

УДК 639.3:619:616.99

Стан ліпідів та ензимів антиоксидантної системи у гепатопанкреасі коропових риб за моногенноїдозів



О.Федорович, канд. вет. наук,
Львівський національний університет
ветеринарної медицини та біотехнологій
ім. С. З. Гжицького

Анотація. Досліджено рівень продуктів ПОЛ і активності ензимів антиоксидантного захисту в організмі білого амура, товстолобика та коропа за умов інвазії моногеніями. За ураження однорічок коропових риб ектопаразитами вміст продуктів ПОЛ у їх гепатопанкреасі був значно вищим, ніж у неінвазованих риб: вміст ТБК-продуктів – на 3,71-4,49 нмоль/мг білка ($p < 0,001$), дієнових кон'югатів – на 0,41-0,76 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) та гідропероксидів – на 1,15-1,84 од. опт. густ./г ($p < 0,05-0,001$). У той же час, активність ензимів АОС у гепатопанкреасі інвазованих риб знижувалася: супероксиддисмутази – на 23,4-29,6 ($p < 0,001$), каталази – на 3,8-14,4 та глутатіонпероксидази – на 13,7-23,7 %.

Ключові слова: коропові риби, моногенноїдоза, ТБК-продукти, дієнові кон'югати, гідропероксидази, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза.

Levels of products of peroxide lipid oxidation and activity of enzymes of antioxidant system in hepatopancreas of carp-fish under the action of monogenoidosis. OLEKSANDR V. FEDOROVYCH (Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z.Gzhytsky, Lviv)

Abstract. The level of lipid oxidation products (LOPs) and the activity of enzymes of antioxidant defense in the organism of white amur, silver carp and carp in the conditions of monogeneous invasion were investigated. The same year carp fish under the action of ectoparasites, the content of LOPs in their hepatopancreas was significantly higher than in uninvaded fish: the content of TBA-products was 3.71-4.49 nmol / mg protein ($p < 0.001$), diene conjugates – 0.41-0.76 nmol / mg protein ($p < 0.001$) and hydroperoxides – 1.15-1.84 units.opt.sol./g ($p < 0,05-0,001$). At the same time, the activity of enzymes AOS in hepatopancreas of invasive fishes decreased: superoxide dis-

mutase – by 23.4-29.6 ($p < 0.001$), catalase – by 3.8-14.4 and glutathione peroxidase – by 13.7-23, 7%.

Key words: carp fish, monogenoidoses, TBA-products, diene conjugates, hydroperoxides, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase.

Процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і стан антиоксидантної системи є інформативними показниками для оцінки ступеня впливу токсикантів на організм, які можуть бути використані у розробці програм біомоніторингу. Активація ПОЛ розглядається як універсальна відповідь живої системи на дію екстремальних чинників. У будь-якому організмі за нормальних умов інтенсивність ПОЛ підтримується на певному стаціонарному рівні, що забезпечується системою антиоксидантного захисту, до якої належать антиоксидантні ферменти і низькомолекулярні сполуки [9].

Наявні в літературі дані свідчать, що у риб, як і в теплокровних тварин, розвиток багатьох захворювань супроводжується посиленням пероксидного окиснення ліпідів і порушенням функціональної активності системи антиоксидантного захисту організму [4, 15]. Антиоксидантна система забезпечує адаптаційну стійкість організму в цілому та регулює реакції ПОЛ завдяки функціонуванню системи ферментативних і неферментативних механізмів контролю за вмістом активних форм кисню, вільних радикалів та продуктів пероксидації ліпідів. Її порушення призводить до розвитку в риб різноманітних патологій, обумовлених окисненням у ліпідах клітин поліненасичених жирних кислот активними формами кисню [5, 11]. У літературі майже відсутні дані щодо змін ферментативної ланки антиоксидантної системи у коропових риб за дії ектопаразитів.

