

Т. Катрий, асп., А. Савчук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

АГРЕГАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ.

Статья посвящена изучению АДФ-зависимой агрегации тромбоцитов здоровых доноров после инкубации с иммуноглобулинами класса G, которые были выделены из плазмы крови больных атеротромботическим и кардиоэмболическим подтипами ишемического инсульта в острый период болезни и через год после перенесенной острой фазы, а также с плазмы крови практически здоровых доноров. В ходе работы было показано, что атеротромботический и кардиоэмболический подтипы ишемического инсульта сопровождается увеличением концентрации иммуноглобулинов класса G. При этом концентрация которых через год после перенесенной острой фазы соответствует показателю практически здоровых доноров. Кроме того IgG имеют способность влиять на определенные звенья системы гемостаза как в острой фазе заболевания так и через год. В частности для IgG полученных из плазмы крови больных как АИИ так и КИИ в острой фазе характерным была активация АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов здоровых доноров. В свою очередь IgG полученные из плазмы крови больных АИИ и КИИ через год после острой фазы проявили противоположный эффект, то есть ингибирование АДФ-зависимой агрегационной способности тромбоцитов здоровых доноров.

Ключевые слова: ишемический инсульт, IgG, агрегация тромбоцитов.

Т. Катрий, асп., О. Савчук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

АГРЕГАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ТРОМБОЦИТІВ ПІД ДІЄЮ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ КЛАСУ G ОТРИМАНИХ ІЗ ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНИЙ ІНСУЛЬТ

Стаття присвячена вивченню АДФ-залежній агрегації тромбоцитів здорових донорів після інкубації з імуноглобулінами класу G, які були виділені з плазми крові хворих атеротромботичним і кардіоемболічним підтипами ішемічного інсульту в гострий період хвороби і через рік після перенесеної гострої фази, а також з плазми крові практично здорових донорів. В ході роботи було показано, що атеротромботичний і кардіоемболічний підтипи ішемічного інсульту супроводжується збільшенням концентрації імуноглобулінів класу G. При цьому концентрація яких через рік після перенесеної гострої фази відповідає показнику практично здорових донорів. Більш того IgG мають здатність впливати на певні ланки системи гемостазу як в гострій фазі захворювання так і через рік після перенесеної гострої фази. Зокрема для IgG отриманих з плазми крові хворих як АІІ так і КІІ в гострій фазі характерним була активація АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів здорових донорів. У свою чергу IgG отримані з плазми крові хворих АІІ і КІІ через рік після гострої фази проявили протилежний ефект, тобто інгібування АДФ-індукованої агрегаційної здатності тромбоцитів здорових донорів.

Ключові слова: ішемічний інсульт, IgG, тромбоцитарна активність.

УДК 578.81, 578.85/86

О. Андрійчук, канд. біол. наук, А. Голубенко, канд. біол. наук,
Г. Коротєєва, канд. біол. наук, О. Перегудова, пров. інж., В. Поліщук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ЗБУДНИКІВ ЗМІШАНОЇ ІНФЕКЦІЇ ОРХІДНИХ В КОЛЕКЦІЇ БОТАНІЧНОГО САДУ ІМ. АКАД. О.В. ФОМІНА

Проведено виявлення та ідентифікація збудників інфекційних хвороб орхідних в колекції захищеного ґрунту ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Описані симптоми інфікованих рослин. Встановлено наявність змішаної інфекції, обумовленої вірусними та бактеріальними агентами.

Ключова слова: орхідеї, інфекційні хвороби орхідей, віруси орхідей, фаготерапія.

Вступ. Тропічні та субтропічні види орхідних культивуються в багатьох країнах світу і є однією з провідних ланок сучасного квітникарства. В Україні більшість тропічних орхідних вирощується в умовах захищеного ґрунту в колекціях ботанічних садів та приватних господарствах. Проте, вірусні захворювання орхідних значно впливають на декоративні якості квітів, призводять до зменшення видового різноманіття колекцій та, відповідно, до зниження їх колекційної та комерційної цінності [10/9].

Нині описано близько 50 вірусів, здатних інфікувати представників родини *Orchidaceae* Juss. Серед них віруси мозаїки цимбідіуму (*Cymbidium mosaic virus*, *CymMV*) та кільцевої плямистості одонтогლოსуму (*Odontoglossum ringspot virus*, *ORSV*) є найбільш актуальними [14/14]. Передача цих вірусів відбувається виключно в умовах захищеного ґрунту, в основному, при вегетативному розмноженні або механічно. Чим старше вік рослини, що утримується в теплиці, тим більше ймовірність її ураження вірусними патогенами. Однієї інфікованої рослини достатньо для перезараження рослин усієї колекції, навіть при вирощуванні особин, первинно перевірених на наявність вірусів. Крім того, вірусні інфекції можуть призводити до зниження стійкості рослин до "вторинного" ураження іншими хворобами.

