин спеціалізованими рослиноїдними шкідниками *Trirhabda virgata* на рослинах, які піддавалися впливу феромонів самців мух, а також посилення індукції основного захисного гормону - жасмонової кислоти у рослин, які зазнали впливу рослиноїдних тварин.

Ці несподівані результати екологічних досліджень свідчать про раніше не вивчений тип взаємодії між рослинами і комахами, який включає реакції рослин на пахучі речовини, що виділяють комахи (Helms et al., 2013).

Рослини-паразити роду *Cuscuta* використовують леткі сигнали для визначення місця розташування рослини-господаря. Леткі речовини, що виділяються рослинами, відіграють важливу роль в забезпеченні взаємодії між різними видами рослин. Runyon J.B. з колегами (2006) було показано, що паразитична рослина *Cuscuta pentagona* (доддер) використовує леткі сигнали для визначення місця розташування рослини-господаря.



Рис. 43. Квіти паразитичної рослини *Cuscuta pentagona* (<https://en.wikipedia.org/wiki/>).

Проростки рослин *Cuscuta pentagona* демонструють спрямований ріст до рослин томата (*Lycopersicon esculentum*) і до екстракту летючих речовин рослин томата. Виділення рослин *Impatiens wallerana* і *Triticum aestivum* також викликають спрямований ріст паразитичних рослин *Cuscuta pentagona*.

Крім того, було виявлено, що проростки спроможні розрізняти леткі речовини рослин томата і пшениці і переважно рости в напрямку перших. Кілька речовин з рослин томата і пшениці викликають спрямований ріст *Cuscuta pentagona*, тоді як одна сполука з рослин пшениці є репелентом. Отримані результати надають переконливі докази того, що леткі речовини забезпечують важливі екологічні взаємодії між різними видами рослин (Runyon et al., 2006).

Феромони і мімікрія

Мімікрія жуків під ос за допомогою феромонів: жуки-керамбіциді імітують веспідних ос як за запахом, так і за зовнішнім виглядом. Mitchell R.F. з колегами (2017)

було встановлено, що керамбіцидні жуки *Megacyllene caryae* (Gahan) і *Megacyllene robiniae* (Forster), які імітують веспідних ос (*Vespula*), також імітують запах своєї моделі, продукуючи речовини - спіроацетали, які входять до складу феромонів небезпеки, що виділяються з отруйних залоз цих ос. Таким чином, мімікрія жуків під ос включає не тільки формування зовнішньої схожості цих організмів, але - і подібності в запахах (Mitchell et al., 2017).



Рис. 44. Керамбіцидний жук *Megacyllene robiniae* (<https://www.google.com.ua/search?q=>



Рис. 45. Оса греманська (*Vespula germanica*) роду веспідних ос (<https://ru.wikipedia.org/wiki/Vespula>).

Хижак приваблює потенційних жертв за допомогою обманних хімічних речовин

Самки павуків-болас роду *Mastophora* залучають потенційних жертв - самців молі за допомогою хімічної імітації статевих феромонів цих видів молі. Самки павуків-болас роду *Mastophora* залучають своїх потенційних жертв - самців деяких видів молі - за допомогою хімічної імітації статевих феромонів цих видів молі.

При цьому більш старі павуки захоплюють метеликів, розгойдуючи липку глобулу, підвішену на нитці, в напрямку наближення самців молі. Тоді як молоді павуки не використовують липку глобулу, але замість цього захоплюють здобич, в основному - двокрилих комах, передніми двома парами ніг.



Рис. 46. Павук-болас *Mastophora phrynosoma* (<https://www.google.com.ua/search?q=>



Рис. 47. Метелик *Psychoda phalaenoides* (<https://www.google.com.ua/search?q=Psychoda+phalaenoides>).

*NB! Павук «болас» - це будь-який з видів павуків, які замість того, щоб плести звичайні павутинні мережі, полюють за допомогою липкої кульки з павутини на кінці павутинної нитки, відомої як «болас».

Польові експерименти Yeagan K.V. і Quate L.W. (1996), проведені протягом дворічного періоду, показали, що ювенільні павуки-болас спеціально привертають метеликів (*Psychodidae*). При цьому кожен вид павуків спеціалізується на конкретному виді здобичі. Зокрема, в трьох експериментах липкі пастки, що містили молодих павучків *Mastophora phrynosoma*, послідовно захоплювали значно більшу кількість самців *Psychoda phalaenoides*, ніж пастки, що містили павуків інших видів *Mastophora* або не містили павуків взагалі (контрольні пастки) (Yeagan & Quate, 1996).

Хижий гриб *Arthrobotrys oligospora* імітує запахи їжі і статеві феромони, щоб заманити круглих черв'яків в свої кільця-пастки. Основною здобиччю хижого гриба *Arthrobotrys oligospora* є круглі черв'яки *Caenorhabditis elegans*, які потрапляють до нього в ловчі кільця.

Проведені Hsueh Y.P. з колегами (2017) дослідження показали, що *Caenorhabditis elegans* і інші нематоди залучаються леткими сполуками, які продукує хижий гриб *Arthrobotrys oligospora*. Аналіз летких метаболітів, отриманих з хижого гриба *Arthrobotrys oligospora*, виявив кілька речовин, що імітують харчові сигнали, привабливі для нематод.

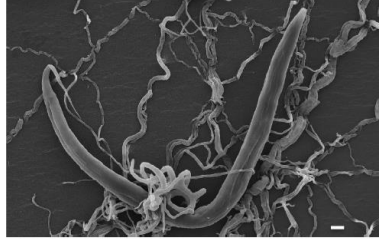


Рис. 48. Черв'як *Caenorhabditis elegans*, який потрапив в пастку хижого гриба *Arthrobotrys oligospora*. 1 бар = 10 мкм (Hsueh et al., 2017).

Крім того, одна зі сполук, метил-3-метил-2-бутеноат (ММВ), додатково викликала сильне специфічне щодо статі і стадії розвитку залучення у кількох видів *Caenorhabditis*. Більше того, присутність даної речовини (ММВ) впливала на спаровування нематод, що дозволяє припустити, що ММВ може імітувати статевий феромон у видів *Caenorhabditis*. Було також встановлено, що реакція черв'яків на леткі речовини хижого гриба включає активування нюхового нейрона черв'яків.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що хижий гриб *Arthrobotrys oligospora*, використовує мімікрію запахів для залучення своєї здобичі через активування нюхового нейрона у круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans* і споріднених видів (Hsueh et al., 2017).

Паразит обманює господаря за допомогою синтезу спеціальних хімічних речовин

Кліщ-ектопаразит *Varroa destructor* змінює свої кутикулярні вуглеводні, щоб наслідувати нових господарів. Кліщ варроа деструктор (*Varroa destructor*) - є ектопаразитом бджіл. Його початковим господарем була бджола східна *Apis cerana*, але сьогодні цей паразит також став серйозною глобальною загрозою і для європейської бджоли *Apis mellifera*.



Рис. 49. Кліщ *Varroa destructor* є ектопаразитом бджіл (https://ru.wikipedia.org/wiki/Varroa_destructor).



Рис. 50. Бджола східна (*Apis cerana*) - первинний господар кліщів *Varroa destructor* (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Попередні дослідження показали, що кліщ *Varroa* може імітувати кутикулярні вуглеводні господаря, що дозволяє паразиту уникнути гігієнічної поведінки бджіл-господарів. Le Conte Y. з колегами (2015) було встановлено, що кліщ *Varroa* здатний

імітувати кутикулярні вуглеводні нового виду бджіл при штучному перенесенні цього кліща на новий вид господаря.

При цьому кліщі, що паразитують на бджолах *Apis cerana*, більш ефективно, ніж кліщі, що паразитують на бджолах *Apis mellifera*, здатні імітувати кутикулярні гідрокарбони як одного, так і другого виду бджіл. Ця дивовижна здатність до адаптації може пояснити відносно недавній перехід цих кліщів від господаря *Apis cerana* до нового господаря *Apis mellifera* (Le Conte et al., 2015).

Гніздові паразити обманом потрапляють в гнізда господарів

Гніздові паразити використовують статеві феромони своїх господарів для потрапляння в їх гніздо. Кооперативна поведінка поширена серед соціальних комах, таких як бджоли, оси, мурахи і терміти. Однак, про таку поведінку не повідомлялось у видів комах, які використовують мімікрію для маніпулювання здобиччю або господарями.

Saul-Gershenz L.S. і Millar J.G. (2006) було встановлено, що личинки жука *Meloe franciscanus*, які паразитують в гніздах одиночних бджіл *Habropoda pallida*, збираються разом на рослині в клубочок і виділяють хімічний сигнал, який імітує статевий феромон самки бджоли. Цей феромон привертає самців бджіл до скупчення личинок, і при контакті - личинки жуків прикріплюються до самців бджіл. Потім личинки передаються від самців до самок бджіл під час спаровування, і переносяться самками в гнізда. Саме завдяки кооперативній поведінці - личинкам жука вдається обманювати самців бджіл (Saul-Gershenz & Millar, 2006).

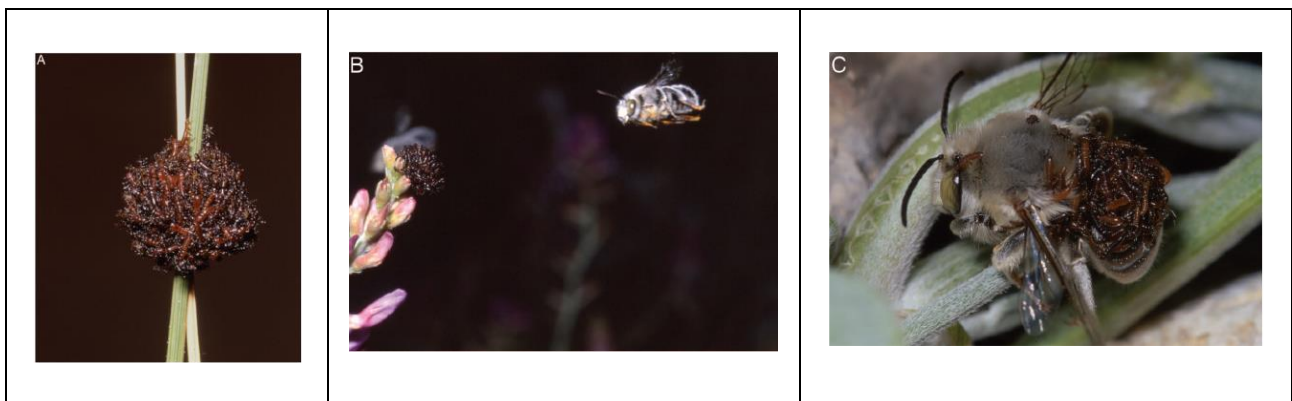


Рис. 51. (А) Типова агрегація личинок жука *Meloe franciscanus* на травинці. Агрегація має в середньому 6,9 x 2,8 мм в діаметрі. (В) Самець бджоли *Habropoda pallida*, який досліджує агрегацію личинок *Meloe franciscanus* на кінчику гілки рослини дюни *A. lentiginosus* var. *borreganus*. (С) Самець бджоли *Habropoda pallida*, спина якого покрита личинками *Meloe franciscanus* (Saul-Gershenz & Millar, 2006).

Паразитичні джмелі-зозулі (*Psithyrus*) проникають в гнізда джмелів - своїх господарів або завдяки мімікрії хімічного складу гідрокарбонів кутикули господарів, або завдяки синтезу речовин - репелентів. Семіохімікати впливають на багато аспектів поведінки комах, включаючи взаємодію між паразитами і їх господарями.

*NB! Семіохімікати (феромони, кайромони і т.н.) - це біологічно активні речовини, що виділяються організмами в навколишнє середовище і виконують функції впливу на інші організми.

Martin S.J. з колегами (2010) досліджували систему хімічного розпізнавання у джмелів (*Bombus*), вивчивши вуглеводні кутикули у 14 видів джмелів, включаючи п'ять видів соціальних паразитів, відомих як джмелі-зозулі (підрид *Psithyrus*). Було встановлено, що у джмелів вуглеводні кутикули мають видоспецифічні профілі позиційних ізомерів алкенів, які стабільні в великих географічних регіонах і імітуються трьома специфічними для господаря паразитами - джмелями-зозулями.



Рис. 52. Джміль-зозуля польовий (*Bombus campestris*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

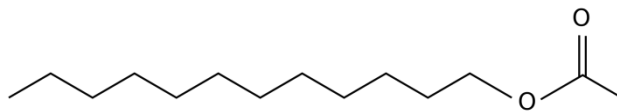


Рис. 53. Структурна формула додецилацетата (https://en.wikipedia.org/wiki/Dodecyl_acetate).

Яйця і личинки джмелів-зозуль розвиваються в гніздах інших джмелів. При цьому в чужі гнізда джмелі-паразити проникають або завдяки хімічній мімікрії під господарів, або завдяки репеленту додецилацетату.

У тих асоціаціях господар / джміль-зозуля, де мімікрія вуглеводнів кутикули є недостатньою через нещодавню зміну господаря, ці джмелі-зозулі продукують додецилацетат, відомий хімічний репелент, який дозволяє джмелям-зозулям проникати в колонії їх господарів.

Отримані дані свідчать про те, що джмелі-зозулі використовують два хімічних механізми, мімікрію вуглеводнів кутикули і репеленти, для проникнення в гніздо їх господарів, і це може відображати різні етапи т.зв. гонки озброєнь між паразитами і їх господарями (Martin et al., 2010).

Жуки-міркеофіли синтезують феромони небезпеки мурах для запобігання видалення жуків з колонії. Жуки-міркеофіли паразитують в гніздах мурах – своїх господарів. Використовуючи хімічний аналіз, а також лабораторні та польові поведінкові тести, Stoeffler M. з колегами (2007) перевірили гіпотезу, згідно з якою бродячі жуки міркеофільного роду *Pella* використовують сполуки з феромонами тривоги, для запобігання атакам їх господарів - мурах *Lasius fuliginosus*.

Проведені Stoeffler M. з колегами (2007) дослідження показали, що речовини, які секретуються жуками *Pella funestus* і *Pella humeralis*, включають хінони і різні аліфатичні сполуки, головним чином ундекан і 6-метил-5-гептил-2-он (сулькатон). Останні дві хімічних речовини також були виявлені в феромонних залозах мурах-господарів *Lasius fuliginosus*. Поведінкові тести підтвердили, що ундекан є феромоном, який викликає «агресивну тривогу» у *Lasius fuliginosus*, тоді як сулькатон є феромоном, що викликає «панічну тривогу».

Хінони і ундекан, які виділяються жуками індивідуально і в сумішах, викликали агресію у робочих мурах *Lasius fuliginosus*. Коли до цих сполук додавали сулькатон, то мурахи починали уникати простір навколо джерела запаху і спостерігалось зменшення кількості їх агресивних дій, що дозволяє припустити, що сулькатон блокує індукуючий агресію ефект ундекану і хінонів.



Рис. 54. Жук-міркеофіл *Pella humeralis* (<https://www.google.com.ua/search?q=Pella+humeralis>).



Рис. 55. Мураха *Lasius fuliginosus* - господар жуків-міркеофілів роду *Pella* (<https://www.google.com.ua/search?q=Lasius+fuliginosus>).

Отримані авторами роботи результати підтверджують гіпотезу про те, що жуки роду *Pella* імітують феромони небезпеки своїх господарів. Це - рідкісний приклад хімічної мімікрії у мірмекофільних комах, під час якої комахи використовують хімічні речовини, відмінні від кутикулярних вуглеводнів (Stoeffler et al., 2007).

Оси-паразитоїди *Ichneumon eumerus* проникають в колонію мурах за рахунок продукування речовин, які призводять до конфлікту всередині мурашника. Соціальні паразити комах зазвичай використовують мімікрію, щоб проникнути в колонію мурах і використовувати багаті, але добре захищені ресурси в їх гніздах. Так, гусениця метелика *Maculinea rebeli* пахне, як мураха, і зтягується муражами в гніздо, де мурахи годують її і піклуються про неї.

У природі у гусениць метеликів *Maculinea rebeli* є ворог - оса-паразитоїд *Ichneumon eumerus*, яка проникає в гніздо мурах, знаходить там гусеницю *Maculinea rebeli* і відкладає в неї яйця. Коли з яєць вилуплюються личинки - вони заживо з'їдають гусеницю.

Thomas J.A. з колегами (2002) досліджували, як оса-паразитоїд *Ichneumon eumerus* проникає в гніздо мурах, і встановили, що ця оса продукує сім'ю хімічних речовин, які викликають бійку між робочими муражами, що блокує нормальне функціонування колонії мурах. Проведені дослідження показали, що чотири з синтезованих осєю хімічних речовин здатні викликати агоністичні форми поведінки у мурах.



Рис. 56. Метелик *Maculinea rebeli* (<https://www.google.com.ua/search?q=Maculinea+rebeli>).



Рис. 57. Гусінь метелика *Maculinea rebeli* пахне, як мураха, і зтягується муражами в гніздо (<https://www.google.com.ua/search?q=Myrmica+schencki+picturesi>).

Так, речовина Z-9-C20-ol приваблювала робочих мурах і змушувала їх досліджувати її, але, торкнувшись її, мурахи ставали агресивними і втікали, нападаючи при цьому на мурах - своїх сородичів. Речовина Z-9-C24-al сприяла початковому дослідженню нової речовини і, з Z-9-C24-ol, посилювала агресію мурах; речовини Z-9-C22-al і Z-9-C24-ol сильно відштовхували мурах. Змішані разом, ці хімічні речовини привертати мурах до осипаразитоїда, де, будучи збудженими до стану високої агресії, вони швидко втікали геть.

Відомо, що контрольоване поширення сигналу тривоги відіграє ключову роль в суспільствах мурах, створюючи соціальний «імунний бар'єр» навколо них і надаючи робочим особинам можливість миттєвого визнання мешканців гнізда і дискримінації по відношенню до чужих видів. Більшість феромонів, що беруть участь в цьому процесі, є леткими вуглеводнями з коротким ланцюгом, які забезпечують швидке поширення і розсіювання сигналу тривоги.

Було встановлено, що тільки мурахи-рабовласники *Formica subintegra*, чий альдегід C12-C16 є найбільш стійкими і найбільш довголанцюговими сім'ю хімічними речовинами, які, як відомо, провокують мурах, використовують тривогу так само, як і осипаразитоїди *Ichneumon eumerus*, т.т. для здійснення набігів на гнізда інших мурах. Проведені авторами роботи дослідження показали, що аломони, які використовуються *Ichneumon eumerus*, є ще більш стійкими, викликаючи агресію протягом 50 днів після їх секреції (Thomas et al., 2002).



Рис. 58. Мураха *Myrmica schencki* (<https://www.google.com.ua/search?q=Myrmica+schencki>).



Рис. 59. Оса-паразитоїд *Ichneumon eumerus* проникає в колонію мурах, для нападу на личинку *Maculinea rebeli*, використовуючи феромон небезпеки мурах (<https://www.google.com.ua/search?q=>

Рослини, які обманюють комах запилювачів

Для залучення комах-запилювачів, орхідея *Caladenia plicata* синтезує хімічні речовини, які імітують статеві феромони цих комах. Деякі орхідеї для залучення комах-запилювачів синтезують речовини, що імітують статеві феромони цих комах. Зазвичай ця мімікрія є дуже специфічною: ідентичні сполуки були ідентифіковані у орхідей і відповідних самок комах-запилювачів. Bohman В. з колегами (2018) було проведено дослідження структури і активності ізомерів речовин, що виділяються орхідеєю *Caladenia plicata* для залучення самців комах запилювачів.

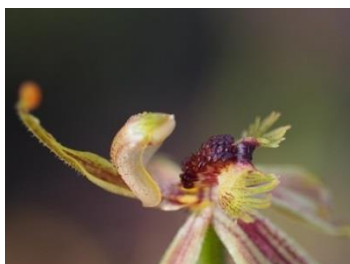


Рис. 60. Орхідея *Caladenia plicata* (<https://www.google.com.ua/search?q=Caladenia+plicata>).



Рис. 61. Оса родини тинніди (<https://en.wikipedia.org/wiki/Thynnidae>).

Отримані дані свідчать про те, що ця орхідея використовує незвичайну суміш двох біосинтетично не пов'язаних сполук, (S)- β -цитронелол і 2-гідрокси-6-метилацетофенон, щоб залучити своїх запилювачів - одиночних ос *Zeleboria* sp., родини тинніди.

Авторами роботи було встановлено, що ця суміш не є привабливою для ос, якщо (S)- β -цитронелол заміщений його енантіомером, (R)- β -цитронелолом. *NB! Енантіомери - це просторові ізомери хімічних речовин, які представляють собою дзеркальні відображення один одного, не поєднані в просторі.

Крім того, жоден з дев'яти можливих альтернативних регіоізомерів природної семіохімічної речовини 2-гідрокси-6-метилацетофенона - не є активним. *NB! Ізомери положення (або регіоізомери) - це тип структурних ізомерів, у яких однакові функціональні групи мають різне розташування при однаковому вуглецевому кістяку. Цікаво відзначити, що в інших досліджених системах «орхідеї сексуальні ошуканки і осі» - є можливим заміщення феромонів орхідей аналогами (Bohman et al., 2018).

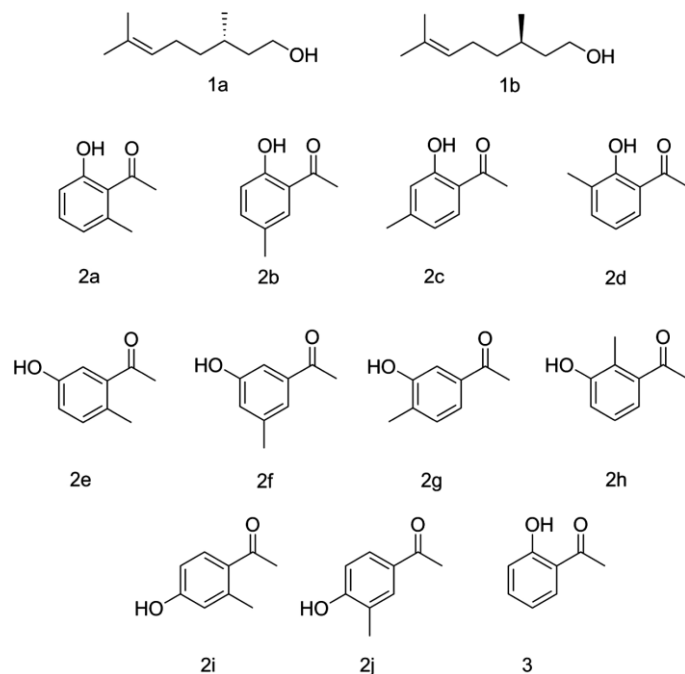


Рис. 62. Структурні формули речовин, що залучають комах запилювачів (1a, 2a), їх структурні аналоги (2b-2j) і (3) жіночий статевий феромон оси *Zeleboria* sp. (Bohman et al., 2018).

Сапроміофільні квіти пахнуть органікою, яка розкладається, і це приваблює запилювачів-мух. Сапроміофільні квіти продукують запах, який нагадує запах органіки, що підходить для поїдання мухами і/або для відкладання яєць, що дозволяє цим квітам використовувати мух як запилювачів.

Нещодавні дослідження показали, що широкий спектр летких органічних сполук, які виділяються сапроміофільними квітами, відіграє важливу роль в залученні мух-сапрофагів, імітуючи різні типи субстратів, що розкладаються (фекалії травоядних і м'ясоїдних тварин, падаль, плодові тіла грибів і т.н.).

Chen G. з колегами (2015) досліджували леткі органічні сполуки, що виділяються квітами *Stemona japonica* (Blume) Miquel, які ростуть в Китаї, і комах - відвідувачів цих квітів. Дані квіти не дають нагороди своїм комахам-запилювачам, і запилювачі не споживають пилок цих квітів, тобто, система запилення даних рослин заснована на обмані комах-запилювачів.



Рис. 63. Квіти *Stemona japonica* відвідують мухи *Atherigona*. 1 бар = 4 мм (Chen et al., 2015).

Аналіз складу речовин, що забезпечують специфічний запах даних квітів, показав, що основними ароматичними сполуками були 1-пірролін (59,2%), 2-метил-1-бутанол (27,2%) і 3-метил-1-бутанол (8,8%). При цьому речовини, виявлені в складі запаху, створюваного рослинами *Stemona japonica*, значно відрізнялися від тих, які були виявлені у інших сапроміофільних рослин.

Квіти *Stemona japonica* відвідували переважно мухи роду *Atherigona* (*Muscidae*). Біологічні тести, з використанням суміші всіх виявлених в квітковому запаху *Stemona japonica* летких речовин, показали, що ці речовини спроможні залучати мух *Atherigona* в природному середовищі існування.

Таким чином, квіти *Stemona japonica*, які погано пахнуть, є одним з типів сапроміофілії завдяки імітації відповідних запахів (Chen et al., 2015).