Рецензенти:

доктор вет. наук, професор О. І. Віщур,
Інститут біології тварин НААН;
доктор вет. наук, Н. З. Огородник,
Львівський національний аграрний університет.



З огляду на це, дослідження рівня продуктів ПОЛ і активності ензимів антиоксидантного захисту в організмі білого амура, товстолобика та коропа за умов інвазії моногеніями є актуальними.

Дослідження проведені на однорічках білого амура, товстолобика та коропа лускатого у садково-рибних господарствах ДП «Рибгосп «Галицький» Івано-Франківської області та ФГ «Добротвірський рибзавод» Львівської області. Для проведення експериментальних досліджень було відібрано по чотири групи однорічок білого амура (контрольна – неінвазовані риби, дослідна 1 – інвазовані *Dactylogyrus lamellatus*, дослідна 2 – інвазовані

Gyrodactylus stenopharyngodonis, дослідна 3 – інвазовані *Dactylogyrus lamellatus* і *Gyrodactylus stenopharyngodonis*) та товстолобика (контрольна – неінвазовані риби, дослідна 1 – інвазовані *Dactylogyrus hypophthalmichtidis*, дослідна 2 – інвазовані *Gyrodactylus hypophthalmichtidis*, дослідна 3 – інвазовані *Dactylogyrus hypophthalmichtidis* і *Gyrodactylus hypophthalmichtidis*) і дві групи однорічок коропа лускатого

(контрольна – неінвазовані риби і дослідна – інвазовані *Eudiplozoon pirropicum*). У кожну групу було відібрано по 6 одиниць риб масою тіла 45–47 г.

Паразитологічне дослідження риби проводили методом неповного паразитологічного розтину за И. Е. Быховской-Павловской [2] та К. В. Секретарюком [13]. Видову належність паразитів визначали за «Определителем паразитов пресноводных рыб фауны СССР» [12].

Рівень продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активність ферментів антиоксидантної системи (АОС) риб визначали в гепатопанкреасі. Відібрані зразки тканин заморожували в рідкому азоті. Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за вмістом у гепатопанкреасі ТБК-активних продуктів за методом Е. Н. Коробейникова [6], дієнових кон'югатів – за методом И. Д. Стальной [14] та гідропероксидів ліпідів – за методом В. В. Мирончика [1]. Антиоксидантні властивості досліджуваної тканини визначали за активністю супероксиддисмутази (СОД) [3], каталази [7] та глутатіонпероксидази [10].

Одержані дані наукових досліджень обробляли методом варіаційної статистики за Г.Ф. Лакиным [8] з використанням комп'ютерних програм «Excel» та «Statistica 6.1». Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,001$ (***)

Результати досліджень

Встановлено, що у гепатопанкреасі однорічок білого амура, які були інвазовані *Dactylogyrus lamellatus* і *Gyrodactylus stenopharyngodonis*, вміст ТБК-продуктів та дієнових кон'югатів був вірогідно більший, ніж у риб контрольної групи (табл. 1). Зокрема, у риб першої дослідної групи, які були інвазовані *Dactylogyrus lamellatus*, порівняно з контролем рівень ТБК-активних

Таблиця 1

Рівень продуктів ПОЛ та активність ферментів АОС у гепатопанкреасі однорічок білого амура, і інвазованих *Dactylogyrus lamellatus* і *Gyrodactylus stenopharyngodonis*, $M \pm m$ (n=6)

Показник	Група риб			
	контрольна	перша дослідна	друга дослідна	третя дослідна
ТБК-продукти, нмоль/мг білка	5,51±0,387	9,54±0,036***	9,63±0,024***	9,81±0,026***
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	1,76±0,013	2,35±0,033***	2,41±0,030***	2,52±0,023***
Гідропероксидази, од. опт. густ. /г	2,40±0,150	3,61±0,302**	3,55±0,365*	4,24±0,445**
Супероксиддисмутаза, у.о./ мг білка	5,31±0,016	3,91±0,022***	3,85±0,025***	3,74±0,024***
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ / мг білка за хв*10 ⁻⁵	1,66±0,018	1,58±0,031*	1,54±0,020**	1,42±0,038***
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH /мг білка за хв	3,38±0,223	2,86±0,240	2,90±0,209	2,58±0,161*

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – порівняно з контрольною групою.

