

I. Kalinin, DSc
National Pedagogical Dragomanov University, Kyiv, Ukraine,
B. Tsudzevich, DSc
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

THE FUNCTIONING OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE TISSUE OF RATS, POISONED WITH HEAVY METALS

To investigate the functioning of antioxidant system in blood and liver of rats, poisoned of heavy metals (copper sulfate, zinc sulfate, cadmium sulfate and lead nitrate) on lipid peroxidation and on activity of glutathione-dependent enzymes of blood and liver of poisoned rats are shown in this article. It is shown that the introduction of heavy metals in rats leads to an increase in blood and liver TBARS-products and diene conjugates. Under the action of heavy metals decreases the activity of catalase and superoxide dismutase. A reduction in the activity of glutathione peroxidase and glutathione transferase under the influence of high doses of heavy metals. Under the action of heavy metals reduced glutathione content in rat tissues.

Key words: copper, zinc, cadmium, lead, blood, liver, rats, antioxidant system.

УДК 579.26+579.22

Т. Кондратюк, канд. біол. наук,
В. Собко, канд. біол. наук,
Т. Берегова, д-р біол. наук, проф.,
Л. Остапченко, д-р біол. наук, проф.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ПРОДУЦЕНТУ МЕЛАНІНУ *PSEUDONADSONIELLA BRUNNEA* В УМОВАХ ВПЛИВУ НІТРАТУ СВИНЦЮ

Досліджено особливості розвитку антарктичних чорних дріжджоподібних грибів *Pseudonadsoniella brunnea* (продуценту меланіну) в умовах впливу важких металів (солей свинцю). Встановлено, що *Ps. brunnea* не втрачає життєздатності та розвивається за умов вмісту у середовищі нітрату свинцю концентрацією 100, 200, 500, 750 та 1000 мг/л (у перерахунку на катіон металу). Для культивування *Ps. brunnea* використано щільні та рідкі живильні середовища. В роботі застосовували спектрофотометричні методи досліджень. Інтенсивність синтезу меланіну чорними грибами під впливом нітрату свинцю визначали як відсоток по відношенню до контрольного варіанту (без внесення металу). Зазначено, що під впливом важких металів *Ps. brunnea* зазнає морфологічних змін. За концентрації 500–1000 мг/л Pb^{2+} спостерігали збільшення пігментації досліджуваних культур (біосинтезу меланіну). Показано, що за умов розвитку під впливом токсичних металів у антарктичних чорних дріжджоподібних грибів *Ps. brunnea* збільшується активність ендодифосфатаз (кислої та нейтральної). Отримані характеристики можна вважати вагомими властивостями, що обумовлюють стійкість *Ps. brunnea* до впливу таких стресових факторів, як токсичні метали.

Ключові слова: антарктичні мікроорганізми, важки метали, металорезистентність, інтенсифікація меланіногенезу, активність ендодифосфатаз.

Вступ. Широки амплітуди адаптивних реакцій мікрокопічних грибів на дію різноманітних факторів середовища сприяють їх поширенню у найрізноманітніших умовах та на різних субстратах. Мікроорганізми, які зберігають життєздатність та розвиваються за умов дії екстремальних факторів довкілля, зокрема Антарктики, досліджуються з метою з'ясування адаптаційних механізмів, що обумовлюють стійкість цих мікроорганізмів до умов середовища та продукування ними біологічно-активних сполук [1; 2]. Аналіз літератури дає підстави виділити у грибів три принципово різних типи адаптивних стратегій, кожен з яких призводить до формування адаптацій, які дозволяють ефективно освоювати несприятливе середовище, але різними шляхами: активна стратегія, підпорядкування умовам середовища і уникнення несприятливих умов [3]. Активна стратегія характеризується як набуття адаптацій в несприятливих умовах, що дозволяє не тільки зберегти життєздатність (для грибів – це перебування у вигляді спор), а здатність до розмноження та розвитку в умовах під впливом агресивних факторів. Проявом цієї стратегії є вдосконалення міцеліальної організації таллому грибів, набуття модульної будови, меланізація клітин тощо.

Виникнення впорядкованої макроскопічної організації грибних систем пропонується розглядати як результат процесу самоорганізації, оскільки передбачає збільшення і ускладнення елементів, що входять до їх складу, зміну режимів функціонування і т.д. При такому підході, відомому в біофізиці складних систем, можна стверджувати, що грибна система здатна займати дискретне число макроскопічно стійких дискретних станів на рівні колонії, спектр яких визначений морфологічним потенціалом грибів. Перехід між цими станами обумов-

люється зовнішніми управляючими параметрами (наприклад, склад, товщина субстрату, температура культивування і т.д.) В рамках даного підходу грибна колонія являє собою єдине ціле, складну біофізичну систему, що адаптується в процесі розвитку до змінних умов існування за рахунок колективних взаємодій елементів, що її складають один з одним і з середовищем [4-6].

Дослідження щодо стійкості мікроскопічних грибів до найрізноманітніших несприятливих умов середовища показують, що за умов дії різноманітних чинників спостерігаються різні прояви адаптації до стресових факторів. Набуття пігментації, в першу чергу, меланізація клітин – також один із проявів активної адаптивної стратегії грибів до освоєння наземних місцевостей. На теперішній час проблемі впливу екстремальних факторів на антарктичні мікроорганізми приділяється значна увага на світовому рівні. Синтез екзометаболітів дозволяє антарктичним мікроорганізмам здійснювати процеси вилугування токсичних металів (Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+}) із скельних порід, включати їх у біологічні цикли. Як наслідок, відбуваються відповідні адаптаційні зміни, які призводять до існування в Антарктиці мікроорганізмів, високо резистентних до токсичних металів. Особливе місце серед них займають чорні дріжджоподібні гриби, які синтезують меланін [7].