Квіти орхідеї імітують феромони небезпеки попелиці, щоб залучити жуків-афідофагів для свого запилення. Деякі рослини імітують семіохімічні речовини комах, щоб залучити комах для запилення. Однак, це запилення відбувається без винагороди запилювачів.

Stökl J. з колегами (2011) виявили ще один приклад обманного запилення без винагороди організмів-запилювачів. Квіти орхідеї *Epipactis veratrifolia* відвідуються і запилюються декількома видами жуків-афідофагів (т.т. жуків, які харчуються попелицями), самки яких також часто відкладають яйця в квіти орхідеї.

Поведінка відкладання яєць у цих видів жуків в основному визначається кайромонами попелиці. Авторами роботи було встановлено, що квіти орхідеї продукують α - і β -пінен, β -мірцен і β -феландрен, і що ці сполуки привертають і індукують поведінку відкладання яєць у самок жуків-афідофагів.

Хімічний склад компонентів запаху орхідеї дуже схожий на склад сигнального феромону небезпеки, що виділяється декількома видами попелиць, такими як *Megoura viciae*. Таким чином, орхідеї *Epipactis veratrifolia* імітують феромони небезпеки попелиці, щоб залучити жуків-афідофагів для свого запилення (Stökl et al., 2011).



Рис. 64. Орхідея *Epipactis veratrifolia*
(<https://www.google.com.ua/search?q=Epipactis+veratrifolia>).



Рис. 65. Попелиця *Megoura viciae*
(https://influentialpoints.com/Gallery/Megoura_viciae).

14.2. Практична робота

Завдання 1. Під час нападу хижака, попелиця виділяє в навколишнє середовище феромон небезпеки - E - β -фарнезин. Це призводить до того, що сусідні особини попелиці припиняють харчування і залишають дану територію. Деякі рослини (дика картопля, м`ята) серед інших летючих речовин продукують також достатню кількість E - β -фарнезину і, таким чином, відлякують попелицю. Тому, для захисту від попелиці, було запропоновано методами генної інженерії перенести ген синтезу E - β -фарнезину від рослин - активних продуцентів E - β -фарнезину - в сільськогосподарські рослини. Для відпрацювання методики, М. Beale з колегами (Beale et al., 2006) перенесли ген синтезу E - β -фарнезину з рослин м`яти в рослини резушки Таля (арабідопсис, *Arabidopsis thaliana*).

Дайте відповіді на наступні запитання:

1) За допомогою якого методу можливо встановити, який тип летких органічних речовин продукує рослина? _____

2) На якому принципі базується визначення типу летких органічних речовин за допомогою газової хроматографії + мас-спектрометрії? _____

3) Порівняйте результати газової хроматографії складу феромонів, які продукують дикі і трансгенні рослини резушки Таля (рис. 1 а,б). Синтезують чи ні *E*- β -фарнезин дикі рослини резушки Таля? _____. Як вплинуло вбудування гену синтеза *E*- β -фарнезина на кількість *E*- β -фарнезину і β -каріофіліну, які виділяють трансгенні рослини резушки Таля? _____.

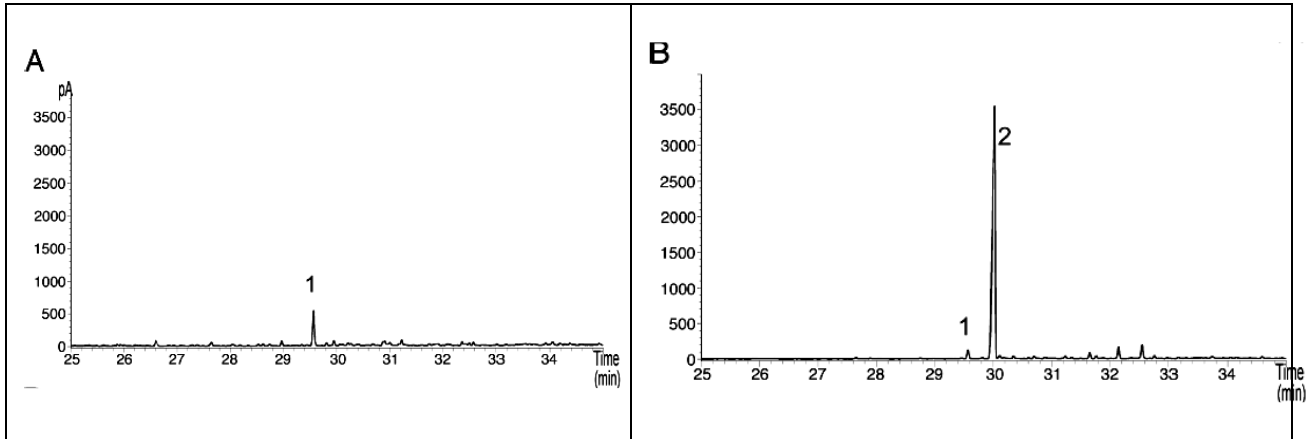


Рис. 1. Результати газової хроматографії летких компонентів, які продукують дикі (А) та трансгенні (В) рослини резушки Таля. Смуга 1 на газовій хроматограмі відповідає β -каріофіліну, смуга 2 – відповідає *E*- β -фарнезину. По вісі ОХ – час утримання речовини в колонії газового хроматографа; по вісі ОУ – концентрація речовини (Beale et al., 2006).

4) Використовуючи результати, наведені на рис. 2, зробіть висновок про те, якою була відповідь колонії попелиці *Myzus persicae* на леткі речовини, які продукують дикі і трансгенні рослини резушки Таля, а також на синтетичний *E*- β -фарнезин? _____

5) На підставі результатів проведених досліджень, зробіть висновок про те, до якого типу феромонів відноситься *E*- β -фарнезин. _____

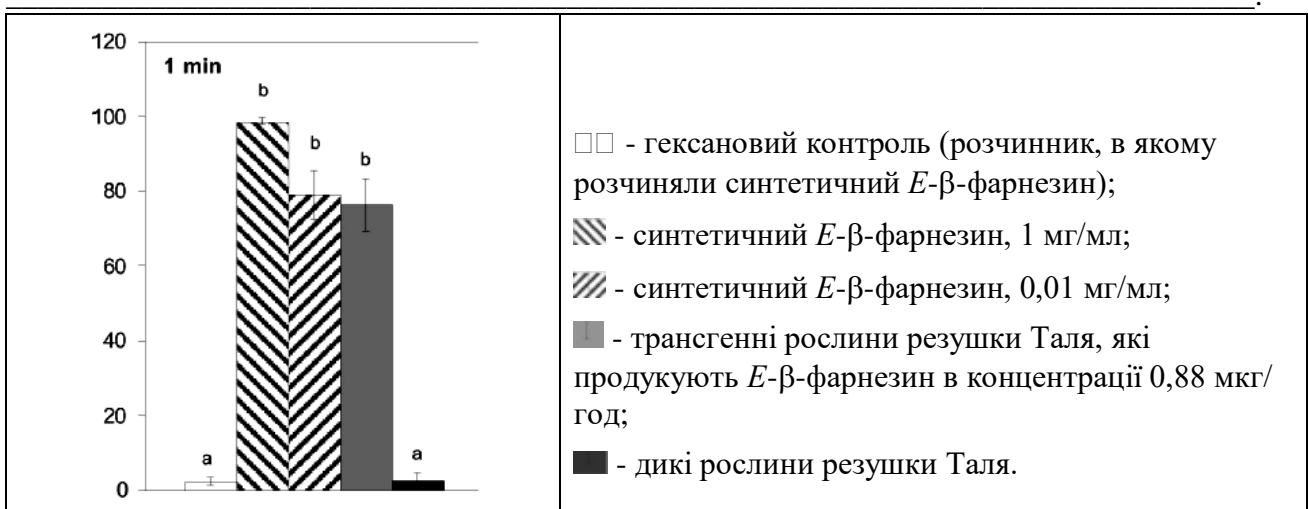


Рис. 2. Відповідь колонії попелиці *Myzus persicae* на леткі речовини, які виділяють дикі та трансгенні рослини резушки Таля, а також на синтетичний *E*- β -фарнезин в концентрації 1 мг/мл і 0,01 мг/мл. По вісі ОУ – відсоток попелиць, що покинули територію протягом першої хвилини експерименту (Beale et al., 2006).

Завдання 2. Колонію горохових попелиць (*Acyrtosiphon pisum* Harris) обробляли синтетичним *E*- β -фарнезином в польових умовах і в лабораторних умовах в кліматичній камері три рази на день протягом п'яти діб в концентрації 0,2 мг/мл (Hatano et al., 2010). Результати впливу *E*- β -фарнезину на нащадків попелиць, оброблених даним препаратом, наведені на рис. 3.

*NB! У горіхової попелиці, якщо материнський організм знаходиться в стресових умовах (погані харчові умови, перенаселення рослин особинами попелиць, поїдання хижакими та ін.), нащадки народжуються з крилами, що надає їм можливість для переміщення на іншу рослину.

Проаналізуйте дані, наведені на рис. 3, і дайте відповіді на наступні запитання:

1) Яким ефектом, окрім ефекту відлякування попелиць, володіє феромон *E*- β -фарнезин? _____

2) За польових чи лабораторних умов експерименту, вплив обробки *E*- β -фарнезином на нащадків попелиць був виражений сильніше? Чому? _____

3) До якого класу феромонів відносяться речовини з подібним механізмом дії? _____

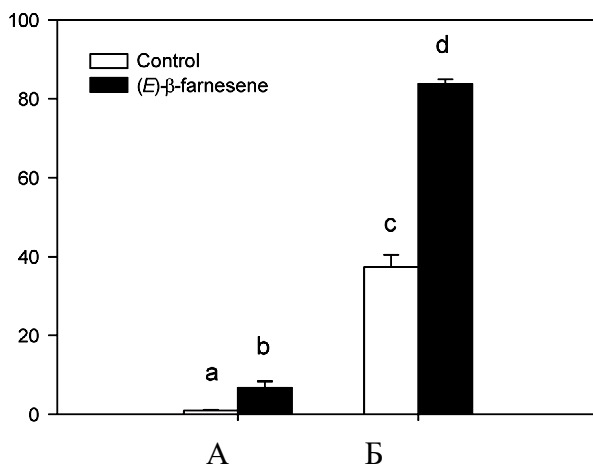


Рис. 3. Індукція формування крил у нащадків контрольної колонії попелиць та у нащадків колонії попелиць, обробленої *E*- β -фарнезином. Де: А – польові умови; Б – лабораторні умови експерименту; □ - нащадки контрольної колонії попелиць (стовпчики гістограми a і c); ■ - нащадки колонії попелиць, обробленої *E*- β -фарнезином (стовпчики гістограми b і d); по вісі ОУ – відсоток крилатих нащадків у попелиць (Hatano et al., 2010).

Завдання 3. Кастова диференціація особин в колонії суспільних комах визначається специфічними феромонами. Matsuura К. з колегами (Matsuura et al., 2010) дослідили хімічний склад феромонів, які продукують різні особини в популяції термітів *Reticulitermes speratus*, які розповсюджені в Японії. Отримані результати газової хроматографії летких компонентів наведені на рис. 4. Виділені феромони ідентифікували, синтезували аналогічні синтетичні феромони і провели обробку термітів, що розвиваються, як індивідуальними речовинами, так і сумішью феромонів. Результати проведених досліджень наведені на рис. 5.

Проаналізуйте дані, отримані дослідниками (рис. 4-5), і дайте відповіді на наступні запитання:

1) Як вплинула суміш синтетичних феромонів *n*-бутил-*n*-бутирата (*n*B*n*B) та 2-метил-1-бутанола (M1B), у співвідношенні 1:2, на розвиток нових самок в колонії термітів? _____

2) Як впливають індивідуальні феромони *n*B*n*B та 2M1B на розвиток нових самок в колонії термітів? _____

3) Чому результативним виявилось використання в експерименті суміші феромонів, а не окремих речовин? _____

4) Як Ви гадаєте, чи можливо отримати в експерименті аналогічний ефект, якщо використовувати суміш даних феромонів в іншому співвідношенні, наприклад, 2:1? _____

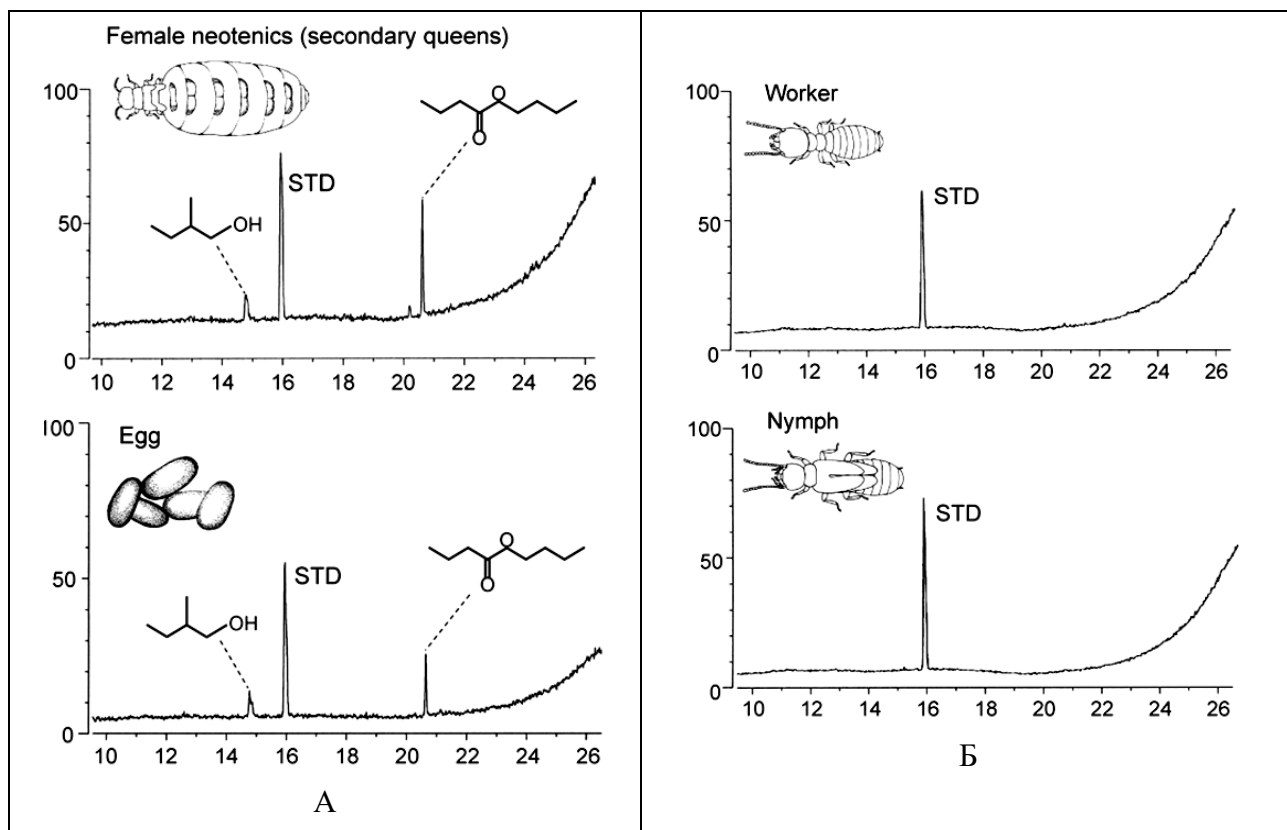


Рис. 4. Результати газової хроматографії летких компонентів, які виділяють в навколишнє середовище: А – неотенічні самки (вторинні королеви) та яйця термітів; Б – робочі терміти та

німфи. Де: CC(C)CO - пік на хроматограмі, який дає 2-метил-1-бутанол (M1B); CCCC(=O)CCCC - пік на хроматограмі, який дає n-бутил-n-бутират (nBnB); STD – пік на хроматограмі, який дає толуен (використовується як внутрішній стандарт). По вісі ОХ – час утримання речовин в колонці хроматографа; по вісі ОУ – відносна кількість речовини (Matsuura et al., 2010).

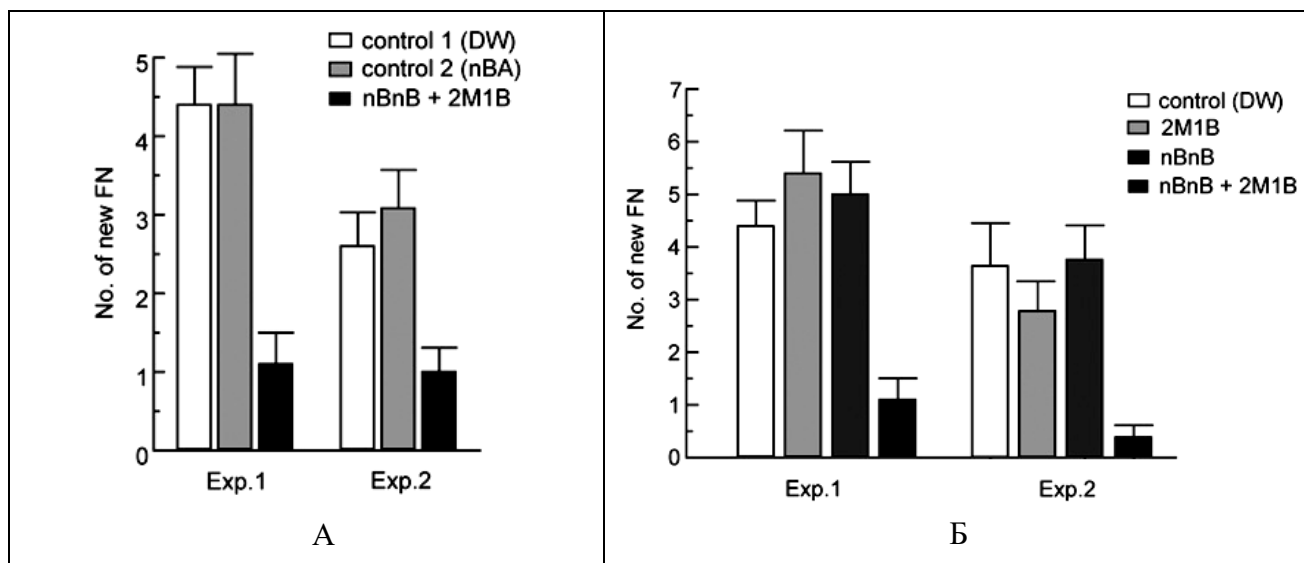


Рис. 5. (А) - Блокування процесу диференціації нових самок термітів сумішшю синтетичних феромонів n-бутил-n-бутирата (nBnB) та 2-метил-1-бутанола (M1B) у співвідношенні 1:2. Де: □ - контроль 1, дистильована вода; ■ - контроль 2, n-бутилацетат (речовина, близька за

хімічною будовою до n-бутил-n-бутирату); ■ - суміш феромонів nBnV+2M1B у співвідношенні 1:2. По вісі ОУ – кількість з'явившихся нових самок термітів. На гістограмах представлені результати двох експериментів. (Б) - Відсутність ефекту блокування розвитку нових самок термітів за умов обробки колонії термітів окремо одним з синтетичних феромонів: n-бутил-n-бутиратом (nBnV) або 2-метил-1-бутанолом (M1B). Де: □□- контроль, дистильована вода; ■ - феромон 2-метил-1-бутанол, M1B; ■ - феромон n-бутил-n-бутират, nBnV; ■ - суміш феромонів nBnV+2M1B у співвідношенні 1:2. По вісі ОУ – кількість з'явившихся нових самок термітів. На гістограмах представлені результати двох експериментів (Matsuura et al., 2010).

Завдання 4. Комахи-кровососи знаходять свою жертву за запахом. Для того, щоб встановити, які саме леткі речовини приваблюють комах-кровососів, Verhulst N. з колегами (Verhulst et al., 2009) за допомогою газової хроматографії дослідили, які леткі речовини потрапляють в навколишнє середовище від тіла людини і які з них найбільшою мірою приваблюють африканських малярійних москітів *Anopheles gambiae sensu stricto*. Досліджувались не лише леткі компоненти тканинних рідин людини (кров), але й леткі речовини, які виділяють шкірні бактерії (зокрема, бактерія *Staphylococcus epidermalis*). Результати проведених досліджень наведені на рис. 6-7 (за Verhulst et al., 2009).

Проаналізуйте дані, наведені на рис. 6-7, і дайте відповіді на наступні запитання:

1) Порівняйте результати газової хроматографії летких речовин, які продукують шкірні бактерії *Staphylococcus epidermalis*, що були вирощені на поживних середовищах, які містили кров людини (верхня дзеркальна частина хроматограми, рис. 6), і леткі речовини, які формуються над поживним середовищем, яке містить лише кров людини (нижня дзеркальна частина хроматограми, рис. 6).

Перерахуйте, які речовини переважають над поживним середовищем з бактеріями? (використовуйте для цього дані, наведені на рис.7).

2) Які леткі речовини найбільш приваблюють москітів до їх жертв – запах крові жертви або запах її шкірної мікрофлори?

Як Ви вважаєте, чому спостерігається подібна закономірність?

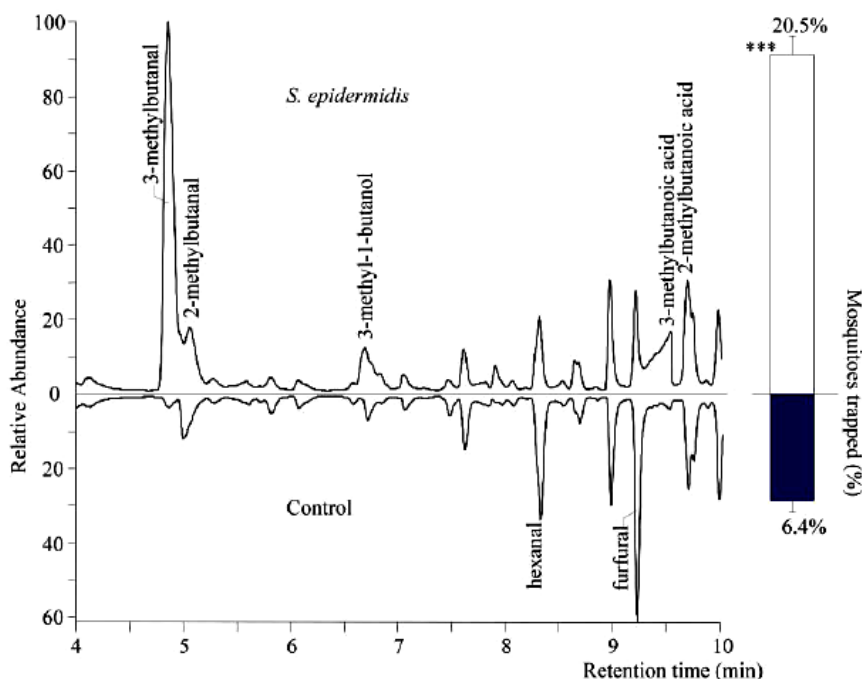


Рис. 6. Газова хроматограма летких компонентів крові людини (нижня дзеркальна частина хроматограми) та летких компонентів, які виділяють шкірні бактерії *Staphylococcus epidermalis* (верхня дзеркальна частина хроматограми). На стовпчатій діаграмі справа від

хроматограми наведені дані по кількості москітів, які були приваблені до відповідних поживних середовищ. Де: □ - кількість москітів, що були приваблені до поживних середовищ, які містили мікроорганізми та кров людини (20,5%); ■ - кількість москітів, що були приваблені до поживних середовищ, які містили лише кров людини (6,4%) (Verhulst et al., 2009).