Крім вірусів, збудниками інфекційних хвороб у орхідних є гриби та бактерії. Серед грибкових уражень найбільшого значення має коренева гниль (фітум, різоктонія), трахеомікози, плямистість (борошниста роса, іржа, сіра та коричнева гниль, септоріоз, стангоспороз, філlostиктоз, церкоспороз) [9/8]. Бактеріальні інфекції розвиваються внаслідок проникнення бактерій крізь пошкоджені тканини ослабленої рослини та порушують нормальний перебіг фізіологічних процесів. Найпоширенішими бактеріальними хворобами орхідних є гниль, плямистість, некрози, що призводить до часткової або повної загибелі рослин [5, 12/ 1, 11].

Мета дослідження – вивчення етіологічних причин захворювань орхідних в колекції захищеного ґрунту ботанічного саду імені О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Матеріали і методи. Об'єктами нашого дослідження були тропічні орхідні з візуальними ознаками ураження (рис. 1), відібрані в колекції ботанічного саду імені О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Обстеження на наявність патогенів проводили серед зразків орхідних: *Cymbidium hybridum*, *Miltoniopsis* sp., *Calanthe vestita*, *Laelia* sp., *Stanhopea tigrina*, *Paphiopedilum* sp., *Phalidata*

concoidea, *Dendrobium moschatum*, *Phalaenopsis hybrida*, *Vanda tricolor*, *Dendrobium delicatum*, *Zygopetalum mackayi*, *Epidendron* sp., *Dendrobium kingianum*, *Coelogyne flaccida*, *Xylobium squalens*, *Dendrobium* sp., *Dendrobium* sp., *Miltoniopsis* sp., *Oncidium sphacelatum*, *Phalaenopsis* sp.

Віруси ідентифікували методом твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА) в модифікації DAS-ELISA з сироватками до *CymMV* та *ORSV* (Prime Diagnostics, Нідерланди) за рекомендацією виробників тест-систем.

Концентрацію та очищення вірусних препаратів проводили за стандартними методиками [8/5]. Морфологію віріонів вивчали методом трансмісійної електронної мікроскопії за допомогою електронного мікроскопу JEOL-1400 (Японія), при інструментальному збільшенні 40000 та 60000. Препарати контрастували 2% водним розчином уранілацетату.

Для вирощування бактерій та титрування фагів використовували готові комерційні агаризовані поживні середовища на основі рибного гідролізату (виробник – Оболенськ, ГРМ-агар, ГРМ-бульйон). Концентрування та очистку фагів проводили методами високошвидкісного центрифугування у градієнті густини CsCl.

Для виділення бактеріофагів були використані зразки рослин родини *Orchidaceae* з симптомами бактеріального ураження – плямистість, некрози, гнилі, зів'янення та пожовтіння листя. Фаги виділяли шляхом прямого висіву. Титри визначали в бляшкоутворюючих одиницях в мл (БУО/мл) методом двошарового агару по Грація. Концентровані препарати фагів аналізували за допомогою методу електронної мікроскопії.

Чисті лінії бактеріофагів отримували шляхом шестикратного пасування з використанням методу виколування окремих негативних колоній. Отримані ізоляти фагів використовували надалі для напрацювання їх в препаративних концентраціях та об'ємах.

Статистичний аналіз експериментальних даних проводили за параметричними критеріями нормального розподілу, стандартне відхилення середніх значень – за загальноприйнятою методикою з використанням

комп'ютерної програми управління базами даних MS EXCEL 2000 [3/7].

Результати та їх обговорення. Симптоми, які з'являються на орхідних, внаслідок вірусної інфекції, не є характерними при ураженні конкретним вірусом. Хоча попередньо, за такими специфічними ознаками ураження, як кільцева плямистість, мозаїка та некрози, можна діагностувати вірусну інфекцію, проте ідентифікувати вірус не можливо.

Симптоми, які викликаються кожним індивідуальним вірусом, у значній мірі залежать від виду орхідних, штаму вірусу та факторів оточуючого середовища (температури, інтенсивності освітлення та ін.). Іноді рослини, уражені вірусами, можуть взагалі не проявляти видимих ознак ураження [2/6]. Крім того, такі фактори як незбалансованість елементів мінерального живлення, їх нестача, висока інтенсивність освітлення, інвазії комахами та кліщами, бактеріальні та грибні ураження чи генетичні порушення можуть викликати симптоми, схожі із симптомами вірусної інфекції. Тому діагноз "вірусна інфекція" повинен бути підтверджений специфічними методами діагностики та ідентифікації вірусів.