продуктів у гепатопанкреасі зріс на 4,03 нмоль/мг білка ($p < 0,001$). У риб другої дослідної групи, які були інвазовані

Gyrodactylus ctenopharyngodonis, даний показник був більшим на 4,12 нмоль/мг білка ($p < 0,001$), а у третьої дослідної групи – на 4,30 нмоль/мг білка ($p < 0,001$).

Отже, найвищим рівнем ТБК-активних продуктів у гепатопанкреасі характеризувалися риби третьої дослідної групи, де порівняно із контролем цей показник зріс на 78 %.

Іншим важливим показником, за яким можна характеризувати інтенсивність ПОЛ є вторинні продукти, а саме, дієнові кон'югати. За умов інвазованості риб *Dactylogyrus lamellatus* і *Gyrodactylus ctenopharyngodonis*, встановлено збільшення рівня вторинних продуктів ПОЛ у гепатопанкреасі першої дослідної групи порівняно з контролем на 0,59 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) або на 34 %, другої – на 0,65 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) або на 37 % і третьої – на 0,76 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) або на 43 %.

За вмістом гідропероксидів ліпідів, які утворюються на проміжних стадіях пероксидного окиснення поліненасичених жирних кислот у досліджуваній тканині незаражених і заражених моногеніями однорічок білого амура, різниця була більш вираженою, ніж за вмістом дієнових кон'югатів. Так, вміст гідропероксидів ліпідів у гепатопанкреасі риб першої, другої та третьої дослідних груп порівняно з контролем був вищим відповідно на 1,21 ($p < 0,01$); 1,15 ($p < 0,05$) та 1,84 од. опт. густ. /г ($p < 0,01$) або на 50,4; 47,9 та 76,7 %.

Слід зазначити, що між однорічками білого амура, інвазованими різними ектопаразитами за показниками ПОЛ також спостерігалася різниця, проте достовірною вона була лише між рибою першої та третьої і другої та третьої дослідних груп за вмістом ТБК-продуктів у гепатопанкреасі – відповідно 0,27 ($p < 0,001$) та 0,18 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) і дієнових кон'югатів – 0,17 ($p < 0,01$) та 0,11 нмоль/мг білка ($p < 0,05$) на користь риб третьої дослідної групи.

Таким чином, при інвазованості риб *Dactylogyrus lamellatus* і *Gyrodactylus ctenopharyngodonis*, посилюються процеси ПОЛ, на що вказує збільшення вмісту продуктів ПОЛ у гепатопанкреасі риб, що активують вільнорадикальні реакції.

Важливе значення при дослідженні антиоксидантної системи має визначення активності ферменту супероксиддисмутази (СОД), яка є ключовим ферментом антирадикального захисту та яка дисмутує супер-

оксидрадикал до менш токсичного пероксиду водню. Активність супероксиддисмутази детермінується інтенсивністю радикалоутворення і залежить від рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів у клітині. Супероксиддисмутазна активність у гепатопанкреасі риб контрольної групи становила 5,31 у.о./мг білка. За інвазованості однорічок білого амура *Dactylogyrus lamellatus* і *Gyrodactylus ctenopharyngodonis* активність вказаного ензиму у гепатопанкреасі риб знижувалася. В особин першої дослідної групи порівняно з контрольною цей показник знизився на 1,40 у.о./мг білка ($p < 0,001$) або на 26 %, другої – на 1,46 у.о./мг білка ($p < 0,001$) або на 27 % і третьої – на 1,57 у.о./мг білка ($p < 0,001$) або на 30 %. Отже, найнижчою активністю СОД характеризувалися риби третьої дослідної групи, які були інвазовані одночасно двома збудниками *Dactylogyrus lamellatus* і *Gyrodactylus ctenopharyngodonis*.