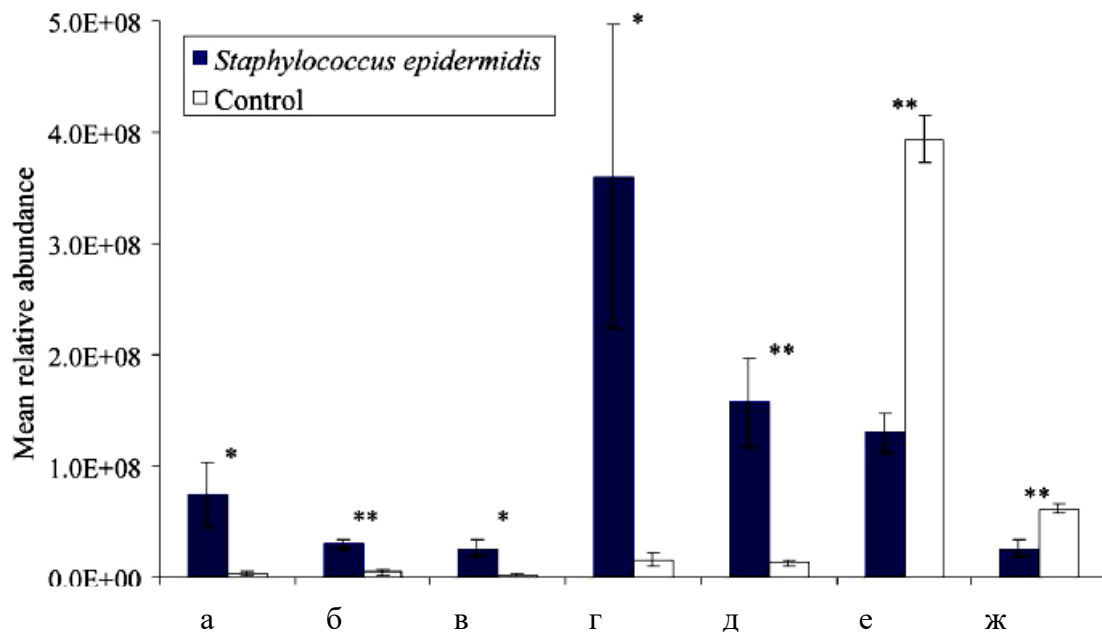


Рис. 7. Стовпчасті діаграми присутності летких компонентів над поживними середовищами, які містили: □ - лише кров людини, контроль; ■ - бактерії *Staphylococcus epidermalis* та кров людини. Де: а – 2-метилбутанол; б – 2-метилбутанолова кислота; в – 3-метил-1-бутанол; г – 3-метилбутанол; д - 3-метилбутаноловая кислота; е – фурфурол; ж – гексанол (Verhulst et al., 2009).

Контрольні питання:

1. Феромони. Типи феромонів.
2. Феромони праймери. Феромони релізери.
3. Механізм впливу феромонів на поведінку і розвиток організмів.
4. Кайромони.
5. Феромони і мімікрія у рослин і тварин.
6. Використання феромонів і кайромонів в контролі поширення паразитичних комах і інвазивних видів організмів.

Література:

- Alaux C., Robinson G.E. Alarm pheromone induces immediate-early gene expression and slow behavioral response in honey bees // J. Chem. Ecol. – 2007. – Vol. 33(7). – P. 1346 - 1350.
- Amwayi P.W., Masiga D.K., Govender P., Teal P.E., Torto B. Mass spectral determination of phenylacetoneitrile (PAN) levels in body tissues of adult desert locust, *Schistocerca gregaria* // J. Insect Physiol. – 2012. – Vol. 58(8). – P. 1037 - 1041. doi: 10.1016/j.jinsphys.2012.03.012.
- Beale M.H., Birkett M.A., Bruce T.J.A., Chamberlain K., Field L.M., et al. Aphid alarm pheromone produced by transgenic plants affects aphid and parasitoid behavior // PNAS. – 2006. – Vol. 103, No. 27. – P. 10509-10513.
- Bohman B., Karton A., Flematti G.R., Scaffidi A., Peakall R. Structure-Activity Studies of Semiochemicals from the Spider Orchid *Caladenia plicata* for Sexual Deception // J. Chem. Ecol. – 2018. – Vol. 44(5). – P. 436 - 443. doi: 10.1007/s10886-018-0946-0.
- Bose N., Ogawa A., von Reuss S.H., Yim J.J., Ragsdale E.J., et al. Complex small-molecule architectures regulate phenotypic plasticity in a nematode // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. – 2012. – Vol. 51(50). – P. 12438 - 12443. doi: 10.1002/anie.201206797.

- Chen G., Jürgens A., Shao L., Liu Y., Sun W., Xia C. Semen-Like Floral Scents and Pollination Biology of a Sapromyophilous Plant *Stemona japonica* (Stemonaceae) // J. Chem. Ecol. – 2015. – Vol. 41(3). – P. 244 - 252. doi: 10.1007/s10886-015-0563-0.
- Chen X., Liang A.P. Identification of a self-regulatory pheromone system that controls nymph aggregation behavior of rice spittlebug *Callitettix versicolor* // Front. Zool. – 2015. – Vol. 12:10. doi: 10.1186/s12983-015-0102-4.
- Christjani M., Fink P., von Elert E. Phenotypic plasticity in three *Daphnia* genotypes in response to predator kairomone: evidence for an involvement of chitin deacetylases // J. Exp. Biol. – 2016. – Vol. 219(Pt 11). – P. 1697 - 1704. doi: 10.1242/jeb.133504.
- Clarke G.S., Crossland M.R., Shine R. Can we control the invasive cane toad using chemicals that have evolved under intraspecific competition? // Ecol. Appl. – 2016. – Vol. 26(2). – P. 463 - 474.
- Ellenberger S., Burmester A., Schuster S., Wöstemeyer J. Post-translational regulation by structural changes of 4-dihydromethyltrisporate dehydrogenase, a key enzyme in sexual and parasitic communication mediated by the trisporic acid pheromone system, of the fungal fusion parasite *Parasitella parasitica* // J. Theor. Biol. – 2017. – Vol. 413. – P. 50 - 57. doi: 10.1016/j.jtbi.2016.11.006.
- Ferreira L.L., Sarria A.L.F., de Oliveira Filho J.G., de Silva F.O., et al. Identification of a non-host semiochemical from tick-resistant donkeys (*Equus asinus*) against *Amblyomma sculptum* ticks // Ticks. Tick Borne Dis. – 2019. – Vol. 10(3). – P. 621-627. doi: 10.1016/j.ttbdis.2019.02.006.
- Geiselhardt S., Otte T., Hilker M. Looking for a similar partner: host plants shape mating preferences of herbivorous insects by altering their contact pheromones // Ecol. Lett. – 2012. – Vol. 15(9). – P. 971 - 977. doi: 10.1111/j.1461-0248.2012.01816.x.
- Hagman M. Pheromone-induced life-history shifts A novel approach to controlling invasive toads // Commun. Integr. Biol. – 2010. – Vol. 3(3). – P. 238 - 239.
- Hatano E., Kunert G., Weisser W.W. Aphid wing induction and ecological costs of alarm pheromone emission under field condition // PLOS One. – 2010. – Vol. 5. Iss 6. e11188.
- Heil M., Bueno J.C. Herbivore-induced volatiles as rapid signals in systemic plant responses: how to quickly move the information? // Plant Signal. Behav. – 2007. – Vol. 2(3). – P. 191 - 193.
- Helms A.M., De Moraes C.M., Tooker J.F., Mescher M.C. Exposure of *Solidago altissima* plants to volatile emissions of an insect antagonist (*Eurosta solidaginis*) deters subsequent herbivory // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – Vol. 110(1). – P. 199 - 204. doi: 10.1073/pnas.1218606110.
- Herb B.R. Epigenetics as an answer to Darwin's "special difficulty" // Front. Genet. – 2014. – Vol. 5:321. doi: 10.3389/fgene.2014.00321.
- Holman L., Helanterä H., Trontti K., Mikheyev A.S. Comparative transcriptomics of social insect queen pheromones // Nat. Commun. – 2019. – Vol. 10(1):1593. doi: 10.1038/s41467-019-09567-2.
- Hsueh Y.P., Gronquist M.R., Schwarz E.M., Nath R.D., Lee C.H., et al. Nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora* mimics olfactory cues of sex and food to lure its nematode prey // Elife. – 2017. – Vol. 6. Pii: e20023. Doi: 10.7554/eLife.20023.
- Ilbay O., Ambros V. Pheromones and Nutritional Signals Regulate the Developmental Reliance on let-7 Family MicroRNAs in *C. elegans* // Curr. Biol. – 2019. – Vol. 29(11). – P. 1735 - 1745.e4. doi: 10.1016/j.cub.2019.04.034.
- Joachim C., Hatano E., David A., Kunert M., Linse C., Weisser W.W. Modulation of aphid alarm pheromone emission of pea aphid prey by predators // J. Chem. Ecol. – 2013. – Vol. 39(6). – P. 773 - 782. doi: 10.1007/s10886-013-0288-x.
- Kappers I.F., Hoogerbrugge H., Bouwmeester H.J., Dicke M. Variation in herbivory-induced volatiles among cucumber (*Cucumis sativus* L.) varieties has consequences for the attraction of carnivorous natural enemies // J. Chem. Ecol. – 2011. – Vol. 37(2). – P. 150 - 160. doi: 10.1007/s10886-011-9906-7.
- Kasumovic M.M., Bruce M.J., Herberstein M.E., Andrade M.C. Evidence for developmental plasticity in response to demographic variation in nature // Ecology. – 2009. – Vol. 90(8). – P. 2287 - 2296.
- LaFiandra E.M., Babbitt K.J. Predator induced phenotypic plasticity in the pinewoods tree frog, *Hyla femoralis*: necessary cues and the cost of development // Oecologia. – 2004. – Vol. 138(3). – P. 350 - 359.
- Le Conte Y., Huang Z.Y., Roux M., Zeng Z.J., Christidès J.P., Bagnères A.G. Varroa destructor changes its cuticular hydrocarbons to mimic new hosts // Biol Lett. – 2015. – Vol. 11(6):20150233. doi: 10.1098/rsbl.2015.0233.
- Leroy P.D., Sabri A., Heuskin S., Thonart P., Lognay G., et al. Microorganisms from aphid honeydew attract and enhance the efficacy of natural enemies // Nat. Commun. – 2011. – Vol. 2:348. doi: 10.1038/ncomms1347.
- Martin S.J., Carruthers J.M., Williams P.H., Drijfhout F.P. Host specific social parasites (*Psithyrus*) indicate chemical recognition system in bumblebees // J. Chem. Ecol. – 2010. – Vol. 36(8). - P. 855 - 863. doi: 10.1007/s10886-010-9805-3.

- Matsuura K., Himuro C., Yokoi T., Yamamoto Y., Vargo E.L., Keller L. Identification of a pheromone regulating caste differentiation in termites // PNAS. – 2010. – Vol. 107, No. 29. – P. 12963-12968.
- Mitchell R.F., Curkovic T., Mongold-Diers J.A., Neuteboom L., Galbrecht H.M., et al. Evidence that Cerambycid Beetles Mimic Vespid Wasps in Odor as well as Appearance // J. Chem. Ecol. – 2017. – Vol. 43(1). – P. 75 - 83. doi: 10.1007/s10886-016-0800-1.
- Narasimha S., Nagornov K.O., Menin L., Mucciolo A., Rohwedder A., et al. *Drosophila melanogaster* cloak their eggs with pheromones, which prevents cannibalism // PLoS Biol. – 2019. – Vol. 17(1):e2006012. doi: 10.1371/journal.pbio.2006012.
- Nelson A.C., Cunningham C.B., Ruff J.S., Potts W.K. Protein pheromone expression levels predict and respond to the formation of social dominance networks // J. Evol. Biol. – 2015. – Vol. 28(6). – P. 1213 - 1224. doi: 10.1111/jeb.12643.
- Oi C.A., Van Oystaeyen A., Caliri Oliveira R., Millar J.G., Verstrepen K.J., et al. Dual Effect of Wasp Queen Pheromone in Regulating Insect Sociality // Curr. Biol. – 2015. – Vol. 25(12). – P. 1638 - 1640. doi: 10.1016/j.cub.2015.04.040.
- Runyon J.B., Mescher M.C., De Moraes C.M. Volatile chemical cues guide host location and host selection by parasitic plants // Science. – 2006. – Vol. 313(5795). – P. 1964 - 1967.
- Saul-Gershenz L.S., Millar J.G. Phoretic nest parasites use sexual deception to obtain transport to their host's nest // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – Vol. 103(38). – P. 14039-14044.
- Schneider D.I., Ehrman L., Engl T., Kaltenpoth M., Hua-Van A., et al. Symbiont-Driven Male Mating Success in the Neotropical *Drosophila paulistorum* Superspecies // Behav. Genet. – 2019. – Vol. 49(1). – P. 83 - 98. doi: 10.1007/s10519-018-9937-8.
- Shaaban M., Elgaml A., Habib E.E. Biotechnological applications of quorum sensing inhibition as novel therapeutic strategies for multidrug resistant pathogens // Microb. Pathog. – 2019. – Vol. 127. – P. 138 - 143. doi: 10.1016/j.micpath.2018.11.043.
- Stoeffler M., Maier T.S., Tolasch T., Steidle J.L. Foreign-language skills in rove-beetles? Evidence for chemical mimicry of ant alarm pheromones in myrmecophilous *Pella* beetles (*Coleoptera: Staphylinidae*) // J. Chem. Ecol. – 2007. – Vol. 33(7). – P. 1382 - 1392.
- Stökl J., Brodmann J., Dafni A., Ayasse M., Hansson B.S. Smells like aphids: orchid flowers mimic aphid alarm pheromones to attract hoverflies for pollination // Proc. Biol. Sci. – 2011. – Vol. 278(1709). – P. 1216 - 1222. doi: 10.1098/rspb.2010.1770.
- Tarver M.R., Zhou X., Scharf M.E. Socio-environmental and endocrine influences on developmental and caste-regulatory gene expression in the eusocial termite *Reticulitermes flavipes* // BMC Mol. Biol. – 2010. – Vol. 11:28. doi: 10.1186/1471-2199-11-28.
- Thomas J.A., Knapp J.J., Akino T., Gerty S., Wakamura S., et al. Parasitoid secretions provoke ant warfare // Nature. – 2002. – Vol. 417(6888). – P. 505-506.
- Thomas M.L., Simmons L.W. Short-term phenotypic plasticity in long-chain cuticular hydrocarbons // Proc. Biol. Sci. – 2011. – Vol. 278(1721). – P. 3123 - 3128. doi: 10.1098/rspb.2011.0159.
- Torres-Dowdall J., Handelsman C.A., Reznick D.N., Ghalambor C.K. Local adaptation and the evolution of phenotypic plasticity in Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*) // Evolution. – 2012. – Vol. 66(11). – P. 3432 - 3443. doi: 10.1111/j.1558-5646.2012.01694.x.
- Van Oystaeyen A., Oliveira R.C., Holman L., van Zweden J.S., Romero C., et al. Conserved class of queen pheromones stops social insect workers from reproducing // Science. – 2014. – Vol. 343(6168). – P. 287 - 289. doi: 10.1126/science.1244899.
- Verhulst N.O., Beijleveld H., Knols B.G.J., Takken W., Schraa G., Bouwmeester H.J., Smallegange R.C. Cultured skin microbiota attracts malaria mosquitoes // Malaria J. – 2009. – Vol. 8. – P. 302-313.
- Vuts J., Woodcock C.M., König L., Powers S.J., Pickett J.A., et al. Host shift induces changes in mate choice of the seed predator *Acanthoscelides obtectus* via altered chemical signaling // PLoS One. – 2018. – Vol. 13(11):e0206144. doi: 10.1371/journal.pone.0206144.
- Weiss L.C., Albada B., Becker S.M., Meckelmann S.W., Klein J., et al. Identification of *Chaoborus* kairomone chemicals that induce defences in *Daphnia* // Nat. Chem. Biol. – 2018. – Vol. 14(12). – P. 1133 - 1139. doi: 10.1038/s41589-018-0164-7.
- Yang S., Zhang X.F., Gao Y.L., Chen D., She D.M., Zhang T., Ning J. Male-Produced Aggregation Pheromone of Coffee Bean Weevil, *Araecerus fasciculatus* // J. Chem. Ecol. – 2017. – Vol. 43(10). – P. 978 - 985. doi: 10.1007/s10886-017-0894-0.
- Yeagan K.V., Quate L.W. Juvenile bolas spiders attract psychodid flies // Oecologia. – 1996. – Vol. 106(2). – P. 266 - 271. doi: 10.1007/BF00328607.
- Yin M., Laforsch C., Lohr J.N., Wolinska J. Predator-induced defense makes *Daphnia* more vulnerable to parasites // Evolution. – 2011. – Vol. 65(5). – P. 1482 - 1488. doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01240.x.

Тема 15. Екологічна роль природних токсинів
15.1. Матеріали для підготовки до семінарського заняття

Алелопатичні взаємовідносини між рослинами і іншими організмами в екосистемах

Алелопатія – це властивість організмів (мікроорганізмів, грибів, рослин, тварин) виділяти хімічні сполуки, які гальмують або пригнічують розвиток інших організмів. Також іноді під алелопатією розуміють як негативні, так і позитивні взаємодії між рослинами в фітоценозах (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Конкуренція за ресурси між рослинами: рослини синтезують речовини, які пригнічують розвиток рослин інших видів

Цитотоксичність летких масел рослин евкаліпта (*Eucalyptus citriodora* Hook). Setia N. з колегами (2007) було встановлено, що леткі олії евкаліпта в концентрації 0,0012% - 0,06% дозозалежним і видозалежним чином пригнічують проростання насіння і ріст проростків бур'янів *Bidens pilosa*, *Amaranthus viridis*, *Rumex nepalensis* і *Leucaena leucocephala*. При концентрації евкаліптових масел 006% жодне насіння тестованих рослин не проросло. Летючі масла евкаліпта також вплинули на вміст хлорофілу і на респіраторну активність листя проростків експериментальних рослин (Setia et al., 2007).

Нарциклазин – це алкалоїд, ізольований з бульб рослин нарцисів (*Narcissus tazetta*). Hu Y. з колегами (2014) вивчали фітотоксичний ефект цього алкалоїду на ріст проростків рослин салату *Lactuca sativa* L. Проведені дослідження показали, що у високих концентраціях (0,5-5,0 мкМ) нарциклазин пригнічував ріст коренів проростків салату дозозалежним чином.

Крім того, у рослин салату, на які впливали нарциклазином, були виявлені редукція кількості мітотичних клітин і гальмування росту клітин в зоні дозрівання кореня, інгібування поділу клітин в меристематичній зоні коренів. При цьому кометний тест виявив дозозалежне накопичення пошкоджень в ДНК клітин коренів.

Проведені дослідження показали, що нарциклазин індукує накопичення в клітинах реактивних форм кисню, що може пояснити появу пошкоджень в ДНК клітин коренів проростків салату. Крім того, у оброблених проростків салату було виявлено інгібування розвитку кореневих волосків. Подальші дослідження показали, що гальмування розвитку кореневих волосків пов'язано з впливом нарциклазину на ауксинові і етиленові сигнальні шляхи в клітинах (Hu et al., 2014).



Рис. 1. Рослини *Narcissus tazetta* (<https://www.google.com.ua/search?q=Narcissus+tazetta>).

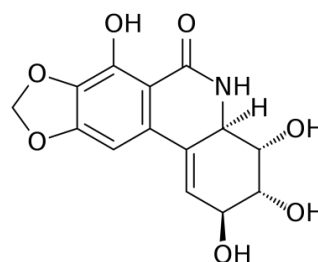


Рис. 2. Нарциклазин з бульб нарцисів (<https://www.google.com.ua/search?q=narciclasine>).

Для рослин сорго (*Sorghum*) характерні алелопатичні взаємодії з іншими рослинами, що було показано Weston L.A. з колегами (2013) в серії польових експериментів. Серед

алелопатичних речовин, які синтезуються рослинами сорго, численні феноли, ціаногенні глікозиди і гідрофобні р-бензохінони (сорголеони).

Наприклад, сорголеони постійно виділяються корневими волосками рослин сорго і накопичуються в ґрунті навколо коренів сорго в значній концентрації. Це пригнічує проростання насіння рослин інших видів (Weston et al., 20131).



Рис. 3. Сорго (*Sorghum*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

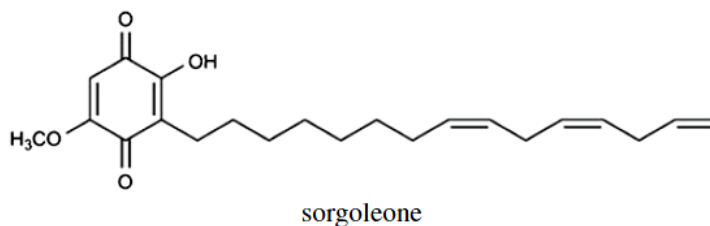


Рис. 4. Сорголеон, що виділяється корневими волосками рослин сорго (https://www.google.com.ua/search?q=sorgoleon_).

Алелопатичний ефект опалого листа рослини *Macaranga tanari* відомий з природних спостережень. Tseng М.Н. з колегами (2001) з опалого листа рослин *Macaranga tanari* виділили два нових пренілфлаваноїда, які інгібували ріст проростків салату в концентрації 200 ppm (Tseng et al., 2001).



Рис. 5. Рослина *Macaranga tanarius* (https://en.wikipedia.org/wiki/Macaranga_tanarius).

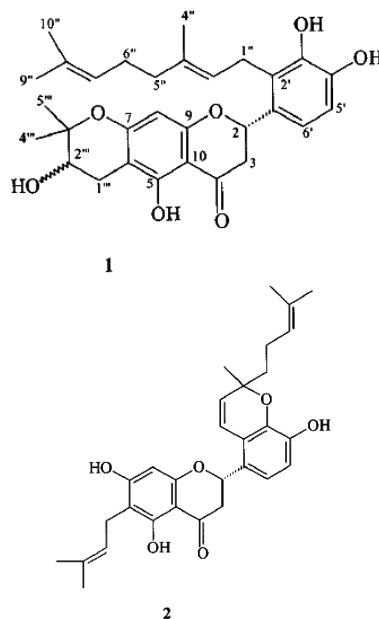


Рис. 6. Два нових пренілфлаваноїда, які були виділені з опалого листа рослини *Macaranga tanarius* (Tseng et al., 2001).

Rimando А.М. з колегами (1999) було встановлено, що екстракт листа леукофілума чагарникового (*Leucophyllum frutescens* Berl.) містить кілька фітотоксичних речовин, які пригнічують проростання насіння і ріст проростків інших видів рослин (Rimando et al., 1999).



Рис. 7. Леукофілум чагарниковий (*Leucophyllum frutescens*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Формування моноспецифічних колоній папороті *Gleichenia japonica* забезпечується за рахунок феномена алелопатії. Папороть *Gleichenia japonica* – це один з найбільш поширених видів папоротей на Сході і Півдні Азії. Ця папороть в природі формує великі моноспецифічні колонії. Механізм такої моноспецифічності колоній точно не досліджений.

Kato-Noguchi Н. з колегами (2013) було встановлено, що формування чистих моноспецифічних колоній папороті *Gleichenia japonica* забезпечується за рахунок феномена алелопатії. Проведені дослідження показали, що екстракт з тканин даної папороті пригнічує ріст проростків крес-салату (*Lepidium sativum*), салату латук (*Lactuca sativa*), райграса (*Lolium multiflorum*) і тимофіївки лугової (*Phleum pratense*). Таким чином, було встановлено, що екстракт тканин папороті містить алелопатичні речовини, серед яких, в подальшому, були ідентифіковані дві нових речовини: 3-О-β-аллопураносил-13-О-β-фусопураносил-3β-гідрохуманол (1) та 18-О-α-1-рхамнопураносил-(1→2)-β-d-глюкопураносил-13-епиторреферол (2).

Ці речовини інгібували ріст тестованих рослин в концентраціях 0,1-1,0 мМ. Концентрація сполук 1 та 2 в ґрунті під чистою колонією *Gleichenia japonica* становила 4,9 мМ і 5,7 мМ, відповідно, що вказує на концентрації, які перевищують ті, які потрібні для 50% інгібування росту рослин інших видів. Таким чином, причиною формування моноспецифічних колоній папороті *Gleichenia japonica* є алелопатичне інгібування розвитку рослин інших видів (Kato-Noguchi et al., 2013).



Рис. 8. Папороть *Gleichenia japonica* (https://species.wikimedia.org/wiki/Gleichenia_japonica).

Алелопатичні взаємодії забезпечують конкурентоспроможність мохів з іншими рослинами. Мох *Rhynchostegium pallidifolium* часто формує великі моноспецифічні колонії і пригнічує ріст проростків *Lepidium sativum* L., якщо ці дві рослини вирощуються разом. При цьому в навколишньому середовищі було виявлено присутність 3-гідрокси-β-іонену (3-Hydroxy-β-ionone). Екзогенний вплив даною речовиною також призводив до пригнічення росту гіпокотилів і коренів проростків *Lepidium sativum* L. при концентраціях, які перевищують 1 мкМ і 3 мкМ, відповідно.

Таким чином, Kato-Noguchi Н. і Seki Т. (2010) було показано, що 3-гідрокси-β-іонон може відігравати важливу роль в алелопатичній активності моху *Rhynchostegium pallidifolium* і може сприяти конкуренції даного моху з сусідніми рослинами, що призводить до утворення ним чистих моноспецифічних колоній (Kato-Noguchi & Seki, 2010).



Рис. 9. Мох *Rhynchostegium pallidifolium* (http://fungi.sakura.ne.jp/moss_memo/moss_061002).

Бурі водорості в процесі конкуренції з кораловими поліпами за територію виділяють алелохімікати. Раніше було показано, що бурі водорості конкурують з кораловими поліпами за територію. При цьому бурі макроводорості виділяють алелохімікати, які сприяють зменшенню кількості коралів і, тим самим, захопленню нових площ бурими водоростями. Ці алелохімікати мають активність проти личинок коралових поліпів і проти асоційованих з кораловими поліпами бактерій, що сприяє зрушенню рівноваги в бік домінування патогенних бактерій. При цьому важливу роль відіграють як речовини, що виділяються самими бурими водоростями, так і мікробіомом бурих водоростей (т.т., асоційованими з водоростями бактеріями).