При проведенні візуального обстеження орхідних ботанічного саду ім. О.В. Фоміна Київського національного університету на листках рослин були виявлені мозаїчні, хлоротичні та некротичні симптоми. Симптоми мозаїки на листках представляли собою чергування світлих та темно-зелених ділянок, які утворювали мозаїчний візерунок (рис. 1 А). Симптоми некротичної або кільцевої плямистості полягають в утворенні на листовій пластинці дрібних (0,5–2 мм) та середнього розміру (2–4 мм) чорних некрозів округлої та овальної форми, іноді оточених вузькою облямівкою (рис.1 В). Досить поширеним симптомом було пожовтіння листової пластинки в комбінації з утворенням крайових некрозів. Симптоми мозаїки та кільцеві некрози можуть виникати на рослинах під впливом *CymMV* та *ORSV* [7/3].



А

В

Рис. 1. Вірусоподібні симптоми та бактеріальне ураження у рослин орхідних колекції БС ім. акад. О.В. Фоміна:

А – мозаїка і некрози на листках *Cymbidium hybridum* hort.;

В – хлорози і некрози на листках *Phalaenopsis* sp.

Для детекції антигенів *CymMV* та *ORSV* у зразках рослин орхідних ботанічного саду ім. О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка було проведений ІФА, з відповідними антисироватками (рис.2).

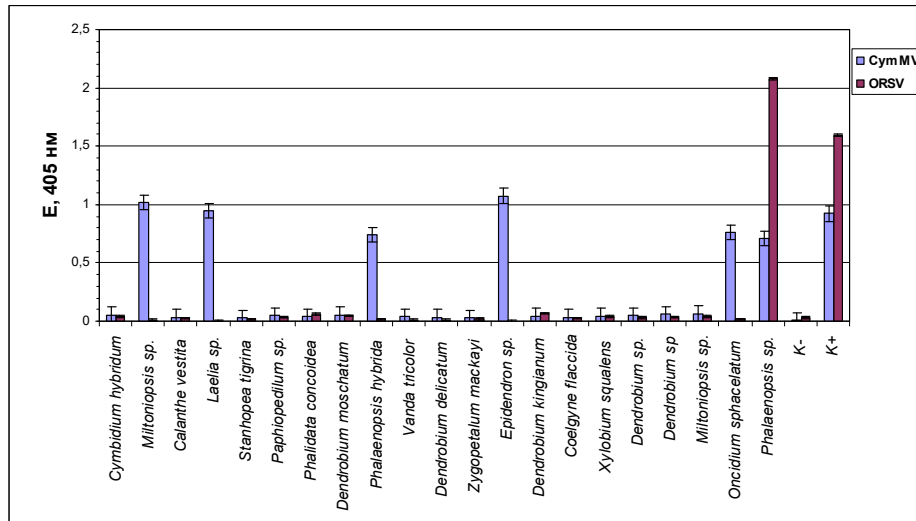


Рис. 2. Виявлення антигенів *CymMV* та *ORSV* у рослинах орхідних колекції ботанічного саду імені О.В. Фоміна

У результаті тестування зразків орхідних (рис. 2) було встановлено наявність антигенів *CymMV* в зразках рослин *Miltoniopsis* sp., *Laelia* sp., *Phalaenopsis hybrida*, *Epidendron* sp. та *Oncidium sphacelatum*. Слід відмітити, що моноінфекція *ORSV* у досліджуваних зразках виявлена не була. Змішана інфекція *CymMV*+*ORSV* була детектована у рослин *Phalaenopsis* sp.

Морфологічні особливості вірусів визначали методом трансмісійної електронної мікроскопії шляхом негативного контрастування концентрованих вірусомісних препаратів.

Електронномікроскопічні дослідження показали, що у препаратах, виділених із рослин роду *Phalaenopsis* колекції Ботанічного саду О.В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка, спостерігали два типи віріонів з різною морфологією: паличкоподібні та ниткоподібні (рис. 3). Результати вимірювання довжин вірусних часток показали, що ниткоподібні частки мають розмір 480-540 нм, паличкоподібні – 280-350 нм.

Паличкоподібний вірус, електронномікроскопічне зображення якого представлено на рисунку 3, за морфологічними показниками подібний до *ORSV*, а ниткоподібний – до *CymMV* [13/12].