Каталаза є гемовмісним ензимом, що локалізується в пероксисомах клітин печінки, еритроцитів. Вона знешкоджує токсичну дію пероксиду водню, яка утворюється у процесах метаболізму. Встановлено, що за умов інвазованості однорічок білого амура *Dactylogyrus lamellatus* і *Gyrodactylus ctenopharyngodonis* каталазна активність у їх гепатопанкреасі знижується. У риб, інвазованих *Dactylogyrus lamellatus*, даний показник знизився на 0,08 ммоль H_2O_2 /мг білка за $xv \cdot 10^{-5}$ ($p < 0,05$) або на 5 %, у риб, інвазованих *Gyrodactylus ctenopharyngodonis* – на 0,12 ммоль H_2O_2 /мг білка за $xv \cdot 10^{-5}$ ($p < 0,01$) або на 7 %, а у особин, інвазованих одночасно двома паразитами – на 0,24 ммоль H_2O_2 /мг білка за $xv \cdot 10^{-5}$ ($p < 0,001$) або на 14 %.

Одним із антиоксидантних ензимів є глутатіонпероксидаза. Вона каталізує в організмі реакції відновлення пероксиду водню і органічних гідропероксидів відновленим глутатіоном (GSH) відповідно до води або до гідроксипохідних органічних сполук. Відновлення гідропероксидів ліпідів глутатіонпероксидазою попереджує подальшу пероксидацію і утворення її вторинних продуктів.

Нашими дослідженнями встановлено зниження активності глутатіонпероксидази в гепатопанкреасі неінвазованої риби. В однорічок білого амура, уражених *Dactylogyrus lamellatus*, порівняно з неураженою рибою це зменшення складало 0,52 мкмоль GSH /мг білка за xv або 15,4 %, у риби, інвазованої *Gyrodactylus ctenopharyngodonis*, – відповідно 0,48 мкмоль GSH /мг білка за xv або 14,2 % та у риби, ураженої одночасно двома паразитами – 0,80 мкмоль GSH /мг білка за xv ($p < 0,01$) або 23,7 %.



Спостерігалися відмінності за показниками активності ферментної ланки системи антиоксидантного захисту і між рибою, ураженою різними паразитами. Проте, достовірна різниця була виявлена лише між особинами першої і третьої та другої і третьої дослідних груп за активністю СОД й каталази. Вона становила відповідно 0,17 ($p < 0,001$) та 0,11 у.о./мг білка ($p < 0,01$) й 0,16 ($p < 0,01$) та 0,12 ммоль H_2O_2 /мг білка за хв* 10^{-5} ($p < 0,05$).

Таким чином, дактилогіруси і гіродактилюси спричиняють інгібуючий вплив на активність ферментної ланки системи антиоксидантного захисту у гепатопанкреасі, на що вказує зниження каталазної, супероксиддисмутазної та глутатіонпероксидазної активності у гепатопанкреасі риб дослідних груп.

Слід відзначити, що вільнорадикальне окиснення за достатньо низької інтенсивності – це нормальний процес метаболізму білків, вуглеводів та жирів. Воно відбувається шляхом окисного фосфорилування і мікросомального окиснення, з участю молекулярного кисню і з транспортом електронів. У цьому процесі утворюються вільні радикали. Процес пероксидного окиснення ліпідів є важливою причиною накопичення клітинних дефектів.

Встановлено, що в однорічок товстолобика, інвазованих різними ектопаразитами, рівень продуктів ПОЛ у гепатопанкреасі порівняно з неураженою рибою значно зростав (табл. 2). Найвищий рівень ТБК-продуктів, дієнових кон'югатів та гідропероксидів ліпідів спостерігався у гепатопанкреасі риб, які були уражені одночасно двома паразитами. Ці показники у них були вищими порівняно з неінвазованою рибою відповідно на 4,49 нмоль/мг білка або на 83,5 %, 0,88 нмоль/мг білка або 52,7 % та 1,63 од. опт. густ. /г або 64,4 % при $p < 0,001$ у всіх випадках.