Моргов К.М. з колегами (2016) досліджували вплив речовин, які виділяються бурими водоростями *Lobophora* sp., на личинок і бактерій коралових рифів, сформованих *Porites cylindrica*. Дослідження показали, що екстракти бурих водоростей перешкоджали поселенню личинок коралових поліпів і викликали їх загибель при низьких концентраціях алелохімікатів у воді. Крім того, була виявлена загибель коралових бактеріальних симбіонтів *Endozoicomonas* sp. і пригнічення росту коралового мікробіома (т.т., асоційованих з коралами бактерій) (Morrow et al., 2016).



Рис. 10. Буря водорість лобофора (*Lobophora*) на кораловому рифі (http://coralreefalgaelab.org/home/?attachment_id=1312).



Рис. 11. Коралові поліпи *Porites cylindrical* (<https://www.google.com.ua/search?q=Porites+cylindrica>).

Ціанобактерії використовують токсичні мікроцистини для витіснення рослин-конкурентів. Присутність у воді для зрошення отруйних речовин, які синтезують ціанобактерії (мікроцистинів), може пригнічувати розвиток сільськогосподарських рослин. McElhiney J. з колегами (2001) на культурі тканин рослин *Solanum tuberosum* L. було показано, що мікроцистин-LR в концентраціях 0,005 і 0,05 мкг/см³ гальмував ріст і зменшував вміст хлорофілу в тканинах рослин, відповідно.

Крім того, був протестований вплив трьох різних мікроцистинів на ріст проростків *Synapis alba* L. Проведені дослідження показали, що мікроцистини LR, -RR і -LF інгібували ріст проростків *Synapis alba* L. на 50% при тестованій концентрації 1,9, 1,6 і 7,7 мкг/л, відповідно.

Автори роботи також перевіряли вплив мікроцистину-LR, на ріст проростків квасолі *Phaseolus vulgaris*. Отримані дані свідчать про те, що токсин порушував розвиток коренів рослин квасолі, що призвело на 30% до меншого поглинання коренями ростового середовища. Більше того, дослідження показали присутність мікроцистину в тканинах експонованих рослин. Це свідчить про те, що зрошення сільськогосподарських рослин водою, яка містить мікроцистини, може сприяти накопиченню мікроцистинів в тканинах рослин і становити ризик для здоров'я людей.

Таким чином, проведені дослідження свідчать про те, що ціанобактерії за допомогою мікроцистинів не тільки захищають себе від поїдання, але також використовують мікроцистини для витіснення конкурентів - тобто інших фотосинтезуючих організмів (McElhiney et al., 2001).



Рис. 12. Нитчаста ціанобактерія *Anabaena spiroides* (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

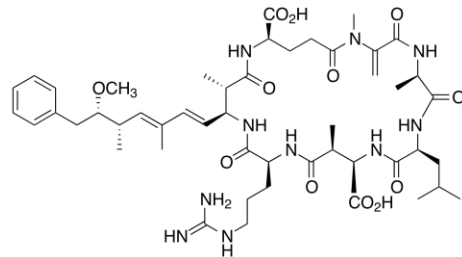


Рис. 13. Хімічна структура мікроцистину-LR - отрути, яку синтезують ціанобактерії (<https://en.wikipedia.org/wiki/Microcystin>).

Грунтові бактерії стрептоміцети через механізми алелопатичної дії інгібують ріст наземних рослин. Відомо, що бактерії стрептоміцети (*Streptomyces*) продукують більшість відомих антибіотиків і деякі біологічно активні речовини. Однак, до цього часу не досліджувалося питання про можливий алелопатичний вплив стрептоміцетів на вищі рослини. Song Y.Y. з колегами (2012) було показано, що стрептоміцети, ізольовані з ґрунтів, здатні пригнічувати ріст проростків рослин *Brassica campestris* і *Echinochloa crusgalli* (Song et al., 2012).

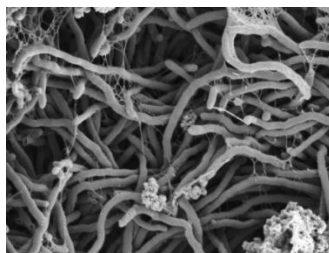


Рис. 14. Грунтові бактерії стрептоміцети (*Streptomyces*) (<https://www.google.com.ua/search?q=soil+Streptomyces>).

Алелопатична фітотоксичність виділень рослин залежить від щільності росту рослин. Uddin M.N. і Robinson R.W. (2017) було показано, що алелопатична фітотоксичність виділень рослин залежить від щільності росту рослин: при високій щільності росту - виділення мають інгібуючий ефект, а при низькій щільності росту рослин - стимулюючий ефект (Uddin & Robinson, 2017).

Cheng F. з колегами (2016) було показано, що діаллідисульфід (DADS) - летючий алелохімікат, що виділяється рослинами часнику (*Allium sativum* L), впливає на ріст коренів проростків томатів (*Solanum lycopersicum* L.) за рахунок впливу на поділ клітин, баланс фітогормонів і експресію гена експансина. При цьому проведені дослідження показали, що низькі концентрації діаллідисульфиду (0,01-0,62 мМ) сприяли росту коренів, тоді як високі

концентрації даного алелохімікату (6,2-20,67 мМ) - гальмували ріст коренів проростків томатів (Cheng et al., 2016).

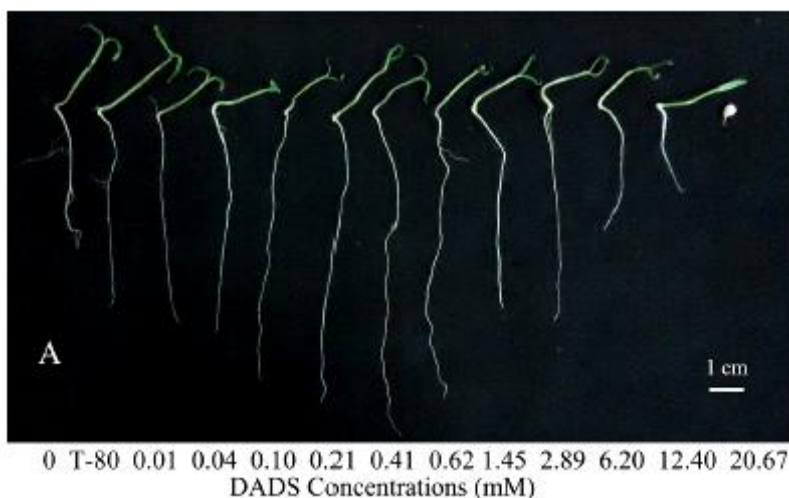


Рис. 15. Вплив концентрації діаллідисульфиду (DADS) на довжину коренів проростків томата (Cheng et al., 2016).

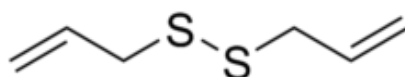


Рис. 16. Структурна формула діаллідисульфиду (DADS) (https://en.wikipedia.org/wiki/Diallyl_disulfide).

Негативні алелопатичні взаємодії супроводжуються впливом на роботу генів рослини іншого виду. Ціанамід (CA) є фітотоксичною сполукою, яка продукується чотирма видами *Fabaceae*: горошком волохатим (*Vicia villosa*), горошком мишачим (*Vicia cracca*), горошком бенгальським (*Vicia berghalensis*) і робінею псевдоакацією (*Robinia pseudoacacia*). Ці рослини володіють сильним алелопатичним ефектом, оскільки інгібують проростання насіння і ріст рослин, що знаходяться поруч з ними.

Soltys D. з колегами (2014) вивчали вплив ціанаміда на ріст коренів кукурудзи. Проведені дослідження показали, що цитотоксичність ціанаміда пов'язана з його впливом на клітинний цикл (призводить до редукції поділу клітин коренів), на інтенсивність ендоредуплікації (підвищує кількість ендополіплоїдних клітин в коренях) і на модифікацію роботи генів *СусА2*, *СусD2* і гістона *HisH3*. Крім того, в присутності ціанаміду в клітинах коренів було виявлено підвищене накопичення пероксиду водню (Soltys et al., 2014).

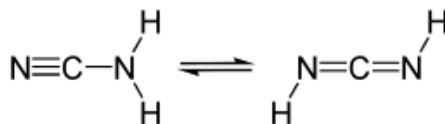


Рис. 17. Таутомери (оборотні ізомери) ціанаміду (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Алохімічний стрес, викликаний речовинами, які синтезують рослини-господарі, може викликати диференціальну експресію генів у бавовняної попелиці *Aphis gossypii*. Бавовняна попелиця (*Aphis gossypii*) спроможна пошкоджувати різні сільськогосподарські культури. Тому для цих комах дуже важливим є виробити адаптивні механізми до різних алелохімічних речовин, які синтезують різні рослини-господарі.

Дослідження, проведені Li F. з колегами (2017), показали, що у відповідь на обробку алкалоїдом рослин 2-тридеканоном, в порівнянні з контролем - у попелиці виявлено зміну активності 619 генів (у одних - підвищення активності, в інших- зниження активності). У

відповідь на обробку таніновою кислотою, кверцетином і госсиполом було виявлено зміну роботи 516, 509 і 717 генів, відповідно.

Отримані дані свідчать про те, що у відповідь на дію різних алелохімікатів рослин - в клітинах попелиці активуються-інгібуються різні гени і, відповідно, формуються різні захисні механізми проти цих речовин.

Таким чином, алелохімічний стрес, викликаний речовинами, які синтезують рослини-господарі, призводить до диференціальної експресії генів у попелиць *Aphis gossypii* (Li et al., 2017).



Рис. 18. Бавовняна попелиця (*Aphis gossypii*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Aphis+gossypii>).

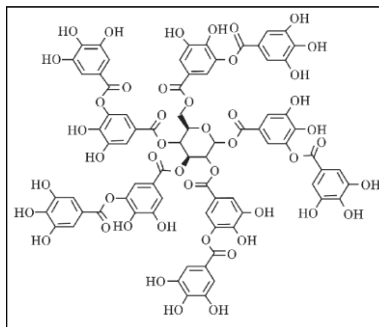


Рис. 19. Танінова кислота (<https://www.google.com.ua/search?q>).

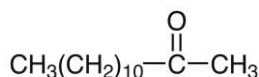


Рис. 20. 2-Тридеканон (<https://www.google.com.ua/search?q=2-tridecanone>).

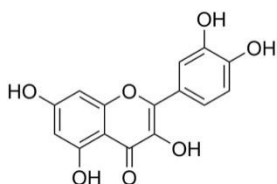


Рис. 21. Кверцетин (<https://www.google.com.ua/search?q=quercetin>).

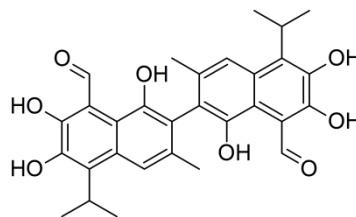


Рис. 22. Госсипол (<https://www.google.com.ua/search?q=gossypol>).

Відсутність рослинодних тварин веде до розвитку конкуренції між рослинами через посилення алелопатичних взаємодій. Uesugi A. і Kessler A. (2013) порівнювали конкурентоспроможність рослин *Solidago altissima*, які виростили на територіях, на яких дослідники штучно маніпулювали рівнем впливу наземних рослинодних тварин.

Автори дослідження виявили збільшення міжвидової, але не внутрішньовидової конкурентоспроможності в лініях з територій, на яких була виключена присутність рослинодних тварин в порівнянні з контрольними ділянками.

Еволюційний ріст рівня міжвидової конкурентоспроможності збігся зі збільшенням продукції рослинами поліацетиленів, основний компонент яких є алелопатичним по відношенню до конкурентів іншого виду, *Poa pratensis*, але не проти рослин-конкурентів свого виду.

Отримані результати є прямим доказом того, що відсутність тиску рослинодних тварин може призвести до еволюційного збільшення міжвидової конкурентоспроможності між рослинами, що опосередковується збільшенням продукції алелопатичних сполук міжвидової спрямованості (Uesugi & Kessler, 2013).



Рис. 23. Золотарник найвищий (*Solidago altissima*) (https://en.wikipedia.org/wiki/Solidago_altissima).



Рис. 24. Тонконіг лучний (*Poa pratensis*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Позитивні алелопатичні взаємодії між рослинами

Вплив ґрунтової біологічної кірки на розвиток рослин в аридних екосистемах. В аридних і напіваридних умовах між судинними рослинами ґрунт покритий т.зв. біологічною кіркою. Zhuang W.W. з колегами (2015) вивчали вплив цієї біокірки на ріст рослин, типових для даних екосистем: *Erodium oxyrhynchum*, *Alyssum linifolium* і *Hyalea pulchella*, що ростуть в пустелі Гурбантангат (Gurbantunggut Desert) на північному заході Китаю.

Проведені дослідження показали, що біомаса, вміст води в листках, ефективність фотосинтезу, вміст хлорофілу були вищими у тих рослин, які росли в присутності біокірки, в порівнянні з рослинами, що виростили в умовах відсутності біокірки. Крім того, в цих рослинах був вищий вміст розчинних цукрів, проліну і вище активність антиоксидантних ензимів, в порівнянні з рослинами, які виростили в умовах відсутності ґрунтової біокірки.

При цьому автори роботи підкреслюють, що присутність біокірки мала позитивний ефект на ріст лише молодих проростків рослин і негативний ефект на дорослі рослини (Zhuang et al., 2015).



Рис. 25. Пустеля Гурбантангат (Gurbantunggut Desert) на північному заході Китаю (<https://www.google.com.ua/search?q=Gurbantunggut+Desert>).

Позитивний алелопатичний ефект виділень коренів пшениці для розвитку рослин огірка. Wu F.Z. з колегами (2014) було показано, що кореневі виділення рослин пшениці мають позитивний алелопатичний вплив на рослини огірка (сприяють їх росту). При цьому проведені дослідження показали, що виділення коренів пшениці підвищили різноманітність спільноти ґрунтових грибів (Wu et al., 2014).

Причини інвазивності чужорідних видів рослин в нових для них екосистемах

Підтверджено роль алелопатичного фактора в інвазивності рослин *Plantago virginica*. Рослини *Plantago virginica* L. є інвазивними для газонних екосистем східної частини Китаю і вимагають вкладання значних ресурсів для боротьби з цими рослинами. Wang Н. з колегами (2015) вивчали можливий алелопатичний механізм інвазивності даного виду рослин. Для цього було проведено дослідження впливу екстрактів рослин *Plantago virginica* L. на проростання насіння і ріст проростків чотирьох газонних видів рослин.

Отримані дані свідчать про значну алелопатичну дію рослин *Plantago virginica* L. на інші рослини, яка залежала від виду тестованих рослин і стадії їх розвитку. Хоча більшість ефектів екстрактів *Plantago virginica* були інгібуючими, однак, в деяких випадках додавання екстрактів інвазивної рослини мало стимулюючий ефект на ростові параметри у окремих видів тестованих рослин. Наприклад, було показано збільшення біомаси наземних частин рослин *Agrostis matsumurae* і *Festuca elata* при впливі екстракту з рослин *Plantago virginica*.

В цілому, проведені дослідження підтвердили роль алелопатичного фактора в інвазивності рослин *Plantago virginica* (Wang et al., 2015).



Рис. 26. *Plantago virginica* L. (<https://www.google.com.ua/search?q=Plantago+virginica>).

Інвазивна рослина пригнічує проростання насіння нативного виду через алелопатичні взаємодії. Wang Х.Ф. з колегами (2014) було показано інгібуючий алелопатичний вплив інвазивної рослини череди облиственої (*Bidens frondosa*) на проростання насіння нативних для Хуаншань (гірська гряда в східній частині Китаю) рослин *Geum japonicum* var. *Chinense* (Wang et al., 2014).



Рис. 27. Черета облиствена (*Bidens frondosa*). Однорічна рослина, яка походить з Північної Америки. На початку XVIII століття була занесена до Європи, де поширилася, ставши інвазивним видом. Потім - ці рослини заселили Азію (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 28. Гірська гряда Хуаншань, Китай (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 29. *Geum japonicum* (https://en.wikipedia.org/wiki/Geum_japonicum).

Причина витіснення місцевих видів рослин інвазивним бур'яном богемським горохом (*Fallopia × bohemica*) не тільки в алелопатичному впливі на місцеві рослини.

Вважають, що інвазивний бур'ян богемський горох, який є гібридом *Fallopia × bohemica*, впливає на нативні рослини через механізм алелопатії. Murrell С. з колегами (2011) вирощували європейські рослини разом з інвазивним бур'яном і показали, що причиною витіснення місцевих видів рослин даними бур'яном є не тільки алелопатичні взаємодії і що регулярний механічний контроль (зрізання пагонів бур'янів) значно редукує їх алелопатичний ефект на місцеві види (Murrell et al., 2011).



Рис. 30. Інвазивна рослина богемський горох (*Fallopia × bohemica*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Fallopia+%C3%97+bohemica>).

Причина пригнічення місцевих видів рослин інвазивним видом *Phragmites australis* пов'язана головним чином не з виділенням токсичних речовин, а з конкуренцією за ресурси.

Вважають, що алелопатичний вплив на місцеві види рослин є одним з механізмів, що забезпечують інвазивність рослин - вселенців на нові території. Uddin M.N. з колегами (2014) було показано, що інвазивний вид рослин *Phragmites australis* пригнічує розвиток і ріст нативних рослин *Melaleuca ericifolia*, головним чином не внаслідок виділення ними токсичних алелопатичних речовин, а в результаті конкуренції за ресурси (Uddin et al., 2014).

Ефективна антиоксидантна система захисту дозволяє бур'яну *Senna obtusifolia* L. проростати практично в будь-яких стресових умовах.

Бур'ян *Senna obtusifolia* L. поширений в тропічних і субтропічних регіонах усього світу і здатний проростати в найрізноманітніших умовах навколишнього середовища. Це свідчить про наявність у даного виду рослин ефективних стрес-адаптивних стратегій.

Серед 14 алелохімікатів, протестованих Coelho E.M.P. з колегами (2017), тільки кумарин інгібував ріст проростків бур'яну *Senna obtusifolia* L. При цьому кумарин був

здатний редукувати активність лише частини антиоксидантних захисних ензимів досліджуваної рослини. Інші алелохімікати - не вплинули на активність захисних ензимів і не загальмували розвиток проростків бур'яну *Senna obtusifolia* L.

Таким чином, здатність рослин *Senna obtusifolia* L. проростати практично в будь-яких умовах пов'язана з їх дуже ефективною системою захисту клітин від реактивних форм кисню, які генеруються клітинами в стресових умовах і, зокрема, в присутності алелохімікатів, що виділяються іншими рослинами (Coelho et al., 2017).



Рис. 31. Інвазивний бур'ян *Senna obtusifolia* L. (<https://www.google.com.ua/search?q=Senna+obtusifolia>).

Аутоотоксичність хімічних речовин, які виділяються рослинами

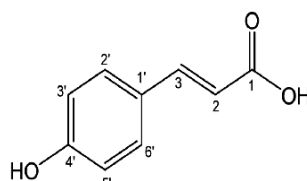
Аутоотоксичність речовин, які синтезують рослини спаржі. Спаржа (*Asparagus officinalis* L.) є багаторічним овочем, але її врожайність і якість поступово знижуються. Вважається, що однією з можливих причин є аутоотоксичність спаржі. Однак аутоотоксичні властивості кореневищ спаржі залишаються поки не вивченими.

Kato-Noguchi Н. з колегами (2017) було показано, що витяжка з коренів спаржі пригнічує ріст проростків спаржі і шести інших видів рослин: крес-салату (*Lepidum sativum* L.), салату (*Lactuca sativa* L.), люцерни (*Medicago sativa* L.), райграса (*Lolium multiflorum* Lam.), тимофіївки (*Phleum pratense* L.) і барнаграсса (*Echinochloa crus-galli* L.) дозозалежним чином. Отримані дані свідчать про те, що корені спаржі містять токсичні речовини.

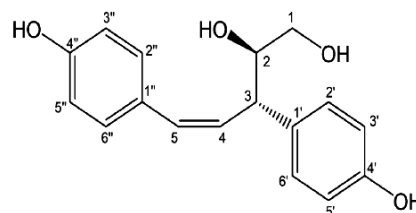
Авторами роботи з витяжки коренів спаржі були ізольовані р-кумарова кислота і ізо-агатарезинол. Ці речовини інгібували ріст тестованих рослин в концентрації вище 0,1 мМ. Виявлені речовини можуть бути причиною аутоотоксичності рослин спаржі, яка виникає при вирощуванні даної рослини (Kato-Noguchi et al., 2017).



Рис. 32. Спаржа (*Asparagus officinalis* L.) (<https://www.google.com.ua/search?q=Asparagus+officinalis>).



Compound 1



Compound 2

Рис. 33. Хімічна структура р-кумарової кислоти (compound 1) і ізо-агатарезинолу (compound 2) (Kato-Noguchi et al., 2017).

Аутоотоксичність речовин, які синтезуються коренями рослин тютюну. Ren X. з колегами (2015) була показана фітотоксичність екстракту з коренів тютюну для рослин салату (*Lactuca sativa*) і для самих рослин тютюну. З екстракту авторами роботи були

ізолювані шість речовин, серед яких, β -цембрендіол (1), ді-*n*-гексилфталат (2), біс(2-пропілгептил)фталат (3) показали фітотоксичність по відношенню до проростків салату і аутоксичність по відношенню до проростків тютюну. Отримані дані дозволяють пояснити причини поганого росту рослин тютюну при тривалому культивуванні на одній і тій же території (Ren et al., 2015).

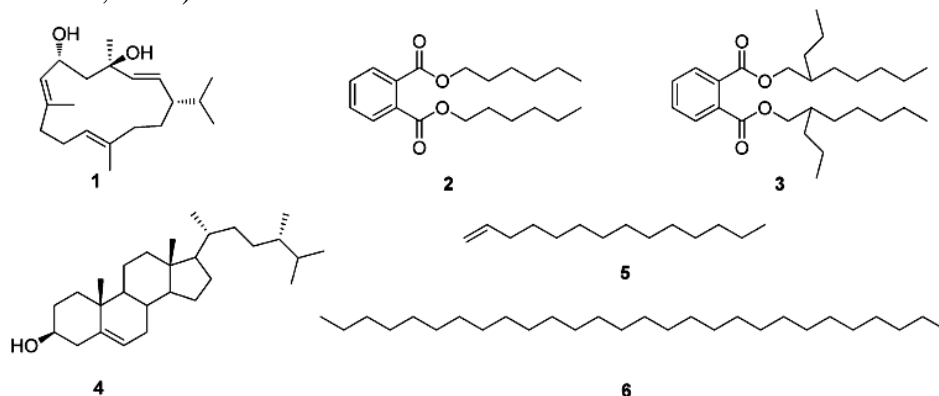


Рис. 34. Структурні формули сполук, виділених з ризосферного шару ґрунту, на якому тривалий час культивувалися рослини тютюну. Де: β -цембрендіол (1), ді-*n*-гексилфталат (2), біс(2-пропілгептил)фталат (3), ергоста-5-ен-3-ол (4), 1-тетрадецен (5), октакозан (6) (Ren et al., 2015).

Токсини грибів і їх екологічна роль

Використання пестицидів на полях призвело до появи у мушок дрозофіл стійкості не тільки до пестицидів, а й до токсину блідої поганки. Використання пестицидів на полях призводить до виявлення численних фактів появи стійкості до пестицидів і інших типів отрут не тільки у цільових комах-шкідників, а й у нецільових організмів.

Зокрема, фруктові мушки дрозофіли (*Drosophila melanogaster*) в природних умовах харчуються фруктами і є чутливими до токсинів грибів. Близько 50 років тому на території Тайваню, Індії та Малайзії були виявлені три лінії мушок дрозофіл, стійких до отрути α -аманітину грибів блідих поганок. Вважають, що причиною появи такої стійкості стало використання на полях пестицидів.

Mitchell C.L. з колегами (2015) було показано, що на сьогоднішній день, не дивлячись на те, що пройшло вже близько 50 років, - мушки не втратили своєї стійкості до α -аманітину. Таким чином, використання пестицидів на полях може мати непередбачувані і тривалі наслідки для природних екосистем (Mitchell et al., 2015).

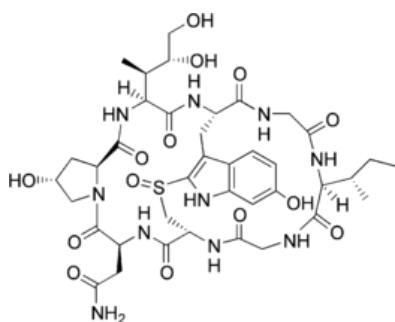


Рис. 35. Хімічна структура α -аманітина - отрути блідої поганки (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 36. Мушка дрозофіла *Drosophila melanogaster* (<https://www.google.com.ua/search>).