В наших попередніх дослідженнях було з'ясовано та описано культурально-морфологічні, фізіолого-біотімічні та генетичні особливості штаму антарктичних чорних дріжджоподібних грибів (продуценту меланіну), що дозволило встановити його таксономічну приналежність до нового роду *Pseudonadsoniella* та нового виду *Pseudonadsoniella brunnea*. Отримані дані молекулярно-генетичних досліджень депозитовано у всесвітньому

Генетичному банку (№ КТ456204) [8]. Вказані чорні дріжджоподібні гриби *Ps. brunnea* синтезують і екскретують у культуральне середовище темний пігмент – поліфенолкарбоновий комплекс (ПФК). Останнє є важливою особливістю *Ps. brunnea*. Встановлено антиоксидантну, антибактеріальну, дерматотропну, ранозагоювальну властивості ПФК *Ps. brunnea* [9]. З урахуванням даних літератури щодо здатності меланіну абсорбувати різні токсичні сполуки, у тому числі важкі метали, дослідження металорезистентності *Ps. brunnea* є актуальним. Металорезистентні мікроорганізми є перспективними для створення нових універсальних природоохоронних біотехнологій.

Метою роботи було охарактеризувати особливості розвитку антарктичних мікроорганізмів (чорних дріжджоподібних грибів) *Pseudonadsoniella brunnea* за умов впливу токсичних металів (солей свинцю).

Матеріали та методи. Матеріалом для досліджень слугували дріжджоподібні гриби *Pseudonadsoniella brunnea* Т.О. Kondratyuk & S.Y. Kondr., ізольовані з антарктичних біотопів, а також чорні дріжджоподібні гриби *Exophiala alcalophila* Goto & Sugiy, ізольовані з пошкодженого герметика в умовах високої вологості приміщення (м. Київ) [10]. Культивування мікроорганізмів здійснювали на стандартних агаризованих живильних середовищах: Malt extract agar (MEA, Merck KGaA, Німеччина), Nutrient Agar (NA, Sigma), агар Сабуро. Для визначення металорезистентності досліджуваних культур використовували рідке живильне середовище Рідер [11, 12], для вивчення активності ферментів фосфатаз – неагаризоване сусло. Оцінку росту на агаризованих середовищах проводили візуально (констатували наявність або відсутність колоній мікроорганізмів). Для *Ps. brunnea* кислотність середовищ (рН) становила 3,0-3,5, для *E. alcalophila* – 5-5,5. Застосовували іонетр РН-150МП (Білорусь). Для отримання рН заданої величини

замість 1Н або 1М соляної або сірчаної кислоти використовували стерильну 80%-у молочну кислоту з метою запобігання утворення нерозчинних солей-осадів із нітратом свинцю ($Pb(NO_3)_2$). Культивування на рідких поживних середовищах проводили впродовж 20 діб (в умовах качалок-струшувачів культивування здійснювали перші 4–10 діб, 220 обертів/хв). Температура культивування становила $20^{\circ}\pm 1^{\circ}C$. Щільність суспензії чорних дріжджоподібних мікроорганізмів, які вносили в поживні середовища складала 10^7 кл/мл (підррахунок здійснювали із використанням камери Горяєва). Оцінку росту на рідких середовищах проводили, визначаючи оптичну густину суспензії на денситометрі DEN-1 (виробництва Biomerieux SA, Франція). Стійкість до солей токсичних металів визначали шляхом висіву досліджуваних культур мікроорганізмів на рідкі та агаризовані поживні середовища. У середовища вносили нітрат свинцю в концентрації 100, 200, 500, 750 та 1000 мг Pb^{2+} /л (у перерахунок на катіон металу). Вміст меланіну в біомасі тест-культур чорних дріжджоподібних грибів визначали шляхом кислотного та лужного вилучення. Інтенсивність синтезу меланіну чорними грибами під впливом токсичних металів вираховували у відсотковому співвідношенні до контрольованого варіанту (без внесення металу) [13, 14]. Активність фосфатаз тест-культур мікроорганізмів визначали із застосуванням відповідних методик [15].

Результати та їх обговорення. В результаті проведених досліджень встановлено, що антарктичні мікроорганізми (чорні дріжджоподібні гриби) *Pseudonadsoniella brunnea* не втрачають життєздатності та розвиваються за умов вмісту у середовищі солей свинцю концентрацією 100, 200, 500, 750 та 1000 мг Pb^{2+} /л. На відміну від *Ps. brunnea* росту чорних дріжджів *Exophiala alcalophila* на середовищі із вмістом $Pb(NO_3)_2$ 750 та 1000 мг Pb^{2+} /л не спостерігали (таблиця)

Таблиця. Життєздатність чорних дріжджоподібних грибів на агаризованих живильних середовищах в присутності 100–1000 мг Pb^{2+} /л

Концентрація Pb^{2+} , мг/л	Середовище	<i>Pseudonadsoniella brunnea</i>		<i>Exophiala alcalophila</i>	
100	MEA	+	+	+	+
	NA	+	+	+	+
200	MEA	+	+	+	+
	NA	+	+	+	+
500	MEA	+	+	+	+
	NA	+	+	+	+
750	MEA	+	+	–	–
	NA	+	+	–	–
1000	MEA	+	+	–	–
	NA	+	+	–	–
Контроль	MEA	+	+	+	+
	NA	+	+	+	+

Примітка: Наявність (+) або відсутність (–) росту. +* – слабкий ріст в порівнянні із варіантом контролю.