Достовірне збільшення цих показників порівняно з контролем спостерігалось і у гепатопанкреасі особин першої та другої дослідних груп: за ТБК-продуктами воно становило відповідно 4,29 ($p < 0,001$) або 79,7 % та 4,21 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) або 78,3 %, за дієновими кон'югатами – 0,76 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) або 45,5 % та 0,70 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) або 41,9 % і за гідропероксидами – 0,91 од. опт. густ./г ($p < 0,05$) або 36,0 % та 0,86 од. опт. густ./г ($p < 0,05$) або 34,0 %.

Вірогідна різниця за вмістом гідропероксидів у гепатопанкреасі була відмічена також і між рибою першої і третьої та другої і третьої дослідних груп, вона становила 0,72 та 0,77 од. опт. густ./г відповідно при $p < 0,05$ в обох випадках.

Активність антиоксидантних ферментів у гепатопанкреасі однорічок товстолобика, уражених ектопаразитами, та неінвазованої риби була також різною. Зокрема, активність СОД у гепатопанкреасі риб першої дослідної групи порівняно з контролем зменшилася на 1,33 у.о./мг білка ($p < 0,001$) або на 25,7 %, другої дослідної – відповідно на 1,21 у.о./мг білка ($p < 0,001$) або на 23,4 % і третьої дослідної – на 1,38 у.о./мг білка ($p < 0,001$) або на 26,7 %.

У гепатопанкреасі риб усіх дослідних груп спосте-

Таблиця 2

Рівень продуктів ПОЛ та активність ферментів АОС у гепатопанкреасі однорічок товстолобика, інвазованих *Dactylogyrus hypophthalmichtidis* і *Gyrodactylus hypophthalmichtidis*, $M \pm m$ (n=6)

Показник	Група риб			
	контрольна	перша дослідна	друга дослідна	третья дослідна
ТБК-продукти, нмоль/мг білка	5,38±0,190	9,67±0,108***	9,59±0,185***	9,87±0,083***
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	1,67±0,071	2,43±0,026***	2,37±0,080***	2,55±0,070***
Гідропероксидази, од. опт. густ. /г	2,53±0,121	3,44±0,285*	3,39±0,320*	4,16±0,118***
Супероксиддисмутаза, у.о./мг білка	5,17±0,127	3,84±0,092***	3,96±0,062***	3,79±0,100***
Каталаза, ммоль H_2O_2 /мг білка за хв* 10^{-5}	1,61±0,036	1,53±0,038	1,57±0,052	1,44±0,036**
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH /мг білка за хв	3,30±0,212	2,79±0,211	2,84±0,229	2,55±0,164*

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – порівняно з контрольною групою.

Таблиця 3
Рівень продуктів ПОЛ та активність ферментів АОС у гепатопанкреасі однорічок коропа, інвазованих *Eudiplozoon pirronicum*, $M \pm m$ (n=6)

Показник	Група риб	
	контрольна	дослідна
ТБК-продукти, нмоль/мг білка	5,55±0,024	9,26±0,023***
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	1,80±0,026	2,21±0,012***
Гідропероксидази, од. опт. густ. /г	2,22±0,137	3,54±0,310**
Супероксиддисмутаза, у.о. / мг білка	5,43±0,025	3,99±0,031***
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мг білка за хв*10 ⁻⁵	1,56±0,026	1,50±0,016
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH /мг білка за хв	2,84±0,170	2,45±0,184

Примітка. ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – порівняно з контрольною групою.

рігалося також зменшення активності каталази та глутатіонпероксидази, однак, достовірним воно було лише в особин, інвазованих одночасно двома збудниками, воно становило 0,17 ммоль H₂O₂/мг білка за хв*10⁻⁵ ($p < 0,01$) та 0,75 мкмоль GSH/мг білка за хв. ($p < 0,05$) або 10,6 та 12,7 % відповідно.