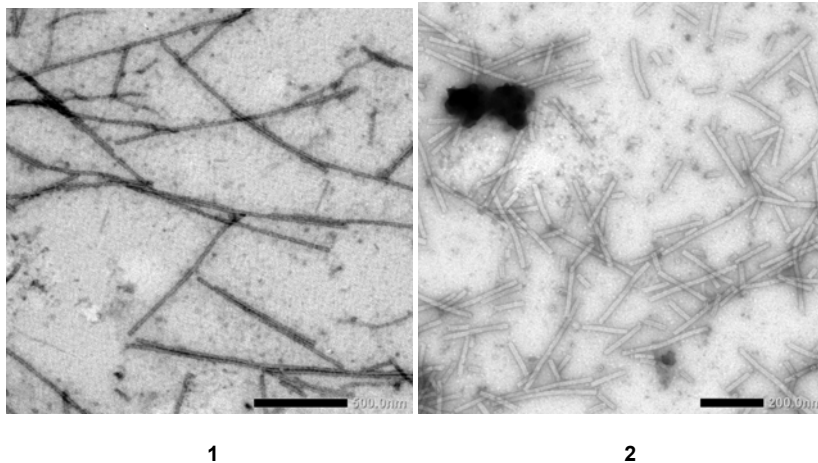


Рис. 3. Електронномікроскопічне зображення часток *CymMV* (1) та *ORSV* (2), виділених із рослин орхідних роду *Phalaenopsis*

Оскільки при обстеженні рослин орхідних методом ІФА з антисироватками до *ORSV* та *CymMV* була відмічена позитивна реакція, то порівняння результатів ІФА та електронномікроскопічних даних дають підставу стверджувати, що орхідні колекції НБС ім. О.В. Фоміна КНУ імені Тараса Шевченка були інфіковані *CymMV* та *ORSV*.

У орхідей, що було обстежені на наявність вірусних патогенів, крім вірусоподібних симптомів нами були відмічені симптоми бактеріального ураження, тому надалі було проведено фаготипування збудників бактеріозів орхідей.

Ураження були загальними, що викликали загибель всієї рослини або окремих його частин; місцеві: які обмежуються захворюванням окремих частин або органів

рослини, а також проявлялися на паренхімних тканинах (паренхіматозні хвороби – гнилі, плямистості, опіки); а також носили змішаний характер. При загальній інфекції спостерігалось в'янення рослини, яке може бути викликано двома причинами: закупоркою судин (судинне в'янення) або токсичною дією бактерій на тканини рослини.

На розвиток бактеріального захворювання рослин вказує поява плямистості. На відміну від грибкових уражень листя, плями, викликані бактеріями, не мають чітких границь. Такі плями дуже швидко збільшуються в розмірах, а саме листя сохне і жовтіє. Вологі умови утримання рослин тільки сприяють швидкому поширенню хвороби.

При плямистості, що викликана бактеріями, на листках можна побачити змертвілі ділянки у вигляді плям. Саме такі симптоми й були виявлені на рослинах орхідей.

На листках рослин спостерігали плямистість (коли плями підсихали, набували бурий та чорний колір), некрози, гнилі. Такі симптоми викликають бактерії роду *Pseudomonas* – нефлюоресціюючі псевдомонади (*P.cepacia*, *P.caryophylli*, *P.gladiali*), які синтезують пектолiтичні ферменти та целюлази [4/4].

Бактерії роду *Xanthomonas* викликають гниль та плямистість. Представники роду *Erwinia* надзвичайно небезпечні для рослин, часто стають причиною епіфітотій. Ці бактерії викликають гнилі, зів'янення листя, опіки, хвороби судин рослин тощо [1/13].

Патогенність бактерій роду *Pectobacterium* пов'язана зі здатністю продукувати пектолiтичні ферменти, які спричиняють м'які гнилі.

Культури рослин, які вирощують в промислових масштабах, утворюють моновидові та багаточисельні угруповання, їх вирощують на незначних за площею територіях у оптимізованих умовах. Місця культивування рослин слугують екологічними нішами для фітопатогенних бактерій. При потраплянні збудників фітобактеріозів у моновидові рослинні популяції відбувається швидке поширення бактерій між організмами-хазяями, зупинити яке складно. При культивуванні рослин у захищеному ґрунті ситуація ускладнюється, адже вегетація рослин в теплицях та парниках триває упродовж усього року і явище сезонності, яке лімітує активність фітопатогенних бактерій у відкритому ґрунті, в умовах тепличних господарств відсутнє.