Характер кривих росту даних мікроорганізмів за умов розвитку на рідких живильних середовищах (100 – 500 мг Pb^{2+} /л та контроль) суттєвої різниці не мав, за виключенням варіанту, коли в середовище вносили 500 мг Pb^{2+} /л (рис. 1).

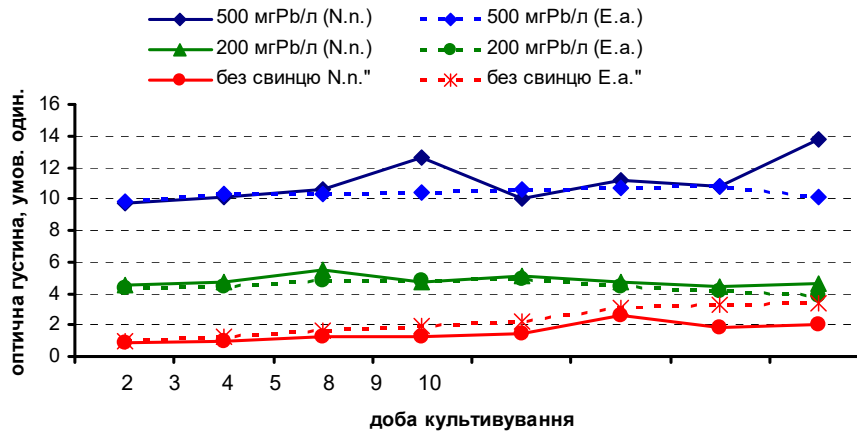


Рис. 1. Криві росту *Pseudonadsoniella brunnea* (N.n.) та *Exophiala alcalophila* (E. a.) в умовах впливу різних концентрацій нітрату свинцю

Найменший рівень приросту біомаси *Ps. brunnea* констатували що за умов наявності в середовищі солей свинцю в концентрації 750 та 1000 мг Pb²⁺/л (рис. 2).

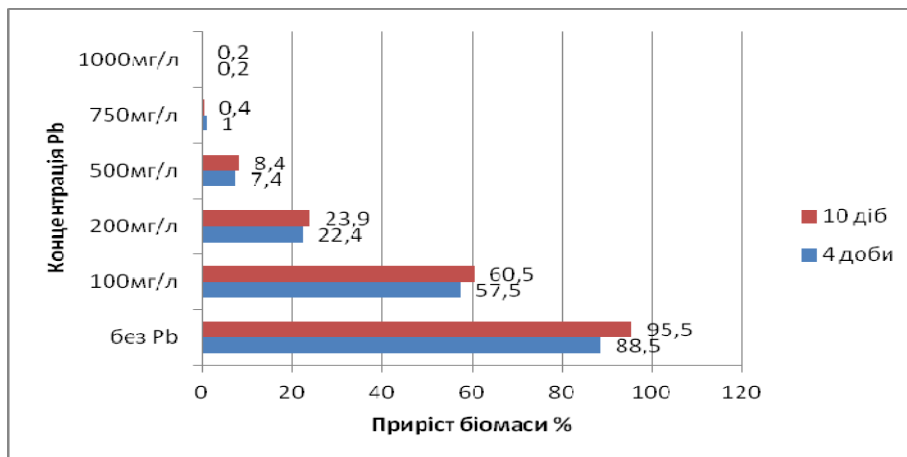


Рис. 2 Приріст біомаси *Pseudonadsoniella brunnea* в умовах впливу нітрату Pb²⁺

Однак криві росту *Ps. brunnea* характеризуються не тільки наявністю кількох піків, констатованих нами на 4-у та 10-у добу культивування у варіантах із внесенням 500 та 1000 мг Pb²⁺/л, а також збільшеними, в порівнянні із контрольними варіантами, показниками оптичної густини за умов росту в присутності нітрату свинцю (рис. 1, 3).

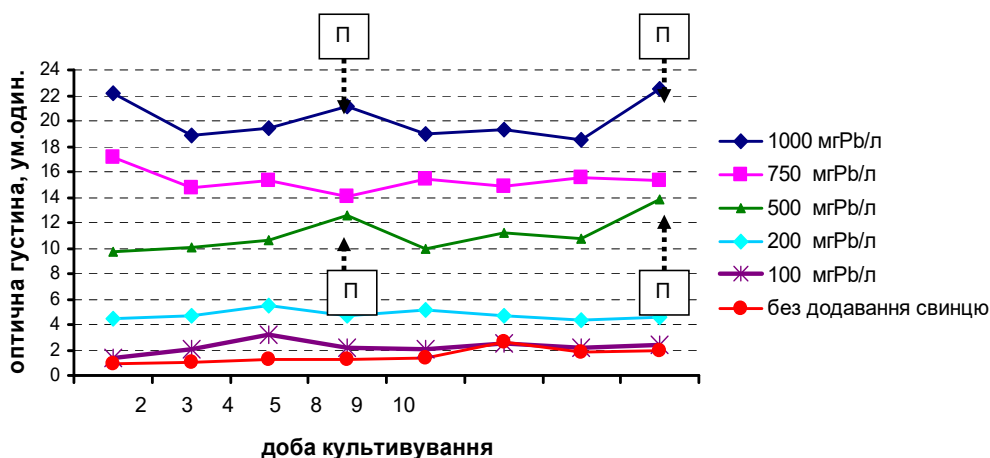


Рис. 3. Криві росту *Pseudonadsoniella brunnea* в умовах впливу різних концентрацій нітрату свинцю.