Азіатські мушки придбали стійкість до отрути блідої поганки в результаті використання на полях пестицидів.

Обробка сховищ зерна фунгігантами захищає зерно від пошкодження шкідниками і хворобами; однак, цей же вплив підвищує рівень присутності на зерні грибів, які продукують мікотоксини. Solanki M.K. з колегами (2019) було показано, що використання одного з найбільш ефективних методів знищення комах в зерні під час його

зберігання - проведення фумігації фосфінами - істотно впливає на склад мікробіома зерна пшениці, що зберігається.

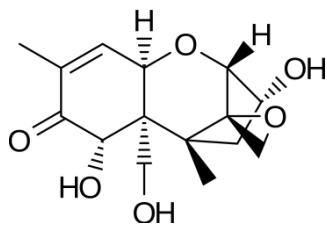


Рис. 37. Структурна формула дезоксиніваленолу (вомітоксину) - токсину, який є небезпечним для людини і який продукують плісняві гриби роду *Fusarium* для захисту своєї кормової бази (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 38. Гриб *Fusarium graminearum*. Паразитиє на зерні. Для захисту своєї кормової бази синтезує мікотоксини, (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Аналіз зерна пшениці на мікотоксини, проведений після фумігації фосфіном, виявив присутність токсинів грибів *Fusarium*, в першу чергу дезоксиніваленолу. Крім того, на зерні були виявлені кілька мікотоксигенних видів гриба *Fusarium* spp. Результати проведеного дослідження свідчать про те, що фумігація фосфінами зерна пшениці змінила структуру мікробного співтовариства, що призвело до зміни видового складу в бік мікотоксигенних штамів (Solanki et al. 2019).

Харчові продукти у всьому світі повсюдно забруднені токсинами цвілевих грибів - охратоксинами, які є небезпечними для здоров'я людини. Охратоксин А є мікотоксином, який продукують різні види цвілевих грибів, що відносяться до родів *Aspergillus* і *Penicillium*, і який є найбільш поширеним мікотоксином, що забруднює харчові продукти і корми тварин у всьому світі.

Охратоксин А потрапляє в харчові продукти через інфікування пліснявими грибами сільськогосподарських культур на полях під час їх росту, під час збору врожаю або під час зберігання і транспортування. Крім зерна і продукції з зерна, охратоксин А також міститься в ряді інших продуктів харчування, включаючи каву, какао, вино, пиво, бобові, спеції, сухофрукти, виноградний сік, нирки свині та інші види м'яса і м'ясних продуктів з нежуйних тварин, які харчувалися кормами, забрудненими цим мікотоксином.

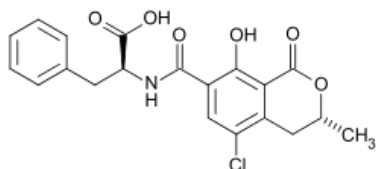


Рис. 39. Структурна формула охратоксину А, що синтезується пліснявими грибами (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

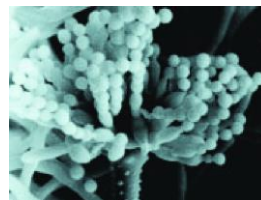


Рис. 40. *Aspergillus ochraceus* (<https://www.google.com.ua/search?q=Aspergillus+ochraceus>).

Цей мікотоксин здійснює ембріотоксичну, тератогенну, нефротоксичну, імунотоксичну, нейротоксичну і канцерогенну дію на організм людини в результаті вживання харчових продуктів, забруднених цим токсином. У більшості видів ссавців охратоксин А в першу чергу вражає нирки. В ряді досліджень було показано, що охратоксин А є можливою причиною розвитку балканської ендемічної нефропатії - важкої, прогресуючої і смертельної хвороби нирок, виявленої в Балканських країнах (Erceg et al., 2019).

Плісняві гриби на харчових продуктах в умовах освітлення видимим світлом синтезують більше афлатоксинів. Афлатоксини - це отрути, що виділяються пліснявими грибами аспергілу жовтого (*Aspergillus flavus*) і аспергілу паразитичного (*Aspergillus parasiticus*) для захисту своєї кормової бази. Афлатоксини є найсильнішими з виявлених на сьогоднішній день гепатоканцерогенів. У розвинених країнах проводиться контроль продукції на присутність афлатоксинів. Заражені партії знищуються. Для країн, що розвиваються, де подібний контроль відсутній, зараження продуктів пліснявими грибами залишається серйозним фактором смертності. Наприклад, в Мозамбіку смертність від раку печінки в 50 разів вище, ніж у Франції ([https:// ru.wikipedia.org/wiki/](https://ru.wikipedia.org/wiki/)).

Kovac T. з колегами (2018) було встановлено, що в умовах освітленості видимим світлом біомаса цвілевих грибів *Aspergillus flavus*, що розвиваються на харчових субстратах, зменшується, однак при цьому освітленість сприяє розвитку конідій і підсилює продукцію грибами афлатоксинів (Kovac et al., 2018).

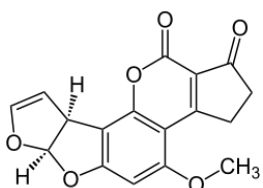


Рис. 41. Структурна формула афлатоксина В1, синтезованого пліснявими грибами ([https:// ru.wikipedia.org/wiki/](https://ru.wikipedia.org/wiki/)).



Рис. 42. Аспергіл жовтий (*Aspergillus flavus*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 43. Аспергіл паразитичний (*Aspergillus parasiticus*) (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Плісняві гриби синтезують афлатоксини для самозахисту від поїдання комахами і їх личинками. Якою є екологічна функція продукування афлатоксинів пліснявими грибами *Aspergillus flavus*? Drott M.T. з колегами (2017) припустили, що рівень продукування афлатоксина пліснявими грибами *Aspergillus flavus* обумовлений їх взаємодією з комахами, що харчуються цими грибами.

Дослідження ліній аспергілу, які продукують і не продукують афлатоксини, показало, що харчування личинок мушок дрозофіл на грибах, які продукують афлатоксини, призводило до високого рівня смертності личинок. Крім того, у грибів продукування афлатоксину підвищилося в 1,5 рази в присутності всього однієї личинки мушки дрозофіли і в 3 рази при механічному пошкодженні гриба. Отримані дані свідчать про те, що цвілеві гриби синтезують мікотоксини для самозахисту від поїдання комахами (Drott et al., 2017).

*NB! Вторинні метаболіти грибів спроможні виконувати і інші функції. Наприклад, паразитичні гриби *Fusarium graminearum*, які заражають пшеницю, продукують дезоксиніваленол (DON). Дослідження показали, що мутантні лінії цих грибів, які не спроможні продукувати DON, здатні заражати організм-господаря, однак, їх вірулентність різко знижується.

Міжвидові взаємовідносини між грибами: одночасна присутність в експериментальній системі грибів різних видів змушує їх посилити синтез наявних вторинних метаболітів і почати синтез вторинних метаболітів, які вони не синтезували в умовах росту в монокультури (тобто, без грибів іншого виду). Відомо, що гриби здатні продукувати широкий спектр речовин - вторинних метаболітів. Вважають, що однією з функцій вторинних метаболітів є боротьба з грибами-конкурентами за територію і харчові ресурси. Для підтвердження цієї гіпотези, Knowles S.L. з колегами (2019) вирощували

спільно гриб *Aspergillus fischeri*, який продукує набір мікотоксинів, з грибом *Xylaria cubensis*, який продукує фунгістатичний мікотоксин - гризеофульвін.

Автори роботи порівняли просторові профілі вторинних метаболітів обох грибів в монокультурі і в умовах спільного культивування. Отримані дані свідчать про те, що гриб *Xylaria cubensis* в монокультурі переважно синтезував гризеофульвін і дехлорогризофульвін. Однак, в умовах спільного культивування *Xylaria cubensis* синтезував ті ж два вторинних метаболіти, а також дехлор-5-гідроксигризофульвін і 5'-гідроксигризофульвін, які мають фунгістатичні властивості, а також в якості мікотоксинів, - цитохалазин D і цитохалазин C.

Навпаки, при спільному культивуванні *Aspergillus fischeri* збільшив продукцію мікотоксинів фумітреморгіна В і веррукулогена, але в іншому залишався незмінним у порівнянні з культивуванням в умовах монокультури.

Для встановлення ролі вторинних метаболітів в захисті території і ресурсів грибами, авторами роботи було проведено спільне культивування гриба *Xylaria cubensis* з грибом мутантної лінії *Aspergillus fischeri*, у якої був відключений ген *laeA* - головний регулятор вторинного метаболізму.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що знижений біосинтез вторинних метаболітів штамом $\Delta laeA$ *Aspergillus fischeri* усуває здатність цього гриба конкурувати в спільній культурі і призводить до його витіснення грибом *Xylaria cubensis* (Knowles et al., 2019).

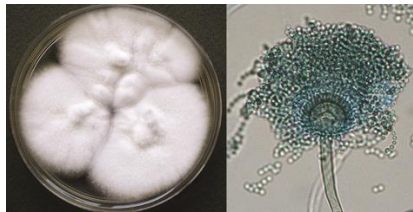


Рис. 44. Пліснявий гриб *Aspergillus fischeri* (<https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/aspergillus/>).



Рис. 45. Гриби *Xylaria cubensis* ростуть, як правило, на мертвій деревині (<https://www.google.com.ua/search?q=Xylaria+cubensis>).

В тканинах мохів *Hypnum* sp. живуть гриби-ендофіти, які продукують токсичні вторинні метаболіти. Wei Н. з колегами (2015) було показано, що в тканинах моху *Hypnum* sp. живе гриб ендоефіт *Xylaria* sp., який синтезує токсичний вторинний метаболіт - цитохалазин (Wei et al., 2015).



Рис. 46. Мох *Hypnum* (<https://www.google.com.ua/search?q=Hypnum>). В тканинах цих мохів живуть гриби-ендофіти, які продукують токсичні вторинні метаболіти. Екологічна роль цих токсинів поки не встановлена.

Деякі ентомопатогенні гриби, деякі ендоефітні гриби рослин і гриби патогени рослин синтезують токсичний бензохінон ооспореїн, який здатний блокувати імунну систему організму-господаря. Хінони досить поширені в природі і проявляють різноманітну біологічну активність. Вперше бібензохіноновий ооспореїн був виявлений близько 50 років тому у аскоміцетних грибів *Beauveria bassiana*, які є патогенами комах. Цей токсин також може продукуватися іншими грибами – патогенами рослин, а також - ендоефітними грибами.

Проведене Feng P. з колегами (2015) біотестування ооспореїна на комах показало, що цей токсин необхідний для вірулентності грибів і діє шляхом блокування імунітету господаря, що сприяє розмноженню грибів в організмі комах (Feng et al., 2015). Отримані дані дозволяють припустити, що аналогічну роль – блокування імунної системи організму-господаря – ооспореїн виконує і у фітопатогенних грибів, і у грибів – ендofітів.

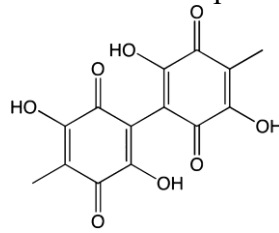


Рис. 47. Структурна формула ооспореїна - токсину, який синтезується деякими паразитичними і ендofітними грибами для блокування імунної системи організму-господаря (<https://www.google.com.ua/search?q=oosporein>).

Усередині морських губок можуть жити гриби, які продукують токсичні вторинні метаболіти. Wang J. з колегами (2015) було встановлено, що всередині глибоководних морських губок *Phakellia fusca* живуть морські гриби (т.зв. ендозої) *Arthrinium arundinis*, які продукують токсини - аналоги цитохалазину (Wang et al., 2015).



Рис. 48. Глибоководна морська губка роду *Phakellia* (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/84/Phakellia_600.jpg).

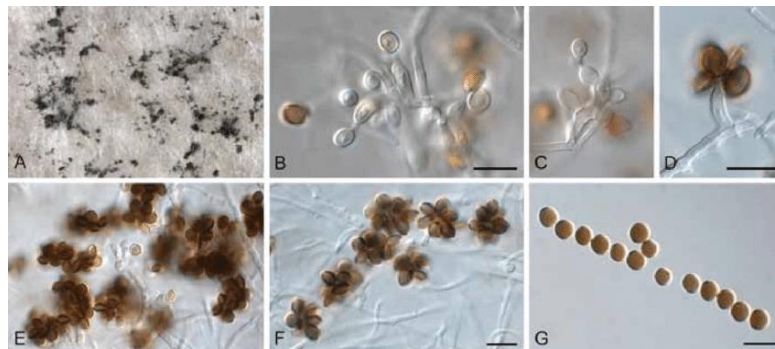


Рис. 49. Гриб-ендозой *Arthrinium arundinis* (<https://www.researchgate.net/figure/Arthrinium-arundinis>).

Гриби захищаються від обгризання членистоногими синтезуючи токсичні вторинні метаболіти (по аналогії з самозахистом рослин від обгризання рослиноїдними тваринами), і вкладаючи всі свої ресурси в статеве розмноження. Організми - потенційні жертви нападу хижаків - реагують на тиск хижаків безліччю індукцибельних захисних стратегій. Хоча стратегії індукцибельного захисту добре відомі у рослин, на які нападають рослиноїдні комахи, індуквана стійкість грибів до тварин, які харчуються грибами, в значній мірі невідома. Вважається, що стійкість до тварин, які обгризають гриби, забезпечується в результаті продукування грибами токсичних вторинних метаболітів. Однак невідомо, змінюють чи ні гриби склад своїх вторинних метаболітів для підвищення стійкості до членистоногих, які обгризають гриби.

обгризанню членистоногим *Folsomia candida* (сірі стовпчики гістограм), в порівнянні з недоторканими грибами (білі стовпчики гістограм); (1-2) - структурні формули вторинних метаболітів гриба *Aspergillus nidulans*, синтез яких посилюється у відповідь на обгризання членистоногим (Doll et al., 2013).

Бактерії, що живуть усередині гіфів грибів (т.зв. ендofунгальні бактерії) є продуцентами мікотоксинів. Мікотоксини - це вторинні метаболіти, які синтезують гриби. Однак недавно були описані два приклади, в яких мікотоксини синтезуються не самим грибом, а бактеріями, що знаходяться в цитоплазмі гриба.

Для мікотоксинів були запропоновані різні екологічні функції: у багатьох випадках вони можуть служити захисною зброєю грибів проти конкурентів, тоді як в інших випадках вони можуть діяти головним чином як фактори вірулентності (наприклад, фітотоксини).

Про дивовижні взаємодії між рослинами і грибами-ендофітами повідомлялося для грибів роду *Epichloe* spp., які формують ендосимбіоз з травами: алкалоїди (наприклад, лолітрем В або ерговалін), які продукують гриби, виявляються корисними для рослини-господаря, але вони викликають небезпечні токсикози у великої рогатої худоби, яка поїдає заражену траву.

Позитивний вплив грибів роду *Epichloe* spp. на своїх рослин-господарів включає збільшення росту рослин, стійкість рослин до посухи і до рослинноїдних тварин і патогенів. Стійкість до рослинноїдних тварин пов'язують з алкалоїдами, які продукують ендofітні симбіотичні гриби *Epichloe* spp. Однак в більшості випадків справжня біологічна роль токсинів грибів залишається невідомою.



Рис. 52. Гриб *Epichloe typhine* на траві тонконіг (<https://en.wikipedia.org/wiki/Epichloe>).

До недавнього часу вважалося, що мікотоксини, виділені з певного штаму грибів, продукуються цими штамми. Однак на сьогоднішній день стало відомо, що в деяких випадках токсин синтезується не грибом, а бактеріями, які знаходяться в гіфах гриба.

Наприклад, деякі мікотоксини, виділені з грибів роду *Rhizopus*, насправді продукуються симбіотичними бактеріями, що живуть в цитоплазмі клітин гриба. Було показано, що два токсини, виділені з грибів і, отже, відомі як «мікотоксини», насправді синтезуються ендобактеріями, які живуть в клітинах грибів.

Так, різоксин – це мікотоксин, який викликає гниття проростків рису. На початку 1980-х років цю сполуку було виділено з культур сапротрофного гриба *Rhizopus microsporus* (раніше відомого як *Rhizopus chinensis*), який ріс на проростках рису. Різоксин викликає формування кореневого свелінга (здуття) у проростків рису при концентрації всього 10 нг/мл.

Це досягається шляхом ефективного зв'язування різоксину з бета-тубуліном в клітинах рису і призводить не лише до блокування полярного росту клітин коренів, але й до порушення поділу їх клітин. Виявилося, що різоксин синтезують ендofунгальні бактерії, які були виявлені в цитоплазмі клітин грибів *Rhizopus microsporus* за допомогою конфокальної лазерної скануючої мікроскопії.

Збарвлення на живі/мертві клітини виявило присутність в клітинах грибів великої кількості живих паличкоподібних ендобактерій. Критична роль ендofунгальних бактерій в продукуванні різоксину була перевірена шляхом обробки гриба антибіотиком ципрофлоксацином, який є активним проти бактерій, але не проти грибів. В отриманому вилікуваному від бактерій штамі грибів різоксин не було виявлено.



Рис. 53. Гриби *Rhizopus microspores*, що продукують мікотоксин різоксин (<https://www.google.com.ua/search?q=Rhizopus+microsporus>).

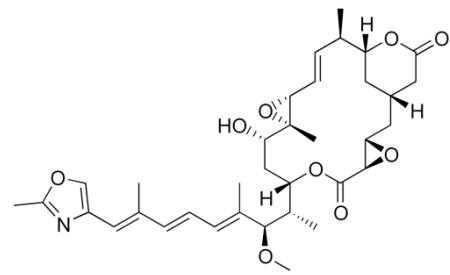


Рис. 54. Структурна формула різоксину - мікотоксину, який продукують ендосимбіотичні бактерії, що живуть в цитоплазмі клітин грибів (<https://en.wikipedia.org/wiki/Rhizoxin>).

Остаточний доказ було надано успішним виділенням з гриба бактеріального штаму, який продукує різоксин. *NB! Слід відзначити, що виділена бактерія може бути вирощена в чистій культурі. Повна послідовність гена 16S рРНК була ампліфікована і секвенована, і пошук в базі даних показав, що ці бактерії належать до роду *Burkholderia*. Виділений штам був описаний як новий вид *Burkholderia rhizoxinica*, з назвою, що відображає здатність цих бактерій синтезувати різоксин.

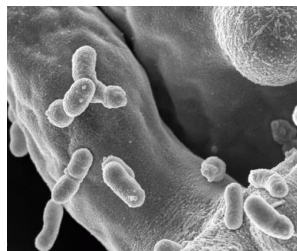


Рис. 55. Бактерії *Burkholderia rhizoxinica* і гіфи гриба *Rhizopus microsporus* (<https://www.beutenberg.de/aktuelles/nachrichten/>).

Таким чином, фітотоксин різоксин - помилково відомий як метаболіт грибів, синтезується бактеріями-ендосимбіонтами гриба. Різоксин блокує полярний ріст і поділ клітин рослин і може навіть призвести до загибелі рослини. При попаданні в їжу з зерном рису або іншими продуктами - різоксин проявляє гепатотоксичні властивості по відношенню до організму людини. Натомість ендосимбіотичні бактерії, вочевидь, отримують вигоду від «безпечної» ніші в клітинах грибів і наявності поживних речовин, які забезпечуються грибом.

Кластер генів біосинтезу галюциногенних метаболітів - передається між грибами горизонтально і забезпечує грибам-господарям екологічні переваги. Вторинні метаболіти є гетерогенним класом хімічних речовин, які часто забезпечують взаємодію між видами. Вторинний метаболіт, отриманий з триптофану, псилоцин, є агоністом серотонінових рецепторів, і речовиною, яка здатна викликати змінені стани свідомості.

Філогенетично неспоріднена група грибів *Agaricales* продукує псилобцін - попередник псилоцину. Такий феномен зазвичай спостерігається при горизонтальному перенесенні кластерів метаболічних генів між неспорідненими грибами з екологічними нішами, які перекриваються.

Reynolds Н.Т. з колегами (2018) було виявлено кластер генів біосинтезу псилобціну в геномах трьох галюциногенних грибів і представлені докази його горизонтального перенесення між лініями грибів. При цьому схеми розподілу і передачі генів свідчать про те,

що синтез псилобіцину забезпечив перевагу грибам, які мешкають в гної, і грибам, що живуть на мертвих деревах, які розкладаються.

Накопичення псилобіцину в грибах змінює поведінку тварин-мікофагів, які пошкоджують гриби, і безхребетних тварин - конкурентів за однакові з грибами харчові ресурси, що, в результаті створює екологічні переваги для гриба-продуцента даного галюциногенного мікотоксину (Reynolds et al., 2018).

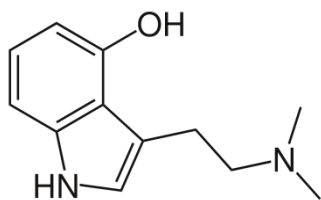


Рис. 56. Псилоцин – вторинний метаболіт, який синтезується деякими видами грибів, і викликає галюцинації у людей (<https://en.wikipedia.org/wiki/Psilocin>).



Рис. 57. Гриб *Psilocybe semilanceata*, який синтезує псилоцин (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Отрути бактерій

Хронічний вплив токсинів ціанобактерій протягом 2-3 поколінь знижує репродуктивну здатність і виживання рачків дафній. Зміни клімату і діяльність людини викликають збільшення частоти та інтенсивності цвітіння водойм внаслідок гіперразмноження ціанобактерій, які спроможні виділяти токсини в водні екосистеми. При цьому спільноти зоопланктону відносяться до організмів, які одними з перших піддаються цьому токсичному впливу.

Дао Т.С. з колегами (2018) перевірили два питання (i), чи здатні тропічні дафнії *Daphnia lumholtzi* формувати толерантність до екологічно значимої концентрації мікроцистину-LR ціанобактерій і передавати толерантність наступним поколінням F1 і F2? I (ii) чи відновляться покоління F1 і F2, якщо їх вирощувати в середовищі, яке не містить токсини?



Рис. 58. Тропічний рачок дафнія *Daphnia lumholtzi* (<https://www.google.com.ua/search?q=Daphnia+lumholtzi>).

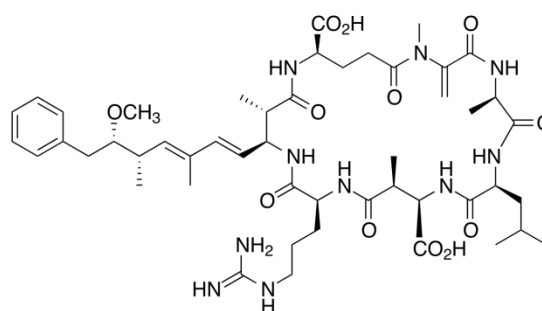


Рис. 59. Структурна формула токсину ціанобактерій мікроцистину-LR (<https://en.wikipedia.org/wiki/Microcystin-LR>).

Для відповіді на ці питання, автори роботи провели експерименти з дафніями *Daphnia lumholtzi*, які піддавалися впливу мікроцистину-LR в концентрації 1 мкг/л безперервно

протягом трьох поколінь. Були визначені виживання, вік зрілості, довжина тіла і плодючість кожного покоління *Daphnia lumholtzi*.

Хоча токсини мали слабкий негативний вплив на перше покоління (F0), авторами роботи був виявлений сильний прямий, накопичений і перенесений вплив токсинів на дафній *Daphnia lumholtzi* в F1 і F2 поколіннях, включаючи зниження виживання і розмноження. Рівень виживання рачків, вік зрілості і довжина тіла повернулися до контрольних значень тільки тоді, коли потомство від матерів, які зазнали впливу токсинів, вирощувалося в чистому середовищі протягом двох поколінь.

Отримані дані свідчать про те, що хронічний вплив токсинів, що виділяються в воду в процесі розмноження ціанобактерій, знижує виживання *Daphnia lumholtzi* в тропічних озерах і водоймах. Таким чином, тривале цвітіння водойм, спровоковане як змінами клімату, так і діяльністю людини, може мати далекосяжні екологічні наслідки (Dao et al., 2018).

Яд бацили туринської в трансгенних сільськогосподарських рослинах становить загрозу для комах і павуків, які живуть на полях. *NB! У ґрунтах живуть бактерії - бацили туринські (*Bacillus thuringiensis*), які синтезують Cry-токсин, отруйний для комах. Цей токсин вбудовується в мембрани клітин кишечника комах, формуючи в них пори, через які витікає вміст клітин, що призводить до загибелі комах.



Рис. 60. Бацила туринська (<https://www.google.com.ua/search?q=Bacillus+thuringiensis>).