Для боротьби із збудниками фітобактеріозів використовують широкий спектр хімічних та біологічно активних сполук. Проте фітопатогенні бактерії під впливом вищезгаданих чинників набувають до них резистентності.

Із розвитком біологічних методів боротьби на зміну хімікатам та антибіотикам прийшли біологічні методи боротьби, що базуються на природних механізмах протидії рослин і їх мікробного оточення патогенами. Бактеріофаги, як природні компоненти мікробних угруповань,

можуть бути використані як ефективні протимікробні агенти. Фаги можуть бути ефективними протибактеріальними агентами, які допоможуть подолати хвороби, збудниками яких є фітопатогенні бактерії, стримати їх поширення та розповсюдження у нові осередки [6/2].

Для дослідження фагів на наявність біологічної активності використовували зразки уражених бактеріальними хворобами рослин орхідей. Ізоляти фагів із зразків були виділені до сімнадцяти індикаторних культур фітопатогенних бактерій *Pectobacterium carotovorum* 9014, *Dickeya solani* 2222, *Dickeya dianticola* 980, *Dickeya dodonti* 2120, *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum* 1949, *Pectobacterium atrosepticum* 1602, *Xanthomonas fragariae* 3057, *Pectobacterium carotovorum* 9014, *Pectobacterium carotovorum* 8923, *Pectobacterium carotovorum* 7201, *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* 7694, *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* 7749, *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* 7750, *Pseudomonas fluorescens* 8573, *Xanthomonas axonopodis pv. beticola* 7325, *Erwinia carotovora* 216, *Pseudomonas syringae pv. atrofaciens* 1025.

За допомогою індикаторних бактерій було отримано негативні колонії фагів різного розміру, що може вказувати на неоднорідність вірусних часток даних бактеріофагів.

Для подальших досліджень було проведено 6 пасажів для чотирьох фагів з високою літичною активністю.

Для фагів, як для біологічного об'єкту, характерною особливістю є пристосування до умов навколишнього середовища. Значна кількість природних і штучно створених факторів прямо та опосередковано впливають як на організм хазяїна так і фагів. Кожен фаг має коло природних хазяїв, іноді досить широке, а іноді, вузько специфічне. Тому, при вивченні репродукції вірусів бактерій в природних екосистемах важливим є визначення спектру літичної активності та ефективності їх репродукції.

Для визначення кола хазяїв ізолятів було проведено дослідження спектру літичної активності фагів на 13 штаммах фітопатогенних бактерій (табл. 1).

Таблиця 1. Спектр літичної активності фагів фітопатогенних бактерій

Зразки ізолятів фагів	1	2	3	4	6	7	8	10
Індикаторні бактерії								
<i>P. polytuxa</i> 9034	+	+	-	-	+	-	+	-
<i>D. solani</i> 2222	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. syringae pv. tabaci</i> 8646	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>P. syringae pv. tabaci</i> 223	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>P. syringae pv. atrofaciens</i> 1025	+	-	-	+	+	-	+	+
<i>X. axonopodis pv. beticola</i> 7325	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>E. carotovora</i> 216	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. michiganensis subsp. sepedonicus</i> 7750	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>C. michiganensis subsp. sepedonicus</i> 7749	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. carotovorum</i> 8923	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. fluorescens</i> 8573	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>P. carotovorum subsp. carotovorum</i> 1949	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>X. fragariae</i> 3057	-	-	-	-	-	-	-	-

Виявлено, що серед восьми перевірених зразків шість проявляють літичну активність до штамів різних родів фітопатогенних бактерій (зразок № 1, 2, 6, 7, 8, 10), в той час як два ізоляти виявились моновалентними (зразки № 3, 4) – проявляли літичну активність лише до одного бактеріального штаму.

Після проведення пасажів для подальшої роботи було відібрано зразок для накопичення: зразок № 3, що виділено з зразку гнилі ураженої рослини орхідеї

роду *Phalaenopsis hybr.*, виділеного на чутливій бактерії *Pseudomonas fluorescens* 8573. Для цього було використано метод інтенсивної аерації у рідкому поживному середовищі. Після накопичення проводили очистку та концентрацію фагів методом диференційного центрифугування.

Після накопичення препарати були нанесенні на сітку з формваровою плівкою–підкладкою для проведення електронної мікроскопії.