П – пікове (різке) зростання показників оптичної густини.

Вважаємо, що цей факт може бути пов'язаний із виділенням в середовище темних екзопігментів (мела-

нінів), які синтезує *Ps. brunnea* в умовах впливу солей токсичних металів, як прояв захисної функції мікроорга-

нізму на дію стресового фактору. Підтвердженням нашої думки є дані літератури [13, 16], а також результати експериментів, отримані при вивченні дії біоцидів на мікроскопічні темнопігментовані гриби [17]. Оскільки здатність до синтезу таких метаболітів, як меланінові пігменти, та виділення їх тест-культурою *Ps. brunnea* у культуральне середовище, може зашкодити коректно інтерпретувати результати досліджень з використанням даних оптичної густини, нами було перевірено особливості росту культури *Ps. brunnea* після 10, 14 та 20 діб культивування в умовах впливу токсичних солей свинцю всіх досліджуваних концентрацій (висів на тверді живильні середовища, контроль росту та морфологічних особливостей *Ps. brunnea* в порівнянні з контрольними варіантами). Аналіз отриманих результатів підтверджує збереження життєздатності даної тест-культури в усіх варіантах експерименту. Нами встановлено, що чорні дріжджеподібні гриби *Ps. brunnea* та *Exophiala alcalophila* під впливом солей свинцю зазнають певних морфологічних змін після 10 діб культивування в рідкому середовищі (коли струшування на качалках було припинено): констатовано утворення поряд із дріжджовими клітинами значної кількості псевдоміцеліальних структур для *Ps. brunnea* та розвиток міцелію *E. alcalophila* (прояв диморфізму). В контрольних варіантах (середовища без додавання свинцю) утворення псевдоміцелію та міцелію не відбувалося, спостерігали тільки дріжджові клітини, що брунькуються. За концентрації в середовищі 750–1000 мг Pb^{2+} /л в *Ps. brunnea* спостерігали також значну кількість темно-коричневих клітин збільшених розмірів, подібних до хламідоспор.

Дані наукової літератури свідчать, що закономірності формоутворення клітин мікроскопічних грибів (міцелій (М) \leftrightarrow дріжджі (Д)) можуть віддзеркалювати адаптаційні механізми цих організмів в умовах дії стресових факторів різної природи. Ці форми (міцелій, дріжджі) характеризуються своєю біосинтетичною активністю, різницею у будові та товщині клітинної стінки. Здатність переходити від однієї форми в іншу (М \leftrightarrow Д) вироблена в процесі еволюції як адаптивне пристосування, яке забезпечує грибам найбільш успішну реакцію на зміни умов

середовища існування (температура, іони металів, освітлення тощо). Участь аденілатциклазної та фосфоінозитидної систем у грибів в цих процесах встановлено в дослідженнях з фармакологічними агентами. В роботах Л.К. Паніної [18] показано, що переходи М \rightarrow Д у патогенних чорних дріжджеподібних поліморфних грибів *Exophiala exophialae* (синоніми *Phaeococcomyces exophialae*, *Exophiala dermatitidis*) можуть бути індуковані додаванням в живильне середовище іонів металів (цинку, міді та ін. більше 20 мг/л). Автор робить висновок, що під дією іонів металів в системі виникає нестабільність, яка порушує розвиток грибів у вигляді впорядкованої анізотропної міцеліальної структури та призводить систему до симетричної ізотропної дріжджової форми. При цьому час затримки відгуку біосистеми складає 5–10 діб, що співпадає із отриманими нами результатами (після 10 діб культивування спостерігали утворення псевдоміцелію та міцелію у *Ps. brunnea* та *Exophiala alcalophila*, відповідно). Здатність клітин грибів до переходу М \leftrightarrow Д за умов детермінованих зовнішніх впливів, зокрема іонів металів, можна співставити із звичайним для фізики фазовим переходом, в якому зміна температури заміняється створенням та посиленням таких умов, як зміна концентрації іонів металів в середовищі. Головна відміна наших результатів від викладених вище даних літератури в тому, що під впливом іонів токсичних металів в досліджуваних нами концентраціях у *Pseudonadsoniella brunnea* та *Exophiala alcalophila* нами констатовано протилежний перехід, а саме Д \rightarrow М. Найяскравіше цей процес проявлявся за умов впливу солей свинцю в концентрації 500 мг Pb^{2+} /л. Отже, здатність досліджених тест-культур мікроорганізмів до поліморфних перебудов можна вважати однією із вагомих властивостей, що обумовлює їхню стійкість до впливу таких стресових факторів, як токсичні метали.

В результаті проведених нами досліджень виявлено, що в залежності від концентрації нітрату свинцю, який вносили в середовище, підвищувалася інтенсивність пігментації чорних дріжджеподібних грибів *Ps. brunnea*, (рис. 4).