При з'ясуванні патогенної дії збудників *Eudiplozoon pirronicum* на організм однорічок коропа лускатого встановлено стимулюючий вплив їх життєдіяльності на утворення у гепатопанкреасі риб продуктів ПОЛ, що зумовлено високою інтенсивністю енергетичних процесів у цьому органі, які супроводжуються утворенням активних форм кисню (табл. 3). Зокрема вміст

ТБК-продуктів у гепатопанкреасі ураженої риби порівняно з неуразеною збільшився на 3,71 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) або на 66,8 %.

Про патогенну дію *Eudiplozoon pirronicum* на організм однорічок коропа лускатого свідчить також збільшення у їх гепатопанкреасі вмісту дієнових кон'югатів – на 0,41 нмоль/мг білка ($p < 0,001$) або 22,8 % та гідропероксидів ліпідів – на 1,32 од. опт. густ. /г ($p < 0,01$) або 59,5 %.

За ураження однорічок коропа диплозоонами спостерігалось зниження у їх гепатопанкреасі ферментів антиоксидантної системи. В інвазованій риби порівняно з неінвазованою активність супероксиддисмутази зменшилася на 1,44 у.о./ мг білка ($p < 0,001$) або на 26,5 %, каталази – на 0,06 ммоль H₂O₂/мг білка за хв*10⁻⁵ або на 3,8 %, глутатіонпероксидази – на 0,06 мкмоль GSH /мг білка за хв або на 13,7 %.

Висновки

За ураження однорічок коропових риб ектопаразитами вміст продуктів перексидного окиснення ліпідів у їх гепатопанкреасі значно вищий, ніж у неінвазованих риб, а ферментативна активність системи антиоксидантного захисту – нижча. Ці зміни у однорічок білого амура та товстолобика більш вираженими були за змішаної інвазії.

Література

1. **Мирончик В.В.** Авторское свидетельство №1084681 СССР, МКИ G №33/48. Способ определения гидроперексидей липидов в биологических тканях. №348369/28-13; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84, Бюл. №13.
2. **Быховская-Павловская И.Е.** Паразиты рыб. Руководство по изучению. – Л.: Наука, 1985. – 121 с.
3. **Дубинина Е.Е., Сальникова Л.Я., Ефимова Л.Ф.** Активность и коферментный спектр СОД эритроцитов // Лабораторное дело. – 1983. – №10. – С. 30–33.
4. **Зинчук В.В., Борисик М.В.** Роль кислородосвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма // Успехи физиологических наук. – 1999. – Т.30, №3. – С. 38–48.
5. **Кожевников Ю.Н.** О перекисном окислении липидов в норме и патологии (обзор) // Вопросы медицинской химии. – 1985. – №1. – С. 2–7.
6. **Коробейникова Е.Н.** Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. – 1989. – №7. – С. 8–9.
7. **Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г.** Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16–19.
8. **Лакин Г.Ф.** Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352с.
9. **Мищенко Т.В.** Влияние раундапу на показатели перекисного окисления липидов коропа // Гидробиологический журнал. – 2011. – Т. 47, №3. – С. 69–73.
10. **Моин В.М.** Простой и специфический метод определения активности глутатилпероксидазы в эритроцитах // Лабораторное дело. – 1986. – №12. – С. 724–727.
11. **Нейш Г., Хьюз Г.** Микозы рыб. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – С. 13–45.
12. **Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР.** – Л.: Наука, 1987. – Т. 3. – Ч. 2. – 584 с.
13. **Секретарюк К.В.** Лабораторна діагностика інвазійних хвороб риб. – Львів, 2001. – 112с.
14. **Стальная И.Д.** Определение диеновых конъюгатов / Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.
15. **Martinez-Alvarez R.M., Morales A.E., Sanz A.** Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors // Rev. Fish Biol. – 2005. – Vol. 15, №1. – P. 75–88.