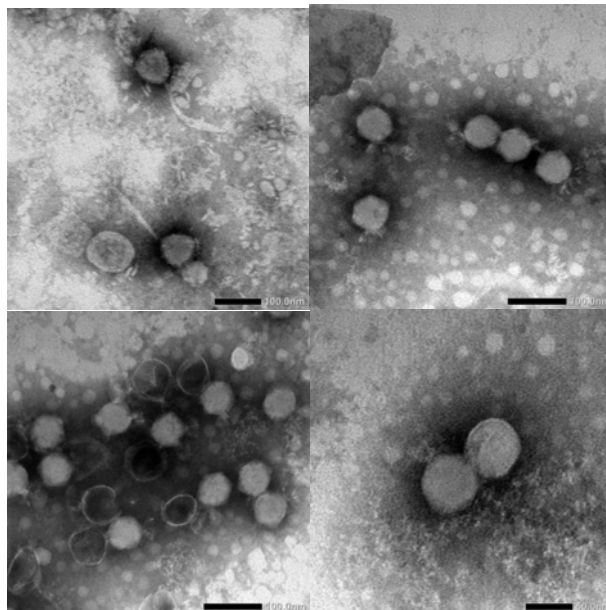


Рис. 4 Бактеріофаги виділені зі зразку гнилі ураженої рослини орхідеї роду *Phalaenopsis*, на чутливій бактерії *Pseudomonas fluorescens* 8573 та *X. axonopodis* pv. *beticola* 7325

Електронномікроскопічні дослідження показали, що фаги, виділені до чутливої бактерії *X. axonopodis* pv. *beticola* 7325, мають ізометричні головки та короткі хвостові відростки, а отже можуть бути відносяться до родини *Podoviridae*, С1-морфотипу, порядку *Caudovirales*, в той час як фаги, виділені на *Pseudomonas fluorescens* 8573- мають ізометричні голівки та довгі хвостові відростки, і можуть бути віднесені до родини *Siphoviridae*, В1-морфотипу, порядку *Caudovirales* (рис. 4).

При розгляданні критеріїв, які використовують для диференціації фагів, визначення морфологічної будови дозволить віднести віруси до відомих морфологічних типів.

Визначення розмірів даних віріонів дозволяє говорити про їх неоднорідність. Між ними спостерігалась різниця як у розмірі часток та розмірі хвостових відростків.

Використання незалежних методів: електронної мікроскопії та визначення кола хазяїв дало можливість ідентифікувати та дослідити бактеріофаги, виділені з ізолятів зразків орхідей з патологіями бактеріальної етіології, і показати їх перспективність їх використання для лікування хвороб бактеріальної етіології (бактеріальних інфекцій) рослин родини *Orchidaceae*. Враховуючи властивості бактеріофагів, визначені в даній роботі можна припустити, що вони є вдаливими кандидатами для створення активних біопрепаратів.

Колекції тропічних орхідних захищеного ґрунту в ботанічних садах України збираються впродовж багатьох років та містять нетестовані на вірусносійство рослини, тобто не відбувається вибраковка уражених рослин [11/10]. Ймовірно, що саме вірусна інфекція (*CymMV* та *ORSV*) у орхідей створює підґрунтя для вторинного ураження патогенними бактеріями та грибами. Саме тому лише комплексний підхід – дотримання правил карантину, технологій утримання культур, гідро- та терморегіму, використання безвірусного посадкового матеріалу, регулярне тестування рослин колекцій на наявність патогенів вірусної етіології, утримання нових рослин певний час в умовах карантину при надходженні їх в колекції, знищення шкідників, використання фагових препаратів для терапії бактеріозів, дозволить запобігти значним втратам в колекціях та сприяти збереженню видового складу колекцій орхідей захищеного ґрунту.

Висновки. Проведено обстеження колекції рослин орхідних НБС ім. О.В. Фоміна КНУ імені Тараса Шевченка. Встановлено, наявність змішаної інфекції у рослин, обумовленої вірусними та бактеріальними патогенами. Ідентифіковано бактеріофаги, виділені з ізолятів зразків орхідей з патологіями бактеріальної етіології, і показано перспективність їх використання для лікування бактеріальних хвороб рослин родини *Orchidaceae*.