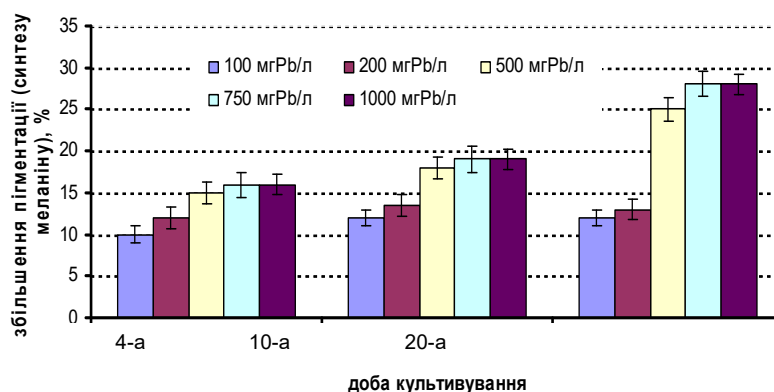


Рис. 4. Інтенсифікація пігментації чорних дріжджеподібних грибів *Pseudonadsoniella brunnea* під впливом нітрату свинцю в залежності від концентрації (у % в порівнянні з контрольним варіантом)

Як видно з рис. 4, внесення солей свинцю у середовище в концентрації 500–1000 мг Pb^{2+} /л на 20-у добу культивування призводить до максимальної інтенсивності синтезу пігментів (меланіну) культурою чорних дріжджеподібних грибів *Ps. brunnea* (25 та 28% відповідно).

Отже, аналіз отриманих результатів підтверджує нашу думку про те, що збільшення значень та наявність характерних пікових показників оптичної густини в порі-

в'язанні із контрольними варіантами (рис. 1,3) пов'язано із виділенням в середовище пігментів меланінової природи, які синтезує *Ps. brunnea*.

В результаті проведених досліджень встановлено, що активність ендо- та екзофосфатаз *Ps. brunnea* різниться від такої в *Exophiala alcalophila* в умовах впливу іонів нітрату свинцю. Так, у стійких до впливу 500 мг Pb^{2+} /л антарктичних чорних дріжджів *Ps. brunnea* актив-

ність екзофосфатаз була нижчою, ніж у *Exophiala alcalophila*. Навпаки, активність ендофосфатаз (кислої

та нейтральної) в таких самих умовах була вищою у *Ps. brunnea* (рис. 5).

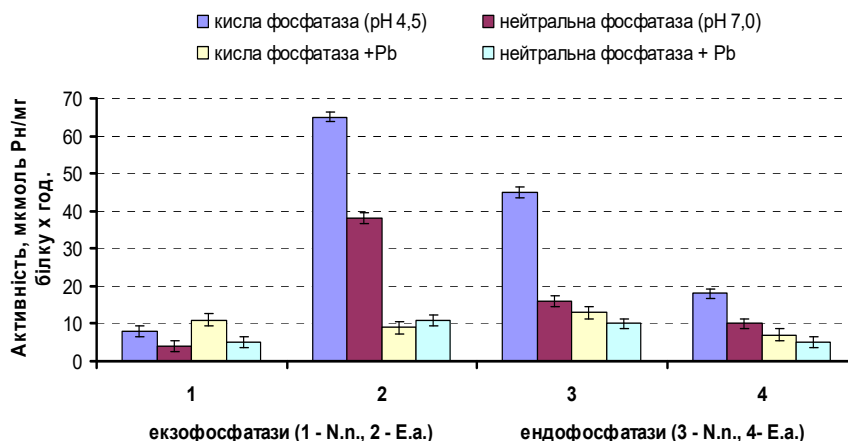


Рис. 5. Активність фосфатаз досліджуваних культур мікроорганізмів *Ps. brunnea* (N. p.) та *Exophiala alcalophila* (E. a.)

Отримані нами дані підтверджують існуючі дані наукової літератури щодо змін фосфатазної активності організмів в умовах впливу стресових факторів [15, 19]. Відомо, що екзофосфати приймають участь у безпосередньому забезпеченні клітин фосфором за рахунок гідролізу екзогенних субстратів, а однією із найважливіших функцій ендофосфатаз грибів є участь в процесі енергозабезпечення організму (участь в поліфосфатному обміні, підтримка рівноваги в системі аденілових нуклеотидів). Щодо поліфосфатів, то дослідження останніх років переконливо доводять, що в життєдіяльності живих організмів важливу роль грають не лише такі добре досліджені біополімери, як білки, нуклеїнові кислоти, полісахариди та деякі речовини ліпідної природи, але і такі порівняно малодосліджені сполуки, як високомолекулярні неорганічні поліфосфати. Встановлено, що високомолекулярні лінійні неорганічні ПФ значно поширені в живих організмах і присутні в клітинах прокариот і еукариот, в тому числі у вищих тварин і рослин. Поліфосфати є невід'ємними компонентами клітин всіх царств живих організмів, і макроергічними сполуками, які відіграють важливу роль в біоенергетиці живих клітин [20, 21], входять до складу комплексів з полі-β-оксімасляною кислотою, регулюючи транспорт іонів та водорозчинних речовин. У нижчих еукариот, існування яких в значній мірі залежить від умов навколишнього середовища, високомолекулярні поліфосфати приймають участь у метаболічному структурному контролі обміну речовин. Проблема біохімічної адаптації живих організмів до умов існування є одною з головних в сучасних біологічних дослідженнях. Дія різноманітних стресових впливів на організм, викликає універсальну адаптивну відповідь, яка проявляється в різноманітних внутрішньоклітинних реакціях і пов'язана із змінами в системі енергозабезпечення організму. Отже, біохімічні механізми, які забезпечують стійкість до дії стресових факторів, енергозалежні. При розгляді фосфорного обміну еукариот особлива увага приділяється реакціям, в яких у якості донорів неорганічного фосфату та енергії виступають нуклеозидтрифосфати. У мікроскопічних грибів має місце переважання високомолекулярних неорганічних поліфосфатів над системою аденілових нуклеотидів. Крім того, показана участь цих сполук не тільки в процесах накопичення та використання енергії, але і в підтриманні іонного балансу, в структурній організації клітинної стінки, в регуляції активності фермен-