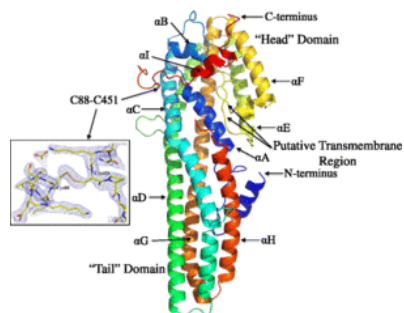


Рис.61. Стрічкова модель будови Cry-токсину бацили туринської (<https://en.wikipedia.org/wiki/Cry6Aa>).

Сьогодні методами генної інженерії отримані сільськогосподарські рослини, в геном яких перенесений ген синтезу токсину бацили туринської. Ці рослини (т.зв. Bt-рослини) є стійкими до пошкодження комахами. З моменту появи трансгенних сільськогосподарських культур, що синтезують токсин бацили туринської, не припиняються дебати про екологічні ризики використання Bt-культур.

Особлива увага приділяється впливу Bt-рослин на нецільових безхребетних. Наприклад, на рисових полях основними хижаками є павуки.



Рис. 62. Павук *Pirata subpiraticus* (https://ceb.wikipedia.org/wiki/Pirata_subpiraticus/)



Рис. 63. Личинка рисової листовійки *Cnaphalocrocis medinalis* (<https://en.jadam.kr/news/articleView.html?idxno=10124>).

Було виявлено, що Vt-білок накопичується в організмі павуків як частина їх харчового ланцюга. При цьому білок Vt впливає на фізіологію павуків і їх розвиток. Зокрема, годування павуків *Pirata subpiraticus* личинками рисової листовійки *Snaphalocrocis medinalis*, які були вирощені на Vt-рисі, призводить до значного уповільнення розвитку павуків.

Крім того, в польових умовах були виявлені факти випадкового вбудовування генів Vt в нецільові організми, зокрема, в організм членистоногих (Yang et al., 2017).

Гриби роду *Pleurotus* продукують токсини, механізм дії яких аналогічний отруті туринської бацили, що дозволяє їх використовувати в якості біопестицидів проти комах-шкідників як альтернативу Vt-трансгенним рослинам. Гриби роду *Pleurotus* синтезують егеролізини - остреолізін А (OlyA), плевротолізін А (PlyA) і плевротолізін В (PlyB), які мають домен атаки на мембрани. При зв'язуванні з мембранами, збагаченими сфінгомієліном/холестерином, ці егеролізини формують трансмембранні пори. Нещодавно було показано, що егеролізини грибів роду *Pleurotus* переважно зв'язуються зі штучними ліпідними мембранами, які за складом відповідають мембранам клітин безхребетних тварин.



Рис. 64. Гриби гливи устричні (*Pleurotus ostreatus*), які синтезують егеролізини (<https://www.google.com.ua/search?q=Pleurotus+ostreatus>). Гриби роду *Pleurotus*, продукують токсини, механізм дії яких є аналогічним дії токсину бацили туринської.

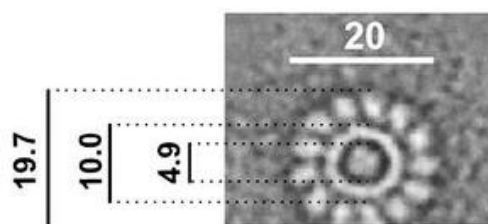


Рис. 65. Електронна мікроскопія дозволяє виявити пори в мембранах, які формують білкові комплекси егеролізинів (<http://www.bf.uni-lj.si/en/biology/department/chairs/biochemistry/biological-role-and-application-of-aegerolysin-like-proteins/>).

Panevska A. з колегами (2019) було встановлено, що егеролізини грибів роду *Pleurotus* вбудовуються в мембрани і проявляють селективну токсичність по відношенню до личинок західного кукурудзяного кореневого черв'яка і дорослих особин і личинок колорадського жука. При цьому виявлений спосіб зв'язування з мембраною відрізняється від тих, які описані для аналогічних бактеріальних комплексів на основі Cry-токсинів *Bacillus thuringiensis*, які мають білкові рецептори.

Автори дослідження пропонують використовувати егеролізини грибів роду *Pleurotus* в якості нових біопестицидів для боротьби із західним кукурудзяним кореневим черв'яком і колорадським жуком (Panevska et al., 2019).

Отрути тварин і їх екологічна роль

Токсичність тритонів забезпечує їм захист не тільки від хижаків, але й від паразитів і патогенів. Класичні дослідження токсичності тварин були зосереджені на ролі токсинів в захисті від хижаків. Але останні дослідження свідчать про те, що ці ж сполуки спроможні забезпечити потужний захист організмів від паразитів і інфекційних захворювань. Наприклад, тритони роду *Taricha* яскраво забарвлені і містять потужний нейротоксин, тетродотоксин, який, як вважається, еволюціонував як захист від хижаків хребетних, таких як підв'язкові змії. Однак популяції тритонів часто сильно відрізняються за токсичністю, і це лише частково пояснюється тиском хижаків.

Основною метою дослідження, проведеного Johnson P.T.J. з колегами (2018), було оцінити взаємозв'язок між концентрацією тетродотоксину в шкірі тритонів і їх інфікованістю паразитами. Аналіз поширення мікро- і макропаразитарних інфекцій серед 345 дорослих тритонів (симпатричні популяції *Taricha granulosa* і *Taricha torosa*), показав зараженість тритонів 18 унікальними таксонами гельмінтів, грибів, вірусів і найпростіших.

При обстеженні обох видів тритонів - концентрації тетродотоксину на одну особину варіювали від невизначуваних до > 60 мкг/см² шкіри. Проведені дослідження показали, що чим вище була концентрація тетродотоксину в шкірі тритона - тим нижче була зараженість особини паразитами. Таким чином, зіставлення даних про токсичність шкірних покривів і інфікованість тритонів широким спектром мікро- і макропаразитів свідчить про те, що поряд з впливом на хижаків, тетродотоксин здатний захистити тритонів від паразитарних інфекцій (Johnson et al., 2018).



Рис. 66. Отруйний тритон *Taricha granulosa* (<https://www.google.com.ua/search?q=Taricha+granulosa>).

Токсини фітопланктону захищають дафній від паразитичних грибів, але не від бактерій. Домінантним видом прісноводних екосистем є рачки дафнії (*Daphnia*). Sanchez K.F. з колегами (2019) годували дафній *Daphnia dentifera* зеленими водоростями і токсичними ціанобактеріями. Після чого дафній піддавали впливу паразитичних грибів і бактерій. Було встановлено, що годування дафній токсичним фітопланктоном перешкоджало інфікуванню рачків паразитичним грибом *Metschnikowia*, проте - знижувало їх стійкість до патогенних бактерій *Pasteuria*.

Крім того, проведені дослідження показали, що в присутності паразитичних грибів *Metschnikowia* концентрація анатоксину-А, що виділяється нитчастими ціанобактеріями *Anabaena*, зростає, що свідчить про індукцію синтезу цього токсину в присутності паразитичного гриба. Однак, механізм такої індукції не встановлений.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що токсини, синтезовані фітопланктоном, спроможні захистити рослиноїдних мешканців водойм від паразитичних грибів, але - не від бактерій (Sanchez et al., 2019).

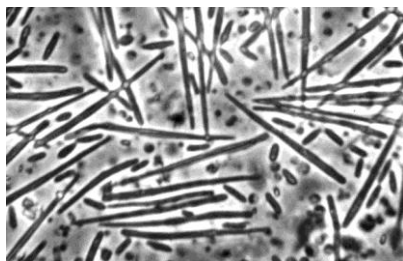


Рис. 67. Гаплоїдні аскоспори паразитичного гриба *Metschnikowia bicuspidata* (https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Metschnikowia_bicuspidata).



Рис. 68. Дафнії *Daphnia dentifera*: зліва – дафнія, інфікована паразитичним грибом *Metschnikowia*, вище і праворуч – не інфікована дафнія (https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Metschnikowia_bicuspidata).



Рис. 69. *Daphnia magna*, інфікована бактеріями *Pasteuria ramosa* (https://en.wikipedia.org/wiki/Pasteuria_ramosa).

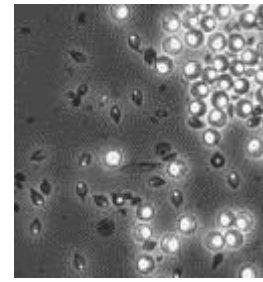


Рис.70. Ендоспори бактерій *Pasteuria ramosa* (https://en.wikipedia.org/wiki/Pasteuria_ramosa).

Рослинноїдні тварини спроможні накопичувати в своєму організмі отрути рослин, якими вони харчуються. Це забезпечує їм захист від поїдання хижаками і нападу паразитів.

Личинки комахи *Diabrotica virgifera virgifera* (т.зв. західного кукурудзяного кореневого черв'яка) - це найнебезпечніші шкідники рослин кукурудзи. Личинки цього жука харчуються коренями кукурудзи і щорічно приносять збитки на мільярди доларів. Одна з причин, по якій цей шкідник залишається такою проблемою, полягає в тому, що він може адаптуватися і протистояти багатьом стратегіям захисту посівів.

Біологічний контроль відноситься до методів боротьби зі шкідниками з використанням їх власних природних ворогів - наприклад, їх хижаків або паразитів. Спроби здійснити біологічний контроль західного кукурудзяного кореневого черв'яка були зроблені з використанням черв'яків нематод. Зазвичай нематоди знаходять личинок комах, проникають в них, виділяють своїх симбіотичних ентомопатогенних бактерій, які вбивають личинок, а потім - нематоди харчуються і розмножуються всередині мертвих личинок. Однак, виявилось, що західний кукурудзяний кореневий черв'як спроможний протистояти цим нематодам.

Відомо, що деякі рослинноїдні комахи здатні накопичувати в своєму організмі рослинні токсини для самозахисту. У 2012 році було виявлено, що західний кукурудзяний кореневий черв'як є стійким до токсинів коренів кукурудзи - до т.зв. бензоксазиноїдів. Крім того, гемолімфа західного кукурудзяного кореневого черв'яка також відштовхує багатьох хижаків.

Чи спроможні західні кукурудзяні кореневі черв'яки ізолювати бензоксазиноїди кукурудзи, щоб протистояти нематодам і їх бактеріальним партнерам? Відомо, що рослини зберігають бензоксазиноїди в нетоксичній формі всередині своїх вакуолей. Якщо рослинноїдні тварини пошкоджують рослину, то ферменти цитозоля розщеплюють неактивні прототоксини, перетворюючи їх в речовини, токсичні для більшості комах.

Robert C.A. з колегами (2017) встановили, що західний кукурудзяний кореневий черв'як використовує аналогічну систему для самозахисту від нематод і їх бактеріальних партнерів. По-перше, личинки комахи *Diabrotica virgifera virgifera* перетворюють токсичний продукт розпаду бензоксазиноїдів в нетоксичне похідне, додаючи молекулу глюкози. Потім вони виділяють в навколишнє середовище велику кількість цих модифікованих молекул для відлякування молодих нематод.

По-друге, личинки стабілізують другий рослинний бензоксазиноїд, ізолюють його в нетоксичній формі в своєму організмі і активують його при нападі нематод. Активовані токсини спроможні вбивати як нематод, так і їх бактеріальних партнерів. Отримані результати дозволяють пояснити, чому використання методу біологічного контролю за допомогою нематод не мало успіху щодо західного кукурудзяного кореневого черв'яка (Robert et al., 2017).

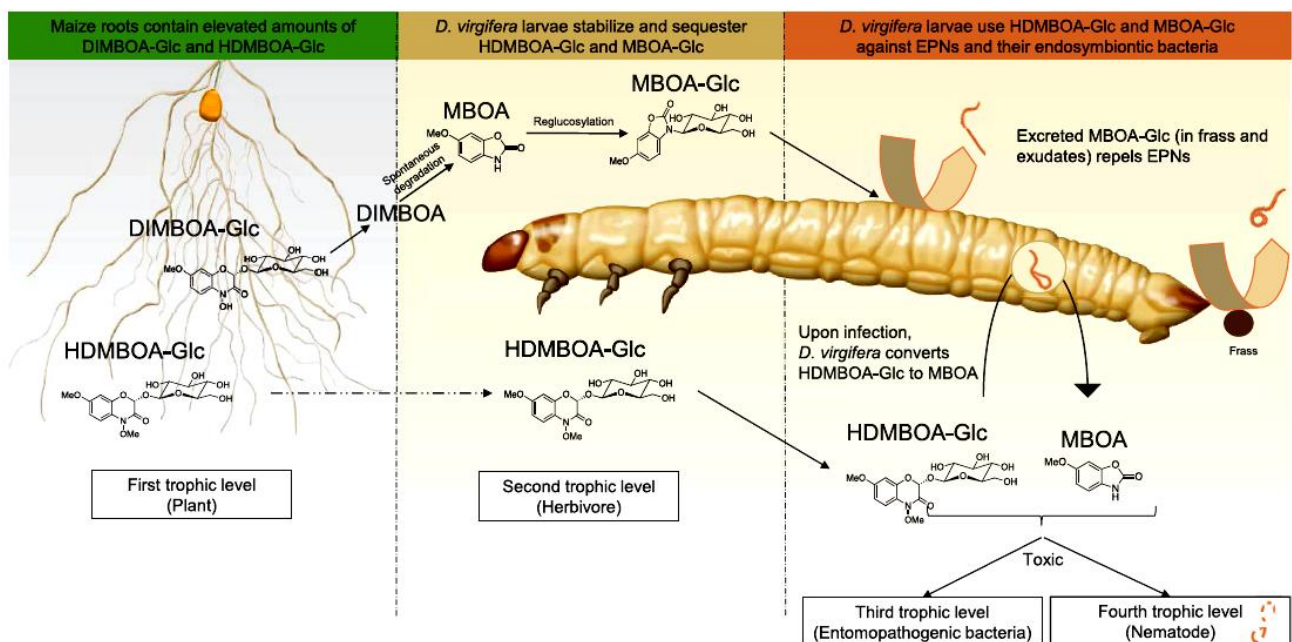


Рис. 71. Модель, що ілюструє, як секвестрація (ізолювання в організмі) бензоксазиноїдів кукурудзи і подальша активація цих рослинних токсинів захищає личинок комахи *Diabrotica virgifera* від їх ворогів. МВОА-Glc, що вивільняється в навколишнє середовище, відштовхує молодих ентомопатогенних нематод. При інфікуванні нематодами і їх симбіотичними ентомопатогенними бактеріями, HDMBOA-Glc активується з утворенням токсину МВОА. І HDMBOA-Glc, і активований МВОА інгібують ріст симбіотичних бактерій і вбивають нематод (Robert et al., 2017).

Тетродотоксин потрапляє в тканини тварин з травної системи - як при розщепленні їжі, що містить ці токсини, так і в результаті життєдіяльності кишкової мікрофлори, здатної до біосинтезу тетродотоксина (т.т., отруту синтезують бактерії і вона потім транспортується по організму тварини і накопичується в його тканинах). Тетродотоксин - це сильнодіючий нейропаралітичний токсин небілкової природи. Тетродотоксин продукують бактерії. І далі - відбувається міграція тетродотоксина від бактерій до деяких тварин, здатних накопичувати тетродотоксин в високих концентраціях. Було встановлено, що тетродотоксин потрапляє в навколишнє середовище або в результаті загибелі бактерій, які його продукують, або в процесі активного виділення тетродотоксина цими бактеріями.

Дані про розподіл тетродотоксина в органах токсичних тварин свідчать про міграцію токсину з травної системи в органи-мішені через транспортну систему організму. У формуванні токсичності тварин має значення також симбіотична мікрофлора: незважаючи на низьку продуктивність токсинів бактеріальними штамми в лабораторних умовах, навіть мінімальні кількості тетродотоксина, які продукуються кишковою мікрофлорою тварини, можуть сприяти її токсичності (Magarlamov et al., 2017).

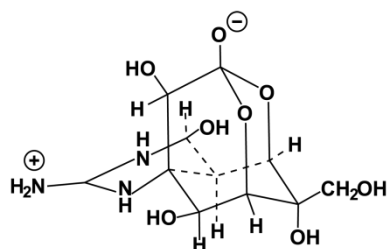


Рис. 72. Структурна формула тетродотоксину (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Джерело тетродотоксину в тканинах тварин (в рибках фугу, в тритонах, в молюсках октопусах) - бактеріальне (Whitelaw et al., 2019).



Рис. 73. Восьминіг октопус (*Napalochlaena*), тканини якого містять отруту тетродотоксин (<https://www.google.com.ua/search?q=Napalochlaena>).

Фенотип хімічної захищеності амфібій - є індукцибельним. В тілі північно-американських і євразійських тритонів накопичується тетродотоксин. У відповідь на тиск хижаків - дорослі тритони і личинки підвищують рівень тетродотоксину в своїх тканинах, в порівнянні з нестресованими особинами. Індукцибельна фенотипічна відповідь на зміни умов середовища поширена повсюдно серед різних груп організмів. Vucsiarelli G.M. з колегами (2017) цікавило питання індукцибельного хімічного захисту у амфібій, оскільки відомо, що вони не самі синтезують отруту, а накопичують отруту, синтезовану бактеріями-симбіонтами.

Тетродотоксин є ключовою речовиною хімічного захисту у тритонів Північної Америки і Євразії (*Salamandridae*). Авторами роботи було проведено дослідження можливості індукції тетродоксинового захисту у тритонів, в умовах впливу тривалим стресом на популяції дорослих і личинкових стадій каліфорнійських тритонів (*Taricha torosa*).

Проведені дослідження показали, що у відповідь на симульовані атаки хижаків дорослі тритони швидко збільшували хімічний захист і послідовно підтримували підвищені концентрації тетродотоксину в організмі в порівнянні з особинами, які не піддавалися умовам тиску хижаків. Було також встановлено, що вирощені в лабораторних умовах личинки тритонів підтримують хімічний захист майже в три рази більш інтенсивний, ніж у їх братів і сестер, вирощених в природних умовах.

У сукупності отримані результати свідчать про те, що хімічний захист амфібій не є фіксованим: концентрація токсинів в їх організмі підтримується на базовому рівні, який можливо швидко збільшити у відповідь на передбачуваний ризик (Vucsiarelli et al., 2017).

Експерименти підтвердили, що обгризання веслоногими рачками індукує синтез отрут динофлагелятами для самозахисту. Деякі види морських найпростіших динофлагелят продукують потужні нейротоксини. Природна функція цих токсинів не ясна, хоча вони імовірно виступають в якості хімічного захисту від тварин, які харчуються динофлагелятами.

Selander E. з колегами (2006) було показано, що водні сигнали від веслоногих рачків *Acartia tonsa* індукують продукцію паралітичного токсину динофлагелятами *Alexandrium minutum*, які викликають масове цвітіння води.

Індуковані стресовими сигналами динофлагеляти *Alexandrium minutum* містили в 2,5 рази більше токсинів, ніж контрольні найпростіші, і були більш стійкими до подальшого нападу веслоногих рачків. Здатність динофлагелят *Alexandrium minutum* розпізнавати і реагувати на присутність рослиноїдних тварин шляхом збільшення продукції нейротоксину і підвищення стійкості до обгризання може сприяти поширенню токсичних водоростей в морі (Selander et al., 2006).

*NB! Сакситоксин - алкалоїд, нейротоксин небілкової природи, який продукується деякими видами динофлагелят (*Gonyaulax catenella*, *Alexandrium* sp., *Gymnodinium* sp., *Pyrodinium* sp.), а також деякими ціанобактеріями (*Anabaena* sp., *Aphanizomenon* spp.,

Cylindrospermopsis sp., *Lyngbya* sp., *Planktothrix* sp.). Свою назву сакситоксин отримав від їстівних молюсків роду *Saxidomus*, які накопичують сакситоксин і його похідні при харчуванні динофлагелятами і ціанобактеріями в періоди їх бурхливого розмноження («червоні припливи»). Вживання в їжу молюсків в такий час призводить до отруєнь сакситоксином (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 74. Веслоногий рачок (*Copepode*) *Acartia tonsa* (<https://www.google.com.ua/search?q=Acartia+tonsa>).

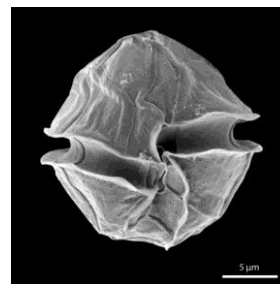


Рис. 75. Динофлагелят *Alexandrium minutum*, який виликає цвітіння водойм (<https://www.google.com.ua/search?q=Alexandrium+minutum>).

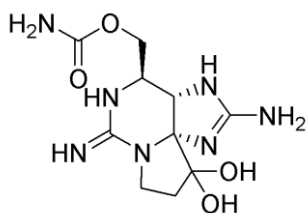


Рис. 76. Структурна формула сакситоксину - отрути, яка накопичується в молюсках і викликає отруєння людей. В молюски отрута потрапляє з динофлагелят або ціанобактерій, які її продукують (<https://www.google.com.ua/search>).



Рис. 77. Їстівний молюск *Saxidomus gigantea* під час цвітіння морської води накопичує у своїх тканинах нейротоксин сакситоксин (<http://blogs.oregonstate.edu/superfund/?tag=community>).

Експерименти, які підтверджують, що рослини синтезують алкалоїд нікотин для самозахисту від обгризання. Передбачається, що рослини продукують метаболіти, які знижують життєздатність рослиноїдних тварин, і, як наслідок, в природі йде відбір тварин на стійкість до цих метаболітів. Щоб встановити, чи дійсно метаболіти рослин функціонують як захисні механізми від обгризання, Steppuhn A. з колегами (2004) одержали трансгенні рослини тютюну (*Nicotiana attenuata*) з відключеними генами путресцин-N-метилтрансферази, які відповідають за біосинтез нікотину. Відключення цих двох генів призвело до того, що в рослинах тютюну більше ніж на 95% зменшилася конститутивна і індукційна продукція нікотину.

Наступні експерименти з трансгенними рослинами показали, що личинки адаптованого до нікотину рослиноїдного бражника тютюнового *Manduca sexta* (тютюновий черв'як) росли швидше і, як і чутливі до нікотину жуки *Diabrotica undecimpunctata*, надавали перевагу рослинам з відключеними генами біосинтезу тютюну.

При посіві в природному середовищі існування, рослини з відключеними генами біосинтезу тютюну, в порівнянні з рослинами дикого типу, більш часто зазнавали нападів рослиноїдних тварин і втратили в 3 рази більшу площу листя від обгризання безліччю

місцевих рослиноїдних тварин, серед яких найбільшої шкоди завдали буряковий черв'як, *Spodoptera exigua* і коники *Trimerotropis* spp. Отримані результати переконливо свідчать про те, що алкалоїд нікотин в природних умовах функціонує як ефективний захист рослин від обгризання рослиноїдними тваринами (Steppuhn et al., 2004).



Рис. 78. Рослина тютюну (*Nicotiana attenuata*), родина Пасльонові (*Solanaceae*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Nicotiana+attenuata>).

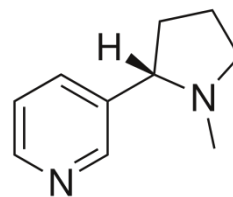


Рис. 79. Структурна формула нікотину - алкалоїду, який рослини родини Пасльонові синтезують для самозахисту від обгризання (<https://en.wikipedia.org/wiki/Nicotine>).



Рис. 80. Личинка *Manduca sexta* (тютюнового черв'яка) має стійкість до алкалоїду рослин тютюну - нікотину ([https://www.google.com.ua/search?q=Manduca+sexta+\(tobacco+hornworm\)](https://www.google.com.ua/search?q=Manduca+sexta+(tobacco+hornworm))).



Рис. 81. Огірковий жук (*Diabrotica undecimpunctata*) - організм, чутливий до алкалоїду нікотину (https://en.wikipedia.org/wiki/Spotted_cucumber_beetle).

Накопичення палітоксину в коралових поліпах і подальша секвестрація отрути в тканинах ракоподібних і морських черв'яків. В коралових поліпах родів *Palythoa* і *Zoanthus*, які формують коралові рифи Карибського моря (Колумбія), було виявлено палітоксин. Проведені Gleibs S. з колегами (1995) дослідження показали, що вміст палітоксину в окремих коралових поліпах і колоніях сильно варіює і не корелює з їх репродуктивним циклом або кількістю симбіотичних водоростей. Секвестрація палітоксину (тобто накопичення в тканинах) спостерігалася у ракоподібних (*Platypodiella* sp.), які живуть в тісному зв'язку з колоніями *Palythoa*, і у черв'яків-поліхет (*Hermodice carunculata*), які харчуються цими зоантідами. Стійкість морських тварин до цього токсину призводить до того, що палітоксин може потрапляти в харчові ланцюги (Gleibs et al., 1995).