Список використаної літератури

1. Воронкевич И.В. Выживаемость фитопатогенных бактерий в природе / И.В. Воронкевич. – М.: Наука, 1974. – 270 с.
2. Гнущова Р.В. Серология и иммунохимия вирусом растений / Р.В. Гнущова. – М.: Наука, 1993. – 301 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. – [3-е изд., перераб. и доп.]. / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
4. "Микроорганизмы – возбудители болезней растений" (справочник) / [В.И. Билай, Р.И. Гвоздяк, И.Г. Скрипаль та ін.]. – К.: Наукова думка, 1988. – 552 с.
5. Abdullah H. Etiology of Bacterial Soft Rot of Orchids/ H. Abdullah, S. Kadzimir // Pertanika J. Trap. Agric. Sci. – 1993. – N 16(1). – P.1–4.
6. Adhya S. The road to phage therapy / S. Adhya, C. Merril // Nature. – 2006. – N 443. – P. 754 – 755.
7. Ajjikuttira P. Molecular Biology of Two Orchid Infecting Viruses: Cymbidium mosaic potexvirus and Odontoglossum ringspot tobamovirus / P. Ajjikuttira, S.M. Wong // In: Kull T, Arditti J., Wong S.M. Orchid Biology: Reviews and Perspectives X. Dordrecht, Springer. – 2009. – P.252–270.
8. Frowd I. A. Physical, chemical and serological properties of Cymbidium mosaic virus/ I.A. Frowd, I.M. Tremaine // Phytopathology. – 1977. – Vol. 67., N 1. – P.43–49.
9. Matsubara T. Fungal Isolate "KMI" Is a New Type of Orchid Mycorrhizal Fungus/ T. Matsubara, M. Yoneda, T. Ishii // American Journal of Plant Sciences. – 2012. – N. 3. – P.1121–1126.
10. Pearson M.N. Further observations on the effects of cymbidium mosaic virus and odontoglossum ringspot virus on the growth of Cymbidium orchids/ M.N. Pearson, J.S. Cole // J. Phytopath. – 1991. – Vol.131. – P.193–198.
11. Polischuk V. Spreading of virus infection in the orchid collection in Ukraine/ V. Polischuk, G. Korotyeyeva, A. Lavrentyeva [et al.] // Plant science. Sofia. – 2007. – Vol. XLIV, N 3. – P.213–216.
12. Robert T. Effect of rouging on Erwinia soft rot in commercial production with two *Phalaenopsis* / T. Robert, J.R. McMillan, A. Palmeteer, W. Vendrame // Plants per Pot. Proc. Fla. State Hort. Soc. – 2007. – Vol.120. – P. 353 – 355.
13. Toussaint A. Electron microscopic observation of two Cymbidium viruses: ORSV and CMV/ A. Toussaint, A. Rassel // Parasitica. – 1982. – Vol. 48., N 3. – P.132–137.
14. Zettler F.W. Viruses of orchids and their control/ F.W. Zettler, G.C. Wisler, M.S. Elliot [et al.] // Plant disease. – 1990. – Vol.74., N 9. – P.621–626.

References

1. Abdullah H, Kadzamil S. Etiology of Bacterial Soft Rot of Orchids Pertanika. J.Trap. Agric. Sci. 1993; 16(1):1–4. English.
2. Adhya S, Merrill C The road to phage therapy. Nature. 2006. 443: 754-5. English.
3. Ajikuttira P, Wong SM. Molecular Biology of Two Orchid Infecting Viruses: Cymbidium mosaic potexvirus and Odontoglossum ringspot tobamovirus. In: Kull T, Arditti J., Wong S.M. Orchid Biology: Reviews and Perspectives X. Dordrecht, Springer; 2009. p. 252–270.
4. Bilaj VI, Gvozdzak RI, Skripal' IG "Микроорганизмы – возбудители болезней растений" (спаравоchnik) [The microorganisms – causative agents of plant diseases "(reference)]. Kiev: naukova dumka, 1988.
5. Frowd IA, Tremaine IM. Physical, chemical and serological properties of Cymbidium mosaic virus. Phytopathology. 1977; 67(1):43-9. English.
6. Gnutova RV Serologija i immunohimija virusov rastenij [Serology and Immunochemistry of plant viruses] Moscow: Nauka, 1993.
7. Lakin GF Biometrija [Biometrics] 3-d ed. Moscow: Vysshaja shkola, 1980.
8. Matsubara T, Yoneda M, Ishii T Fungal Isolate "KMI" Is a New Type of Orchid Mycorrhizal Fungus. American Journal of Plant Sciences. 2012; 3:1121–6. English.
9. Pearson MN, Cole JS Further observations on the effects of cymbidium mosaic virus and odontoglossum ringspot virus on the growth of Cymbidium orchids. J. Phytopath. 1991; 131: 193-8. English.
10. Polischuk V, Korotyeyeva G, Lavrentyeva A, Bysov A. Spreading of virus infection in the orchid collection in Ukraine. Plant science. Sofia. 2007; XLIV(3):213–6. English.
11. Robert T, McMillan JR, Palmeter A, Vendrame W. Effect of rouging on Erwinia soft rot in commercial production with two *Phalaenopsis*. Plants per Pot. Proc. Fla. State Hort. Soc. 2007; 120: 353 – 5. English.
12. Toussaint A, Rassel A. Electron microscopic observation of two Cymbidium viruses: ORSV and CMV. Parasitica. 1982; 48(3):132–7. English.
13. Voronkevich IV Vyzhivaemost' fitopatogennykh bakterij v prirode [Survival of pathogenic bacteria in the environment] Moscow: Nauka, 1974.
14. Zettler FW, Wisler GC, Elliot MS, Wong SM. Viruses of orchids and their control. Plant disease. 1990; 74(9): 621–6. English.