тів, які беруть участь в метаболізмі ДНК та РНК, полісахаридів, в регуляції експресії генів, констатовано зміну активності даних ферментів за умов дії різних екстремальних факторів, зокрема під впливом олово- та ртутьорганічних сполук в концентраціях, близьких до сублетальних, збільшується активність ендофосфатаз [15, 19, 22, 23]. Все вище зазначене вказує на поліфункціональність неорганічних ПФ в клітині і можливу значну роль в формуванні механізму адаптації грибів до різноманітних екстремальних умов.

Висновки. Встановлено, що антарктичні мікроорганізми (чорні дріжджоподібні гриби) *Pseudonadsoniella brunnea* не втрачають життєздатності та розвиваються за умов вмісту у середовищі солей свинцю концентрацією 100–1000 мгPb²⁺/л (за катіоном металу).

Одним із механізмів металорезистентності антарктичних мікроорганізмів до впливу солей свинцю може бути включення компонентів фосфатного обміну клітини в процеси адаптації до цього стресового фактору.

Здатність меланінвмісних дріжджоподібних грибів до поліморфних перебудов, інтенсифікація пігментації культурального середовища (біосинтезу меланіну) та зміни у поліфосфатному обміні в бік збільшення активності ендофосфатаз є вагомими властивостями, що обумовлюють їхню металорезистентність (стійкість до впливу таких стресових факторів, як токсичні метали). Отримані дані щодо змін у формуванні *Ps. brunnea* потребують подальших детальних досліджень.

Список використаних джерел

- Kostadinova N., Isolation and Identification of Filamentous Fungi from Island Livingston, Antarctica /N. Kostadinova, E. Krumova, S. Tosi [et al.]// Biotechnology and Biotechnological Equipment, Special Issue: XI Anniversary scientific conference. – 2009. – V. 23, Supplement 1. – P. 267-270. dx.doi.org/10.1080/13102818.2009.10818416
- Margesin R. Characterization of cold-active pectate lyases from psychrophilic *Mrakia frigida*. / R. Margesin, V. Fauster, P.A. Fonteyne // Lett. Appl. Microbiol. – 2005. – 40 (6). – P. 453–459. http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01704.x
- Чернов И.Ю., Марфенина О.Е. Адаптивные стратегии грибов в связи с освоением наземных местообитаний / И.Ю.Чернов, О.Е. Марфенина // Палеопочвы и индикаторы континентального выветривания в истории биосферы. Серия "Гео-биологические системы в прошлом". – М.: ПИН РАН, 2010. – С. 95 – 111.
- Жданова Н.Н. Василевская А.И. Экстремальная экология грибов в природе и эксперименте. – К.: Наукова думка, 1982. – 168 с.
- Нотов А.А. О специфике функциональной организации и индивидуального развития модульных объектов // Журнал общей биологии. – 1999. – Т. 60, № 1. – С. 14 – 32.
- Moore D. Fungal Morphogenesis. – Cambridge University Press, 1998. – 469 p.