*NB! Палітоксин - це отрута небілкової природи, яка міститься в шестипроменевих коралах зоантаріях (*Palythoa toxica*, *P. tuberculosa*, *P. caribacorum* і ін.); можливо, продукується мікрowodоростями-динофлагелятами роду *Ostreopsis*, які знаходяться в симбіозі з зоантаріями. Крім того, проведені дослідження показали, що деякі бактерії спроможні продукувати палітоксин і можуть бути фактичними джерелами токсину, виявленого в тканинах інших організмів, перерахованих вище.

Аборигени острова Таїті і Гавайських островів здавна використовували зоантарії для приготування отруєної зброї. Палітоксин є однією з найсильніших отрут небілкової природи. Володіє кардіотоксичною дією. Загибель організму відбувається через кілька хвилин в результаті звуження коронарних судин і зупинки дихання. Механізм дії палітоксину

обумовлений його міцним зв'язуванням з Na^+ , K^+ -АТФ-азами всіх клітин організму, і в першу чергу - з Na^+ , K^+ -АТФ-азами клітин нервової тканини, серця, еритроцитів. В місцях зв'язування токсину з Na^+ , K^+ -АТФазою в плазматичній мембрані утворюються пори, через які відбувається вільний потік іонів K^+ і Na^+ , що призводить до загибелі клітин через втрату мембранного потенціалу (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 82. Коралові поліпи *Palythoa toxica* накопичують у своїх тканинах палітоксин (<https://www.animali-velenosi.it/animali-acquatici/palythoa-toxica/>).

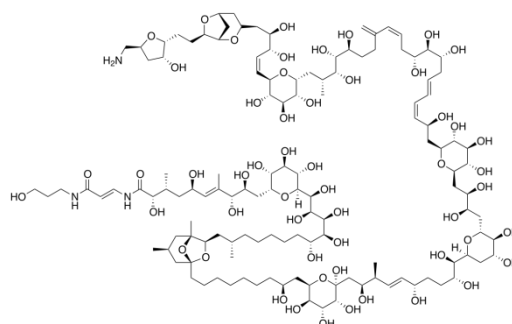


Рис. 83. Хімічна структура отрути палітоксину з коралових поліпів (<https://en.wikipedia.org/wiki/Palytoxin>).



Рис. 84. Палітоксин накопичується в ракоподібних (<https://www.google.com.ua/search?q=Platypodiella>).



Рис. 85. Палітоксин накопичується в морських поліхетних черв'яках *Hermodice carunculata*, які харчуються цими коралами (https://ru.wikipedia.org/wiki/Hermodice_carunculata).

Батрахотоксин, секвестрований з їжі, захищає птахів Нової Гвінеї від хижаків і паразитів. Батрахотоксини були виявлені в пір'ї і шкірі у п'яти видів Ново-Гвінейських птахів роду *Pitohui* і птахів виду *Ifrita kowaldi*. Проведені Dumbacher J.P. з колегами (2000) дослідження показали, що джерелом батрахотоксинів є їжа птахів: алкалоїди, які присутні в їжі, накопичуються в організмі птахів і захищають їх від нападу хижаків (змій, гризунів, інших птахів) і паразитів (бліх і т.н.). А яскраве забарвлення пір'я попереджає хижаків про токсичність цих птахів (Dumbacher et al., 2000).



Рис. 86. *Ifrita kowaldi* (<https://www.google.com.ua/search?q=Ifrita+kowaldi>).



Рис. 87. *Pitohui dichrous* (<https://www.google.com.ua/search?q=Pitohui+dichrous>).

Отруйність тропічних жаб древолазів визначається їх дією. Захисні механізми, включаючи токсичні речовини, підтримуються природним відбором, керованим хижаками. Придбання організмом токсичних речовин може бути або ендегенним, при якому речовини виробляються самим організмом, або екзогенним, при якому речовини виробляються іншим організмом і накопичуються в даному організмі. Найвні дані вказують на те, що захисні алкалоїди шкіри у неотропічних отруйних жаб древолазів (*Dendrobatidae*) мають екзогенне джерело: через харчування жаб отруйними мурахами та іншими дрібними членистоногими, які містять алкалоїди. Гіпотеза токсичної дієти, як джерела отруту тварин, передбачає, що тип дієти буде корелювати з типами алкалоїдів шкіри отруйних жаб.

Darst C.R. з колегами (2005) перевірили це припущення, використовуючи дані по екології харчування та речовинам хімічного захисту для 15 видів жаб-древолазів п'яти родів. В результаті проведеного аналізу була виявлена значна кореляція між профілями алкалоїдів і дієтичною спеціалізацією жаб. Таким чином, проведені авторами роботи дослідження підтвердили, що захисні шкірні алкалоїди тропічних жаб древолазів *Dendrobatidae* не синтезуються самими жабами, а мають екзогенне походження, пов'язане з особливостями харчування даних жаб (Darst et al., 2005).

*NB! Жаби жакливі листолази містять отруту батрахотоксин. Досить простого дотику до шкіри жаби, щоб отримати смертельне отруєння: людина помирає від зупинки серця і дихання. Місцеві племена використовують отруту цих жаб для змащування наконечників стріл. У природі ці жаби харчуються в основному мурахами, іншими дрібними комахами і кліщами. У неволі поступово втрачають отруйність через відсутність в дієті комах, що дозволяють виробляти отруту. Народжуються неотруйними (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).



Рис. 88. Листолаз жакливий (*Phylllobates terribilis*) – одна з найбільш отруйних тварин на Землі. Містить отруту батрахотоксин (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

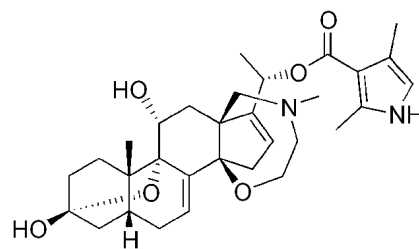


Рис. 89. Структурна формула батрахотоксину – отрути, яка накопичується в шкірі жаб листолазів жакливіх (<https://nplus1.ru/news/2017/09/05/Phylllobates-terribilis>).

Біосинтез токсичних речовин *de novo* є набагато більш поширеним у тварин, ніж секвестрація токсинів, отриманих від інших організмів, за винятком рослиноїдних тварин. Причому, секвестрація вже синтезованих іншим організмом токсинів не обов'язково є дешевшою або простішою, ніж ендегенний біосинтез. Організм, який активно накопичує токсичні метаболіти з іншого організму, повинен не тільки розвивати механізми детоксикації, але і покладатися на особливу дієту для самозахисту або для підтримки симбіонтів, які виробляють токсин. Секвестрація готових токсинів відома для лускокрилих, твердокрилих, прямокрилих, напівжорсткокрилих, перетинчастокрилих комах, для голожаберних моллюсків, птахів, земноводних і рептилій.

Шкіра амфібій має два види залоз: слизові і серозні (або зернисті) залози, які є «отруйними залозами» земноводних. Було висловлено припущення про те, що серозні залози є плезіоморфними серед амфібій і що їх початкова функція, ймовірно, відрізнялася від синтезу отруту, і лише потім залози були використані для виробництва токсинів і/або зберігання секвестрованих сполук. Механізм процесу секвестрації токсинів інших організмів у отруйних жаб невідомий. У лускокрилих речовини, які повинні бути ізольовані,

реабсорбуються через мембрану кишечника (але не руйнуються), транспортуються в гемолімфу і відкладаються в певних ділянках тіла.

Секвестровані хімічні речовини розповсюджуються в організмі не випадковим чином, і зазвичай концентруються в периферичних покривах і крилах. У отруйних жаб алкалоїди, які секвеструються в шкірі, не виявляються в м'язах або внутрішніх органах. Крім того, гіркий смак є характерним для багатьох сполук, які зустрічаються в природі, включаючи алкалоїди шкіри жаб древолазів. Периферичний розподіл і гіркий смак алкалоїдів, можливо, відіграє важливу роль в полегшенні розвитку апосематизму, оскільки хижаки мають змогу відчутти неприємний гіркий смак зразків тканин жаби, не завдаючи їй смертельних ушкоджень. Секвстрація токсинів розвивалася незалежно, не менше ніж в чотирьох лініях жаб: у *Dendrobatidae*, у *Mantella* з Мадагаскару, у австралійського *Pseudophryne* (хоча ця жаба також спроможна ендогенно синтезувати токсини) і у американського буфоніда *Melanophryniscus*.

Відомо, що джерелами шести класів алкалоїдів жаб - є алкалоїди мурах, одного класу - жуки, і ще одного класу - багатоніжки. Жаби древолази є унікальними серед хребетних тварин за своєю здатністю до багаторазового повторення еволюційної асоціації хімічного самозахисту та дієтичної спеціалізації. Повторення випадків кореляції складу дієти і алкалоїдів шкіри у *Dendrobatidae* передбачає або наявність спадкового механізму секвстрації, або те, що еволюція механізму секвстрації може бути не особливо складною або важкою для досягнення. Було припущено, що система поглинання токсинів є примітивною і у більшості жаб древолазів вона просто надмірно виражена і проявляється як секвстрація, що супроводжується накопиченням алкалоїдів в організмі.

Але якщо усі жаби древолази здатні використовувати токсини їжі для самозахисту, то чому не усі види роблять це? Наприклад, було встановлено, що жаби *Colostethus talamancae* і *Colostethus inguinalis* не накопичують алкалоїди в своїй шкірі після того, як протягом 5 тижнів їх годували мухами, на які були нанесені алкалоїди; тоді як ідентичний режим годування призводив до накопичення алкалоїдів у жаб *Dendrobates auratus* і *Phyllobates bicolor*.

Цікаво, що у жаб роду *Colostethus*, які не накопичували алкалоїди, не було зареєстровано побічних ефектів харчування отруйною їжею, що дозволяє припустити, що прийом цих токсичних алкалоїдів без шкідливих ефектів може бути плезіоморфним у жаб древолазів. Більшість, якщо не всі жаби древолази, харчуються токсичними мухами і це не наносить шкоди їх організму. Ці дані підтверджують, що можливість споживання шкідливих алкалоїдів без будь-яких побічних ефектів може бути спадковою у жаб древолазів. Цілком можливо, що секвстрація алкалоїдів у токсичних жаб древолазів є модифікацією системи, яка дозволяє всім жабам цієї групи без шкоди споживати токсичну здобич (Darst et al., 2005).

Точкова мутація забезпечує стійкість жаб жахливих листолазів до власної отрути - батрахотоксину. Отруйні жаби жахливі листолази *Phyllobates terribilis* ізолюють смертельні кількості алкалоїду батрахотоксину (BTX) в своїй шкірі в якості захисного механізму від нападу хижаків. Мішенню дії батрахотоксину є потенціал-залежні Na^+ -канали: зв'язування білка-каналу з цим токсином призводить до нездатності клітин закрити такі канали. В результаті - електричний потенціал клітин падає і такі клітини виявляються нездатними передавати потенціал збудження в нервових і м'язових клітинах, що призводить до загибелі організму від зупинки серця і дихання. Жаби жахливі листолази є стійкими до дії батрахотоксину. Однак, механізм цієї стійкості тривалий час залишався нез'ясованим.

Відомо, що рецептор, який зв'язується з батрахотоксином, розташований уздовж внутрішньої порожнини потенціал-залежного Na^+ -каналу, яка утворена чотирма трансмембранними сегментами S6 з доменів D1-D4. В Na^+ -каналах *Phyllobates terribilis* в м'язових клітинах було виявлено п'ять амінокислотних замін в доменах D1/S6 і D4/S6.

Wang S.Y. і Wang G.K. (2017) досліджували роль цих амінокислотних замін у батрахотоксин-резистентного виду жаб шляхом введення цих замін в структуру потенціал-залежного Na^+ -каналу м'язової тканини щура. Отримані дані свідчать про те, що клітини ссавців лінії HEK293t, що містять в Na^+ -білку-каналі амінокислотну заміну в положенні N1584T, мали повну стійкість до батрахотоксину. Тоді як одиночні і комбіновані мутантні

лінії з іншими чотирма амінокислотними замінами S6 (S429A, I433V, A445D і V1583I) - усі залишалися високо чутливими до батрахотоксину.

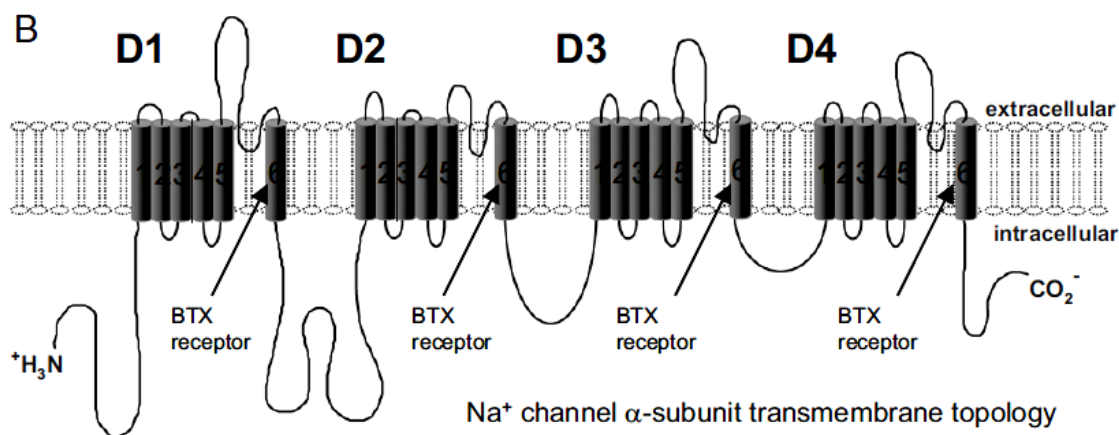


Рис. 90. Танс membranне розташування α -субодиниці закритого потенціал-залежного Na^+ -каналу. Циліндри, вбудовані в ліпідний бішар, являють собою транс membranні α -спіральні сегменти (S1-S6) доменів D1-D4. Стрілки вказують на розташування рецептора батрахотоксину (BTX) у внутрішній порожнині каналу (Wang & Wang, 2017).

Проведені дослідження показали, що консервативний амінокислотний залишок в положенні N1584 є необхідним для дії батрахотоксину, і, мабуть, він функціонує як важлива частина рецептора на батрахотоксин. Таким чином, повна ауторезистентність до батрахотоксину, виявлена в потенціал-залежних Na^+ -каналах м'язів жаб *Phyllobates terribilis*, пов'язана з одиночною амінокислотною заміною аспарагіну \rightarrow на треонін через одну нуклеотидну мутацію (AAC \rightarrow ACC) в білку відповідного Na^+ -каналу (Wang & Wang, 2017).

Медові борсуки є стійкими до отрути змій, на яких вони полюють, завдяки мутації в білку - мішені отрути. Медові борсуки (*Mellivora capensis*) полюють на отруйних змій родини аспіди (*Elapidae*) і виживають після їх укусів. Мішенню отрути альфа-бунгаротоксина цих змій є білки - нікотин-чутливі ацетилхолінові рецептори (nAChR) м'язових клітин.



Рис. 91. Медовий борсук (*Mellivora capensis*) є стійким до отрути α -бунгаротоксину аспідових змій (<https://www.google.com.ua/search?q=Mellivora+capensis>).



Рис. 92. Китайський багатосмугастий крайт (*Bungarus multicinctus*) синтезує отруту α -бунгаротоксин (<https://ru.wikipedia.org/wiki/>).

Дослідження, проведені Drabek D.H. з колегами (2015), показали, що завдяки амінокислотним замінам - білки-рецептори медових борсуків не зв'язуються з альфа-бунгаротоксином. Автори роботи встановили, що аналогічні функціонально еквівалентні амінокислотні заміни в білку-рецепторі nAChR з'явилися незалежно у медових борсуків, у їжаків і у свиней.

Ці конвергентні амінокислотні заміни перешкоджають зв'язуванню токсину з білком-рецептором внаслідок заміни незарядженого ароматичного амінокислотного залишку на позитивно заряджену амінокислоту. У токсин-стійких мангустів різні амінокислотні заміни в цих місцях - глікозильовані, що також порушує зв'язування токсину з білком-мішенню внаслідок стеричних ефектів.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що стійкість до альфа-бунгаротоксину аспідових змій з'являлася не менше чотирьох разів в різних лініях ссавців завдяки двом різним біохімічним механізмам, що діють в одній і тій самій ділянці одного і того ж рецептора.

*NB! Кобри (*Naja spp.*) є стійкими до своєї власної отрути. Дослідження показали, що їх стійкість до альфа-бунгаротоксину пов'язана з тим, що їх nAChR рецептори також не зв'язуються з альфа-бунгаротоксином завдяки придбанням амінокислотних замінів в даному рецепторі, але - в іншому положенні в порівнянні з стійкими до отрути ссавцями (Drabek et al., 2015).

*NB! Альфа-бунгаротоксин - це білковий нейротоксин, який виробляється в отруйних залозах змії *Bungarus multicinctus*. α -Бунгаротоксин специфічно зв'язується з нікотинними ацетилхоліновими рецепторами (nAChR) на постсинаптичних мембранах скелетних м'язів, тим самим блокуючи нейро-м'язову передачу сигналів.

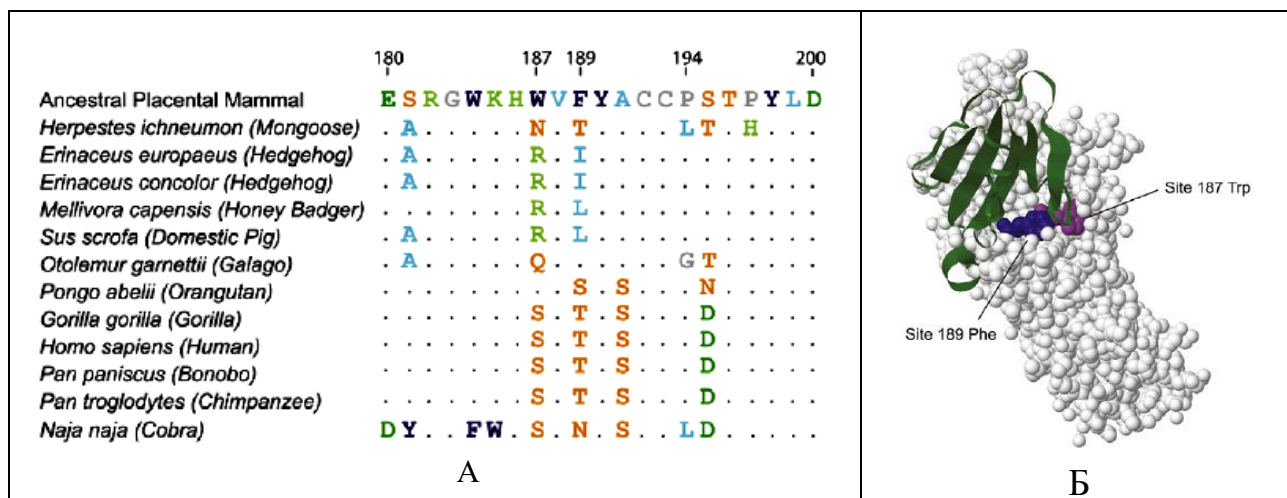
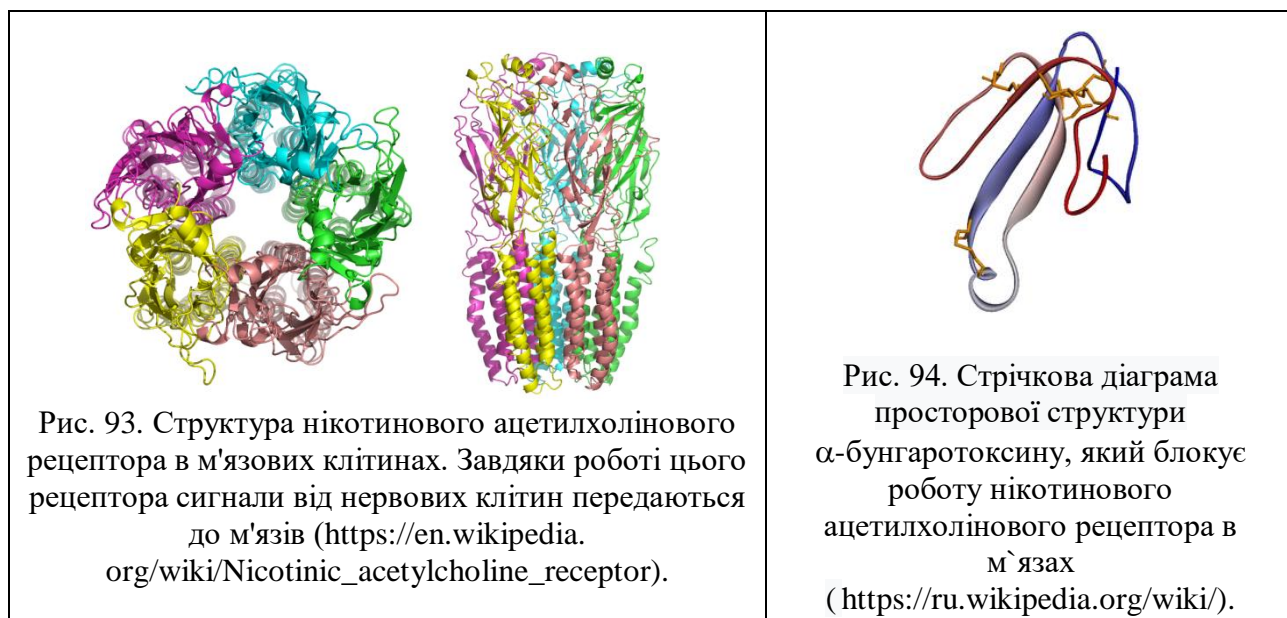


Рис. 95. (А) – Ділянка нікотинного ацетилхолінового рецептора (nAChR), яка зв'язується з α -бунгаротоксином аспідових змій для 11 видів ссавців і кобри. У ссавців мутація стійкості до отрути торкнулася ділянок 187 і 189, тоді як у кобри - ділянок 181, 184-185. (Б) -

Молекулярна модель субодиниці $\alpha 1$ нікотинового ацетилхолінового рецептора показує зв'язування рецептора з α -бунгаротоксином (зелена стрічка на схемі). Структура ділянок 187 і 189 показана для стародавнього для плацентарних ссавців положення амінокислот (Drabeck et al., 2015).

Ген токсину, який захищає мушок дрозофіл від паразитоїдних ос, був перенесений в геном мушок горизонтально від бактерій. Verster K.I. з колегами (2019) було виявлено горизонтальне перенесення гену цитолетального токсину В (cytolethal distending toxin B, cdtB) від бактерій в геном мушок дрозофіл (*Diptera: Drosophilidae*) і попелиць (*Hemiptera: Aphididae*). Цей бактеріальний токсин є ДНК-азой еукаріотичної ДНК і входить до складу токсинів багатьох патогенних бактерій (*Shigella dysenteriae*, *Haemophilus ducreyi* та ін.).

Verster K.I. з колегами (2019) встановили, що ген cdtB інтенсивно експресується у мушок дрозофіл на личинковій стадії, яка, як правило, є мішенню нападу паразитоїдних ос. Білок, який кодується цим геном, має ДНК-азну активність проти яєць і личинок паразитоїдних ос. Зокрема, завдяки присутності цього гена, мушки *Drosophyla ananassae* і *Drosophyla biarmipes* виживають після атак паразитоїдних ос-генералістів *Leptopilina heterotoma* і паразитоїдних ос-спеціалістів *Leptopilina boulardi*.

Було показано, що ген cdtB був одомашений різними комахами і виконує в їх організмі функцію захисту від нападу паразитоїдних ос. Вважають, що горизонтальне перенесення копії гена cdtB відбувалося багаторазово в геноми різних ліній комах і виявилось корисним для їх виживання (Verster et al., 2019).



Рис. 96. У геномі дрозофілідної мушки *Scaptomyza flava* Verster K.I. з колегами (2019) була виявлена копія бактеріального гена cdtB, що кодує цитолетальний токсин В (<https://nzacfactsheets.landcareresearch.co.nz/factsheet/InterestingInsects/Turnip-leafminer---Scaptomyza-flava.html>).



Рис. 97. Паразитоїдна оса *Leptopilina heterotoma* відкладає свої яйця в личинки комах (<https://www.google.com.ua/search?q=Leptopilina+heterotoma>).



Рис. 98. Мушки дрозофіли ананасні (*Drosophila ananassae*) є стійкими до атак паразитоїдних ос завдяки наявності у них бактеріального гена токсину cdtB (<http://www.drosophila.jp/jdd/sp/content/0205060600020501.html>).



Рис. 99. Бактерії шигели дизентерійні (*Shigella dysenteriae*) продукують цитолетальний токсин В для нападу на господаря ([https://www.google.com.ua/search?q= Shigella+dysenteriae](https://www.google.com.ua/search?q=Shigella+dysenteriae)).