Надійшла до редколегії 09.06.16

Е. Андрийчук, канд. биол. наук, А. Голубенко, канд. биол. наук, А. Коротеєва, канд. биол. наук, А. Перегудова, пров. инж., В. Полищук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СМЕШАННОЙ ИНФЕКЦИИ ОРХИДНЫХ В КОЛЛЕКЦИИ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ИМ. АКАДЕМ. А.В. ФОМИНА

Проведено виявлення і ідентифікація возбудителів інфекційних боелезней орхидних в колекції захищеного ґрунта ботаничного саду ім. акад. А.В. Фомина Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Описані симптоми інфіцирваних рослин. Установлено наличие смешанной инфекции, обусловленной вирусными и бактериальными агентами.
Ключевые слова: орхидеи, инфекционные болезни орхидей, вирусы орхидей, фаготерапия.

O. Andriychuk, PhD, A. Golubenko, PhD, G. Korotyeyeva, PhD, O. Peregudova, Lead engineer, V. Polischuk, Dr.Sci
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

IDENTIFICATION OF INFECTIOUS AGENT OF MIXED INFECTIONS IN ORCHID COLLECTION OF FOMIN'S BOTANICAL GARDEN

Screening of Orchidaceae on virus diseases in the collection of Fomin's Botanical garden of Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine has been conducted. The symptoms of infected plants are described. The presence of mixed infections caused by viral and bacterial agents are defined.

Key words: orchids, infectious diseases of orchid, orchid virus.

UDC 612.352.2

D.Voieikova, PhD stud., L. Stepanova, PhD, T.Beregova, DSc, L.Ostapchenko, DSc
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
M. Kondro, PhD,
Danila Galitsky Lviv National Medical University, Ukraine, Lviv

PHOSPHOLIPID COMPOSITION IN THE INNER MITOCHONDRIAL MEMBRANE OF RAT HEPATOCYTES UNDER THE DEVELOPING OF DIFFERENT TYPES OF STEATOHEPATOSIS

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) or steatohepatosis has recently become widespread, but its pathogenesis has not been thoroughly understood for today. Most scientists have appropriated a central role in the mechanisms of its development to mitochondria and so-called "mitochondrial dysfunction," which is observed in most animal models and in most patients. The aim of this work was to determine phospholipid composition of inner mitochondrial membrane of rat hepatocytes under diet-induced and glutamate-induced steatohepatosis, as well as to compare the data about developing steatohepatosis of different types. Obtained data indicate the disruption of normal functional state of the inner mitochondrial membrane under the conditions of diet-induced and glutamate-induced steatohepatosis. Amount of oxidized forms of the major phospholipids including cardiolipin, indicates the increasing oxidative stress under the conditions of both steatohepatosis types.

Key words: steatohepatosis, mitochondria, "mitochondrial dysfunction" phospholipids oxidative stress.

INTRODUCTION.

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) or steatohepatosis has become more widespread in human population and it is often accompanied by pathological disorders of other organs and systems. The combination of obesity with the development of type 2 diabetes affects liver badly. There is a rapid decline in metabolic and functional activity that results in cancer development [11, 16].

The pathogenesis of steatohepatosis has not been clearly understood for today. But most scientists appropriate a central role in the mechanism of NAFLD developing to mitochondria and to "mitochondrial dysfunction" which is observed in most animal models and

in most patients. The main characteristics of "mitochondrial dysfunction" are the disruption in complexes of electron transport chain (ETC, respiratory chain), the decrease of oxidative phosphorylation and the development of oxidative stress, as well as the changes in the level of β -oxidation and in the Krebs cycle functioning [5, 6, 16, 17].

Recent studies have shown that experimental animals have suffered from steatohepatosis of different degrees of severity under the conditions of various types of high-calorie diets (HCD) even without weight excess [1, 3, 14]. Also, there has been established the direct effect of excessive income of carbohydrates and lipids on the phospholipid composition not only of plasma membrane,