7. Таширев А.Б. Антарктические микроорганизмы, устойчивые к высоким концентрациям Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} и CrO_4^{2-} / А.Б. Таширев, В.А. Романовская, И.Б. Сиома [и др.] // *Доповіді НАН України*. – 2008. – № 1. – С. 169-176.
8. Kondratyuk T.O. *Pseudonadsoniella brunnea* (Meripilaceae, Agaricomycotina), a new brown yeast-like fungus producing melanin from the Antarctic; with notes on nomenclature and type confusion of *Nadsoniella nigra*. / T.O. Kondratyuk, S.Y. Kondratyuk, O.O. Morgaienko [et al.] // *Acta Botanica Hungarica*. – 2015, 57(3-4). – P. 291-320. doi: 10.1556/034.57.2015.3-4.5
9. Taburets O.V. The effect of "Melanin-Gel" on the wound healing / O.V. Taburets, O.O. Morgaienko, T.O. Kondratyuk [et al.] // *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.* – 2016. – Vol. 7 (3). – P. 2031-2038.
10. Кондратюк Т. Чорні дріжджеподібні гриби *Exophiala alcalophila* Goto et Sugly із пошкодженого герметика в умовах високої вологості приміщень // *Modern Phytomorphology*. 2013. – № 3. – 225-229.
11. Лозовая О.Г. Токсичность свинца и влияние его на физиологическую активность дрожжей // *Совр. пробл. токсикол.* – 2004. – No2. – С. 60-64.
12. Білоіваненко С.О. Резистентність *Rhodotorula rubra* G2/1 до важких металів та їх адсорбція / С.О. Білоіваненко, А.Є. Бухтіяров // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2013. – №1. – С. 81-88.
13. Скорбина Е.А. Разработка технологии получения и исследование активности меланинодержущих препаратов. Диссертация к.б.н., спец. 03.00.23 – биотехнология., Ставрополь, 2005. – 139 с.
14. Фомина М.А. Влияние света на меланиногенез *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries / М.А. Фомина, Е.Н. Громозова, В.С. Подгорский // *Биополимеры и клетка*. – 1996. – Т.12, № 1. – С. 58-63.
15. Смирнов В.Ф. Активность фосфатаз микроскопических грибов, устойчивых и неустойчивых к действию металлорганических соединений / В.Ф. Смирнов, О.Н. Смирнова, Е.Л. Захарова [и др.] // *Вестник Нижегородского гос. ун-та. Серия Биология*. – 2001. – № 1(2). – С.113-118.
16. Жданова Н.Н. Меланинодержущие грибы в экстремальных условиях. / Н.Н. Жданова, А.И. Василевская – К.: Наукова думка, 1988. – 196 с.
17. Сухаревич В.И. Влияние биоцидов различной природы на синтез пигментов у целлюлозоразрушающих грибов / В.И. Сухаревич, Т.В. Зайцева, Н.Г. Медведева // *Микол. и фитопатол.* – 2000. – 34, Вып. 3. – С. 39 – 42.
18. Панина Л.К. Структурно-функциональная реорганизация микромитозов в процессах формообразования и роста на труднодоступных субстратах. Автореф. диссерт. Д.б.н. 03.00.02 – биофизика. – СПб, 2000. – 30 с.
19. Seufferheld Manfredo J. Role of Polyphosphates in Microbial Adaptation to Extreme Environments. /Manfredo J. Seufferheld, Héctor M. Alvarezand, María E. Farias // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2008. – Vol. 74, no. 19. – P. 5867-5874. doi: 10.1128/AEM.00501-08
20. Кулаев И.С. Высокомолекулярные неорганические полифосфаты: биохимия, клеточная биология, биотехнология. / И.С. Кулаев, В.Н. Вагабов, Т.В. Кулаковская – Москва: Науч. Мир, 2005. – 215 с.
21. Цейслер Ю. Неорганічні поліфосфати як незамінні структурні компоненти живих організмів. /Ю. Цейслер, В. Мартинюк, І. Лук'яненко // *Вісник Київського нац. університету ім. Т. Шевченка. Біологія*. – 2012. – №61. – С. 6 – 10.
22. Перцева А.Д. Влияние экстремальных воздействий на содержание полифосфатов и полифосфатную активность у микромитозов-деструкторов полимерных материалов /А.Д. Перцева, В.Ф. Смирнов, О.В. Воронина // *Микол. и фитопатол.* – 2005. – 39, № 1. – С. 53-58.
23. Кулаковская Е.В. Неорганические полифосфаты и чувствительность клеток *Saccharomyces cerevisiae* к мембраноповреждающим агентам / Е.В. Кулаковская, В.М. Вагабов, А.Ю. Иванов // *Микробиология*. – 2011. – Т 80, № 1. – С. 13 – 17.
- Microbiol. – 2005. – 40 (6). – P. 453-459. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01704.x>
3. Чернов И.Ю., Марфенина О.Е. Адаптивные стратегии грибов в связи с освоением наземных местообитаний // *Палеоочовы и индикаторы континентального выветривания в истории биосферы. Серия "Геобиологические системы в прошлом"*. – М.: ПИН РАН, 2010. – С. 95 – 111.
4. Жданова Н.Н. Василевская А.И. Экстремальная экология грибов в природе и эксперименте. – К.: Наукова думка, 1982. – 168 с.
5. Нотов А.А. О специфике функциональной организации и индивидуального развития модульных объектов // *Журнал общей биологии*. – 1999. – Т. 60, № 1. – С. 14 – 32.
6. Moore D. *Fungal Morphogenesis*. – Cambridge University Press, 1998. – 469 p.
7. Таширев А.Б. В.А. Романовская, И.Б. Сиома [и др.] Антарктические микроорганизмы, устойчивые к высоким концентрациям Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} и CrO_4^{2-} // *Доповіді НАН України*. – 2008. – № 1. – С. 169-176.
8. Kondratyuk T.O., S.Y. Kondratyuk, O.O. Morgaienko [et al.] *Pseudonadsoniella brunnea* (Meripilaceae, Agaricomycotina), a new brown yeast-like fungus producing melanin from the Antarctic; with notes on nomenclature and type confusion of *Nadsoniella nigra*.// *Acta Botanica Hungarica*. – 2015, 57(3-4). – P. 291-320. doi: 10.1556/034.57.2015.3-4.5
9. Taburets O.V., O.O. Morgaienko, T.O. Kondratyuk [et al.] The effect of "Melanin-Gel" on the wound healing // *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.* – 2016. – Vol. 7 (3). – P. 2031-2038.
10. Кондратюк Т. Чорні дріжджеподібні гриби *Exophiala alcalophila* Goto et Sugly із пошкодженого герметика в умовах високої вологості приміщень // *Modern Phytomorphology*. 2013. – № 3. – 225-229.
11. Лозовая О.Г. Токсичность свинца и влияние его на физиологическую активность дрожжей // *Совр. пробл. токсикол.* – 2004. – No2. – С. 60-64.
12. Білоіваненко С.О. Резистентність *Rhodotorula rubra* G2/1 до важких металів та їх адсорбція / С.О. Білоіваненко, А.Є. Бухтіяров // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2013. – №1. – С. 81-88.
13. Скорбина Е.А. Разработка технологии получения и исследование активности меланинодержущих препаратов. Диссертация к.б.н., спец. 03.00.23 – биотехнология., Ставрополь, 2005. – 139 с.
14. Фомина М.А. Влияние света на меланиногенез *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries / М.А. Фомина, Е.Н. Громозова, В.С. Подгорский // *Биополимеры и клетка*. – 1996. – Т.12, № 1. – С. 58-63.
15. Смирнов В.Ф. Активность фосфатаз микроскопических грибов, устойчивых и неустойчивых к действию металлорганических соединений / В.Ф. Смирнов, О.Н. Смирнова, Е.Л. Захарова [и др.] // *Вестник Нижегородского гос. ун-та. Серия Биология*. – 2001. – № 1(2). – С.113-118.
16. Жданова Н.Н. Меланинодержущие грибы в экстремальных условиях. / Н.Н. Жданова, А.И. Василевская – К.: Наукова думка, 1988. – 196 с.
17. Сухаревич В.И., Т.В. Зайцева, Н.Г. Медведева Влияние биоцидов различной природы на синтез пигментов у целлюлозоразрушающих грибов // *Микол. и фитопатол.* – 2000. – 34, Вып. 3. – С. 39 – 42.
18. Панина Л.К. Структурно-функциональная реорганизация микромитозов в процессах формообразования и роста на труднодоступных субстратах. Автореф. диссерт. Д.б.н. 03.00.02 – биофизика. – СПб, 2000. – 30 с.
19. Seufferheld Manfredo J. Role of Polyphosphates in Microbial Adaptation to Extreme Environments. /Manfredo J. Seufferheld, Héctor M. Alvarezand, María E. Farias // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2008. – Vol. 74, no. 19. – P. 5867-5874. doi: 10.1128/AEM.00501-08
20. Кулаев И.С. Высокомолекулярные неорганические полифосфаты: биохимия, клеточная биология, биотехнология. / И.С. Кулаев, В.Н. Вагабов, Т.В. Кулаковская – Москва: Науч. Мир, 2005. – 215 с.
21. Цейслер Ю. Неорганічні поліфосфати як незамінні структурні компоненти живих організмів. /Ю. Цейслер, В. Мартинюк, І. Лук'яненко // *Вісник Київського нац. університету ім. Т. Шевченка. Біологія*. – 2012. – №61. – С. 6 – 10.
22. Перцева А.Д. В.Ф. Смирнов, О.В. Воронина Влияние экстремальных воздействий на содержание полифосфатов и полифосфатную активность у микромитозов-деструкторов полимерных материалов // *Микол. и фитопатол.* – 2005. – 39, № 1. – С. 53-58.
23. Е.В. Кулаковская, В.М. Вагабов, А.Ю. Иванов Неорганические полифосфаты и чувствительность клеток *Saccharomyces cerevisiae* к мембраноповреждающим агентам // *Микробиология*. – 2011. – Т 80, № 1. – С. 13 – 17.