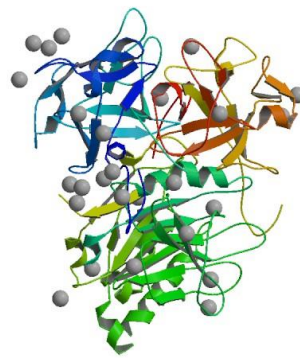


Рис. 100. Структура цитолетального токсину В (cdtB) (https://en.wikipedia.org/wiki/Cytotoxic_distending_toxin).

Бактеріальний ген, горизонтально перенесений в геном членистоногих, захищає їх від ціанотоксинів рослин. Ціаногенні глікозиди є найбільш поширеними хімічними речовинами, які синтезують рослини для самозахисту від обгризання. При пошкодженні тканин рослини - ці глікозиди гідролізуються ферментами клітин до активного гідроксинітрилу, який виділяє токсичний ціановодень. *NB! Ціановодень є токсином, який в клітинах пригнічує мітохондріальний респіраторний ланцюг і пошкоджує багато метаболічних шляхів.

Однак, багато видів кліщів і лускокрилих спроможні харчуватися рослинами, захищеними ціаногенними глікозидами. Проведені дослідження показали, що в ході гонки озброєнь між рослинами і рослиноїдними тваринами - деякі лускокрилі навчилися секвеструвати з'їдені ціаногенні глікозиди і використовувати їх вже для власного самозахисту від нападу хижаків. Більше того, деякі молі (*Zygaenidae*) не тільки секвеструють, але також і *de novo* синтезують ці речовини за рахунок конвергентної еволюції даного біосинтетичного шляху. Це їх захищає від поїдання птахами.

Окрім секвестрації, рослиноїдні тварини повинні були навчитися детоксикувати ціановодень. Виявилось, що у членистоногих, які здатні харчуватися ціаногенними рослинами, є фермент, здатний забезпечити детоксикацію ціановодню до бета-ціаноаланіну. Однак, фермент, який здійснює цю конверсію у членистоногих, тривалий час був невідомий.

Wybouw N. з колегами (2014) вперше ідентифікували фермент детоксикації ціановодню у павутинних кліщів (*Tetranychus urticae*) і показали, що ген цього ферменту в геномі кліща має бактеріальне походження: копія гена була горизонтально перенесена від бактерій до предків кліщів кілька сотень мільйонів років тому. Еквівалентний ген був також знайдений в геномі молей і метеликів, що дозволяє пояснити їх успішне виживання і харчування на ціаногенних рослинах (Wybouw et al., 2014).

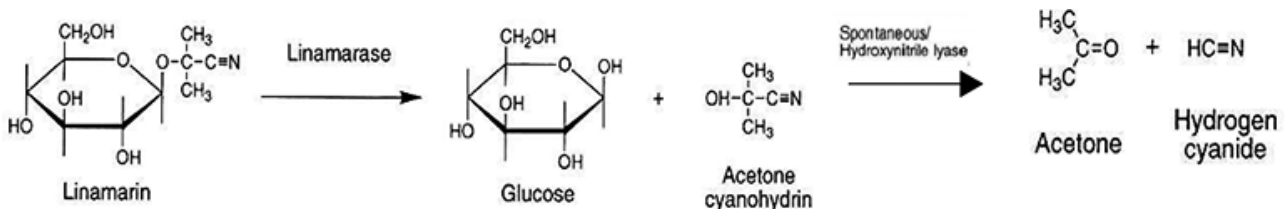


Рис. 101. Накопичення в клітинах ціаногенних глікозидів захищає рослини від обгризання рослиноїдними тваринами. На схемі показано розщеплення ціаногенного глікозиду лінамарину клітинним ферментом лінамаразой з утворенням токсичного ціановодню при пошкодженні рослин тваринами (<https://www.intechopen.com/books/toxicology-new-aspects-to-this-scientific-conundrum/a-review-of-cyanogenic-glycosides-in-edible-plants>).



Рис. 102. Павутинні кліщі (*Tetranychus urticae*) (<https://www.google.com.ua/search?q=Tetranychus+urticae>). В геномі павутинних кліщів Wuyou W. з колегами (2014) було виявлено ген, який забезпечує детоксикацію ціановодню, і показано бактеріальне походження цього гена.

Гени біосинтезу саксітоксину були горизонтально перенесені від ціанобактерій до давніх динофлагелят. Багато видів морських найпростіших динофлагелят синтезують нейротоксичний алкалоїд - саксітоксин. Під час масового розмноження динофлагелят - накопичення цієї отрути відбувається в морських моллюсках, що призводить надалі до отруєння людей. Крім динофлагелят - деякі прісноводні види ціанобактерій також синтезують саксітоксин.

Дослідження, проведені Orr R.J. з колегами (2013), показали, що гени біосинтезу саксітоксину були горизонтально перенесені від ціанобактерій до динофлагелят. Авторами роботи було встановлено, що синтез саксітоксину з'явився спочатку у ціанобактерій. Потім гени *sxtA*, *sxtG* і *sxtB*, задіяні в біосинтезі саксітоксину, були горизонтально перенесені динофлагелятам в ході масованого перенесення генів.

Давня група динофлагелят, предкова для родів *Alexandrium* і *Pyrodinium*, не тільки отримала ці гени від бактерій, але також задіяла додаткові гени від інших прокариотів. Згодом, гени біосинтезу саксітоксину були модифіковані і придбали еукаріотичну структуру. Крім того, багато генів-гомолів були або втрачені, або заміщені іншими генами.

В ході еволюції цей біосинтетичний шлях був вдруге втрачений в деяких лініях динофлагелят, а також - перенесений в *G. catenatum* через механізм горизонтального перенесення генів між динофлагелятами. У межах роду *Alexandrium* гени і домени цього біосинтетичного шляху були перетасовані з втратою доменів *sxtA* і *A4y* багатьох видів цього роду (Orr et al., 2013).

Контрольні питання:

1. Екологічна роль отрут, які синтезують живі організми.
2. Механізми дії отрут різних типів на клітини живих організмів.
3. Механізми самозахисту організмів від отруйних речовин.
4. Вплив діяльності людини на динаміку отруйних речовин в природних екосистемах.

Література:

- Bucciarelli G.M., Shaffer H.B., Green D.B., Kats L.B. An amphibian chemical defense phenotype is inducible across life history stages // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7(1):8185. doi: 10.1038/s41598-017-08154-z.
- Chau R., Kalaitzis J.A., Neilan B.A. On the origins and biosynthesis of tetrodotoxin // *Aquat. Toxicol.* – 2011. – Vol. 104(1-2). – P. 61 - 72. doi: 10.1016/j.aquatox.2011.04.001.
- Cheng F., Cheng Z., Meng H., Tang X. The Garlic Allelochemical Diallyl Disulfide Affects Tomato Root Growth by Influencing Cell Division, Phytohormone Balance and Expansin Gene Expression // *Front. Plant. Sci.* – 2016. – Vol. 7:1199. doi: 10.3389/fpls.2016.01199.
- Coelho E.M.P., Barbosa M.C., Mito M.S., Mantovanelli G.C., Oliveira R.S.Jr., Ishii-Iwamoto E.L. The Activity of the Antioxidant Defense System of the Weed Species *Senna obtusifolia* L. and its Resistance to Allelochemical Stress // *J. Chem. Ecol.* – 2017. – Vol. 43(7). – P. 725 - 738. doi: 10.1007/s10886-017-0865-5.

- Dao T.S., Vo T.M., Wiegand C., Bui B.T., Dinh K.V. Transgenerational effects of cyanobacterial toxins on a tropical micro-crustacean *Daphnia lumholtzi* across three generations // Environ. Pollut. – 2018. – Vol. 243(Pt B). – P. 791 - 799. doi: 10.1016/j.envpol.2018.09.055.
- Darst C.R., Menendez-Guerrero P.A., Coloma L.A., Cannatella D.C. Evolution of dietary specialization and chemical defense in poison frogs (*Dendrobatidae*): a comparative analysis // Am. Nat. – 2005. – Vol. 165(1). – P. 56 - 69.
- Doll K., Chatterjee S., Scheu S., Karlovsky P., Rohlf M. Fungal metabolic plasticity and sexual development mediate induced resistance to arthropod fungivory // Proc. Biol. Sci. – 2013. – Vol. 280(1771):20131219. doi: 10.1098/rspb.2013.1219.
- Drabeck D.H., Dean A.M., Jansa S.A. Why the honey badger don't care: Convergent evolution of venom-targeted nicotinic acetylcholine receptors in mammals that survive venomous snake bites // Toxicon. – 2015. – Vol. 99. – P. 68 - 72. doi: 10.1016/j.toxicon.2015.03.007.
- Drott M.T., Lazzaro B.P., Brown D.L., Carbone I., Milgroom M.G. Balancing selection for aflatoxin in *Aspergillus flavus* is maintained through interference competition with, and fungivory by insects // Proc. Biol. Sci. – 2017. – Vol. 284(1869). pii: 20172408. doi: 10.1098/rspb.2017.2408.
- Dumbacher J.P., Spande T.F., Daly J.W. Batrachotoxin alkaloids from passerine birds: a second toxic bird genus (*Ifrita kowaldi*) from New Guinea // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – Vol. 97(24). – P. 12970 - 12975.
- Erceg S., Mateo E.M., Zipancic I., Rodriguez Jimenez F.J., Perez Arago M.A., et al. Assessment of Toxic Effects of Ochratoxin A in Human Embryonic Stem Cells // Toxins (Basel). – 2019. – Vol. 11(4). pii: E217. doi: 10.3390/toxins11040217.
- Feng P., Shang Y., Cen K., Wang C. Fungal biosynthesis of the bibenzoquinone oosporein to evade insect immunity // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2015. – Vol. 112(36). – P. 11365 - 11370. doi: 10.1073/pnas.1503200112.
- Gleibs S., Mebs D., Werding B. Studies on the origin and distribution of palytoxin in a Caribbean coral reef // Toxicon. – 1995. – Vol. 33(11). – P. 1531 - 1537.
- Hu Y., Li J., Yang L., Nan W., Cao X., Bi Y. Inhibition of root growth by narciclasine is caused by DNA damage-induced cell cycle arrest in lettuce seedlings // Protoplasma. – 2014. – Vol. 251(5). – P. 1113 - 1124. doi: 10.1007/s00709-014-0619-y.
- Johnson P.T.J., Calhoun D.M., Stokes A.N., Susbilla C.B., McDevitt-Galles T. et al. Of poisons and parasites-the defensive role of tetrodotoxin against infections in newts // J. Anim. Ecol. – 2018. – Vol. 87(4). – P. 1192 - 1204. doi: 10.1111/1365-2656.12816.
- Kato-Noguchi H., Nakamura K., Ohno O., Suenaga K., Okuda N. Asparagus decline: Autotoxicity and autotoxic compounds in asparagus rhizomes // J. Plant Physiol. – 2017. – Vol. 213. – P. 23 - 29. doi: 10.1016/j.jplph.2017.02.011.
- Kato-Noguchi H., Saito Y., Ohno O., Suenaga K. Allelopathy is involved in the formation of pure colonies of the fern *Gleichenia japonica* // J. Plant Physiol. – 2013. – Vol. 170(6). – P. 577 - 582. doi: 10.1016/j.jplph.2012.11.015.
- Kato-Noguchi H., Seki T. Allelopathy of the moss *Rhynchostegium pallidifolium* and 3-hydroxy- β -ionone // Plant Signal Behav. – 2010. – Vol. 5(6). – P. 702 - 704.
- Knowles S.L., Raja H.A., Wright A.J., Lee A.M.L., Caesar L.K., et al. Mapping the Fungal Battlefield: Using *in situ* Chemistry and Deletion Mutants to Monitor Interspecific Chemical Interactions Between Fungi // Front. Microbiol. – 2019. – Vol. 10:285. doi: 10.3389/fmicb.2019.00285.
- Kovac T., Sarkanj B., Crevar B., Kovac M., Loncaric A., et al. *Aspergillus flavus* NRRL 3251 Growth, Oxidative Status, and Aflatoxins Production Ability *In Vitro* under Different Illumination Regimes // Toxins (Basel). – 2018. – Vol. 10(12). pii: E528. doi: 10.3390/toxins10120528.
- Lackner G., Partida-Martinez L.P., Hertweck C. Endofungal bacteria as producers of mycotoxins // Trends Microbiol. – 2009. – Vol. 17(12). – P. 570 - 576. doi: 10.1016/j.tim.2009.09.003.
- Li F., Ma K.S., Liang P.Z., Chen X.W., Liu Y., Gao X.W. Transcriptional responses of detoxification genes to four plant allelochemicals in *Aphis gossypii* // J. Econ. Entomol. – 2017. – Vol. 110(2). – P. 624 - 631. doi: 10.1093/jee/tow322.
- Magarlamov T.Y., Melnikova D.I., Chernyshev A.V. Tetrodotoxin-Producing Bacteria: Detection, Distribution and Migration of the Toxin in Aquatic Systems // Toxins (Basel). – 2017. – Vol. 17;9(5). pii: E166. doi: 10.3390/toxins9050166.
- Masuda D., Ishida M., Yamaguchi K., Yamaguchi I., Kimura M., Nishiuchi T. Phytotoxic effects of trichothecenes on the growth and morphology of *Arabidopsis thaliana* // J. Exp. Bot. – 2007. – Vol. 58(7). – P. 1617 - 1626.
- McElhiney J., Lawton L.A., Leifert C. Investigations into the inhibitory effects of microcystins on plant growth, and the toxicity of plant tissues following exposure // Toxicon. – 2001. – Vol. 39(9). – P. 1411 - 1420.

- Mitchell C.L., Yeager R.D., Johnson Z.J., D'Annunzio S.E., Vogel K.R., Werner T. Long-Term Resistance of *Drosophila melanogaster* to the Mushroom Toxin Alpha-Amanitin // PLoS One. – 2015. – Vol. 10(5):e0127569. doi: 10.1371/journal.pone.0127569.
- Morrow K.M., Bromhall K., Motti C.A., Munn C.B., Bourne D.G. Allelochemicals Produced by Brown Macroalgae of the Lobophora Genus Are Active against Coral Larvae and Associated Bacteria, Supporting Pathogenic Shifts to Vibrio Dominance // Appl. Environ. Microbiol. – 2016. – Vol. 83(1). pii: e02391-16.
- Murrell C., Gerber E., Krebs C., Parepa M., Schaffner U., Bossdorf O. Invasive knotweed affects native plants through allelopathy // Am. J. Bot. – 2011. – Vol. 98(1). – P. 38 - 43. doi: 10.3732/ajb.1000135.
- Orr R.J., Stüken A., Murray S.A., Jakobsen K.S. Evolution and distribution of saxitoxin biosynthesis in dinoflagellates // Mar. Drugs. – 2013. – Vol. 11(8). – P. 2814 - 2828. doi: 10.3390/md11082814.
- Panevska A., Hodnik V., Skocaj M., Novak M., Modic S., et al. Pore-forming protein complexes from Pleurotus mushrooms kill western corn rootworm and Colorado potato beetle through targeting membrane ceramide phosphoethanolamine // Sci. Rep. – 2019. – Vol. 9(1):5073. doi: 10.1038/s41598-019-41450-4.
- Ren X., He X., Zhang Z., Yan Z., Jin H., Li X., Qin B. Isolation, Identification, and Autotoxicity Effect of Allelochemicals from Rhizosphere Soils of Flue-Cured Tobacco // J. Agric. Food Chem. – 2015. – Vol. 63(41). – P. 8975 - 8980. doi: 10.1021/acs.jafc.5b03086.
- Reynolds H.T., Vijayakumar V., Gluck-Thaler E., Korotkin H.B., Matheny P.B., Slot J.C. Horizontal gene cluster transfer increased hallucinogenic mushroom diversity // Evol. Lett. – 2018. – Vol. 2(2). – P. 88 - 101. doi: 10.1002/evl3.42.
- Rimando A.M., Dayan F.E., Mikell J.R., Moraes R.M. Phytotoxic lignans of *Leucophyllum frutescens* // Nat. Toxins. – 1999. – Vol. 7(1). – P. 39 - 43.
- Robert C.A., Zhang X., Machado R.A., Schirmer S., Lori M., et al. Sequestration and activation of plant toxins protect the western corn rootworm from enemies at multiple trophic levels // Elife. – 2017. – Vol. 6. pii: e29307. doi: 10.7554/eLife.29307.
- Sanchez K.F., Huntley N., Duffy M.A., Hunter M.D. Toxins or medicines? Phytoplankton diets mediate host and parasite fitness in a freshwater system // Proc. Biol. Sci. – 2019. – Vol. 286(1894):20182231. doi: 10.1098/rspb.2018.2231.
- Selander E., Thor P., Toth G., Pavia H. Copepods induce paralytic shellfish toxin production in marine dinoflagellates // Proc. Biol. Sci. – 2006. – Vol. 273(1594). – P. 1673 - 1680.
- Setia N., Batish D.R., Singh H.P., Kohli R.K. Phytotoxicity of volatile oil from *Eucalyptus citriodora* against some weedy species // J. Environ. Biol. – 2007. – Vol. 28(1). – P. 63 - 66.
- Solanki M.K., Abdelfattah A., Britzi M., Zakin V., Wisniewski M., Droby S., Sionov E. Shifts in the Composition of the Microbiota of Stored Wheat Grains in Response to Fumigation // Front Microbiol. – 2019. – Vol. 10:1098. doi: 10.3389/fmicb.2019.01098.
- Soltys D., Rudzińska-Langwald A., Kurek W., Szajko K., Sliwinska E., et al. Phytotoxic cyanamide affects maize (*Zea mays*) root growth and root tip function: from structure to gene expression // J. Plant Physiol. – 2014. – Vol. 171(8). – P. 565 - 575. doi: 10.1016/j.jplph.2014.01.004.
- Song Y.Y., Huang K., Shi M.B., Chen M., Zeng R.S. Allelopathic effects of *Streptomyces* sp. 6803 on plants // Ying Yong Sheng Tai Xue Bao. – 2012. – Vol. 23(10). – P. 2728 - 2736.
- Soudzilovskaia N.A., Graae B.J., Douma J.C., Grau O., Milbau A., et al. How do bryophytes govern generative recruitment of vascular plants? // New Phytol. – 2011. – Vol. 190(4). – P. 1019 - 1031. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03644.x.
- Steppuhn A., Gase K., Krock B., Halitschke R., Baldwin I.T. Nicotine's defensive function in nature // PLoS Biol. – 2004. – Vol. 2(8):E217.
- Tseng M.H., Chou C.H., Chen Y.M., Kuo Y.H. Allelopathic prenylflavanones from the fallen leaves of *Macaranga tanarius* // J. Nat. Prod. – 2001. – Vol. 64(6). – P. 827 - 828.
- Uddin M.N., Robinson R.W. Allelopathy and resource competition: the effects of *Phragmites australis* invasion in plant communities // Bot. Stud. – 2017. – Vol. 58(1):29. doi: 10.1186/s40529-017-0183-9.
- Uddin M.N., Robinson R.W., Caridi D., Al Harun M.A. Suppression of native *Melaleuca ericifolia* by the invasive *Phragmites australis* through allelopathic root exudates // Am. J. Bot. – 2014. – Vol. 101(3). – P. 479 - 487. doi: 10.3732/ajb.1400021.
- Uesugi A., Kessler A. Herbivore exclusion drives the evolution of plant competitiveness via increased allelopathy // New Phytol. – 2013. – Vol. 198(3). – P. 916 - 924. doi: 10.1111/nph.12172.
- Verster K.I., Wisecaver J.H., Karageorgi M., Duncan R.P., Gloss A.D., et al. Horizontal transfer of bacterial cytolethal distending toxin B genes to insects // Mol. Biol. Evol. – 2019. Jun 25. pii: msz146. doi: 10.1093/molbev/msz146.

- Wang H., Zhou Y., Chen Y., Wang Q., Jiang L., Luo Y. Allelopathic Potential of Invasive *Plantago virginica* on Four Lawn Species // PLoS One. – 2015. – Vol. 10(4):e0125433. doi: 10.1371/journal.pone.0125433.
- Wang J., Wang Z., Ju Z., Wan J., Liao S., et al. Cytotoxic cytochalasins from marine-derived fungus *Arthrinium arundinis* // Planta Med. – 2015. – Vol. 81(2). – P. 160 - 166. doi: 10.1055/s-0034-1383403.
- Wang S.Y., Wang G.K. Single rat muscle Na⁺ channel mutation confers batrachotoxin autoresistance found in poison-dart frog *Phyllobates terribilis* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2017. – Vol. 114(39). – P. 10491-10496. doi: 10.1073/pnas.1707873114.
- Wang X.F., Hassani D., Cheng Z.W., Wang C.Y., Wu J. Allelopathy of the invasive plant *Bidens frondosa* on the seed germination of *Geum japonicum* var. *chinense* // Genet. Mol. Res. – 2014. – Vol. 13(4). – P. 10592 - 10598. doi: 10.4238/2014.
- Wei H., Xu Y.M., Espinosa-Artiles P., Liu M.X., Luo J.G., et al. Sesquiterpenes and other constituents of *Xylaria* sp. NC1214, a fungal endophyte of the moss *Hypnum* sp. // Phytochemistry. – 2015. – Vol. 118. – P. 102 - 108. doi: 10.1016/j.phytochem.2015.08.010.
- Weston L.A., Alsaadawi I.S., Baerson S.R. Sorghum allelopathy - from ecosystem to molecule // J. Chem. Ecol. – 2013. – Vol. 39(2). – P. 142 - 153. doi: 10.1007/s10886-013-0245-8.
- Wu F.Z., Li M., Cao P., Ma Y.F., Wang L.L. Effects of wheat root exudates on cucumber growth and soil fungal community structure // Ying Yong Sheng Tai Xue Bao. – 2014. – Vol. 25(10). – P. 2861 - 2867.
- Whitelaw B.L., Cooke I.R., Finn J., Zenger K., Strugnell J.M. The evolution and origin of tetrodotoxin acquisition in the blue-ringed octopus (genus *Hapalochlaena*) // Aquat. Toxicol. – 2019. – Vol. 206. – P. 114 - 122. doi: 10.1016/j.aquatox.2018.10.012.
- Wybouw N., Dermauw W., Tirry L., Stevens C., Grbic M., et al. A gene horizontally transferred from bacteria protects arthropods from host plant cyanide poisoning // Elife. – 2014. – Vol. 3:e02365. doi: 10.7554/eLife.02365.
- Yang H., Peng Y., Tian J., Wang J., Hu J., Song Q., Wang Z. Review: biosafety assessment of Bt rice and other Bt crops using spiders as example for non-target arthropods in China // Plant Cell Rep. – 2017. – Vol. 36(4). – P. 505 - 517. doi: 10.1007/s00299-017-2108-1.
- Zhuang W.W., Serpe M., Zhang Y.M. The effect of lichen-dominated biological soil crusts on growth and physiological characteristics of three plant species in a temperate desert of northwest China // Plant Biol. (Stuttg). – 2015. – Vol.17(6). – P. 1165 - 1175. doi: 10.1111/plb.12359.

Відомості про авторів

Кундельчук Оксана Петрівна, кандидат біологічних наук, доцент кафедри екології та географії Херсонського державного університету. Працює на кафедрі екології та географії з 2005 року. Викладає наступні дисципліни: «Загальна екологія (та неоекологія)», «Палеоекологія», «Теорія еволюції». Сфера наукових інтересів: молекулярні основи екологічних адаптацій сучасних організмів, закономірності еволюційних процесів в історії розвитку життя на Землі.

Акімова Марія Олександрівна, асистент кафедри екології та географії Херсонського державного університету. Працює на кафедрі екології та географії з 2014 року. Викладає наступні дисципліни: «Загальна екологія (та неоекологія)», «Екологічна геоморфологія», «Основи безпеки життєдіяльності». Сфера наукових інтересів: екологія, берегові процеси Чорного моря.

Навчально-методичне видання

**Оксана Петрівна Кундельчук
Марія Олександрівна Акімова**

**ЗАГАЛЬНА ЕКОЛОГІЯ
(ТА НЕОЕКОЛОГІЯ):**

*Навчально-методичний посібник
до практичних та семінарських занять
для студентів галузі знань
10 Природничі науки, спеціальності 101 Екологія*

ISBN 978-617-7783-18-2

Підписано до друку 13.09.2019 р. Формат 60x84/8.

Папір офсетний. Наклад 300 прим.

Гарнітура Times New Roman. Друк різнографія.

Ум. друк. арк. 44,44. Обл.-вид. арк.. 44,88.

Замовлення № 1258.

Книжкове видавництво ФОП Вишемирський В.С.

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру
суб'єктів видавничої справи: серія ХС № 48 від 14.04.2005 р.

видано Управлінням у справах преси та інформації.

Адреса: 73 000, Україна, м. Херсон, вул. Соборна, 2,

тел. (050) 133–10–13, e-mail: printvvs@gmail.com, vish_sveta@rambler.ru