Надійшло до редколегії 15.11.16

Т. Кондратюк, канд. биол. наук, В. Собко, канд. биол. наук, Т. Береговая, д-р биол. наук, проф.,
Л. Остапченко, д-р биол. наук, проф.,
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ПРОДУЦЕНТА МЕЛАНИНА *PSEUDONADSONIELLA BRUNNEA* В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ НИТРАТА СВИНЦА

Исследованы особенности развития антарктических черных дрожжеподобных грибов *Pseudonadsoniella brunnea* (продуцента меланина) в условиях влияния тяжелых металлов (солей свинца). Установлено, что *Ps. brunnea* сохраняет жизнеспособность и развивается в условиях содержания в питательной среде нитрата свинца в концентрации 100, 200, 500, 750 та 1000 мг/л (в пересчете на катион металла). Культивирование *Ps. brunnea* проводили на плотных (агаризованных) и жидких питательных средах. В работе использовали спектрофотометрические методы исследований. Интенсивность синтеза меланина черными грибами под влиянием нитрата свинца определяли в процентном соотношении, сравнивая с контрольным вариантом (без внесения металла). Показано, что под влиянием тяжелых металлов происходят морфологические изменения *Ps. brunnea*. При концентрации 500–1000 мг/л Pb^{2+} наблюдается увеличение пигментации исследованных культур (биосинтеза меланина). Установлено, что при условии развития под влиянием

токсических металлов у антарктических черных дрожжеподобных грибов *Ps. brunnea* увеличивается активность эндофосфатаз (кислой и нейтральной). Полученные характеристики можно считать важными свойствами, которые обуславливают стойкость *Ps. brunnea* к воздействию таких стрессовых факторов, как токсические металлы.

Ключевые слова: антарктические микроорганизмы, тяжелые металлы, металлорезистентность, интенсификация меланиногенеза, активность эндофосфатаз.

T. Kondratiuk, PhD., V. Sobko, PhD., T. Beregova, DSc., L. Ostapchenko, DSc
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

FEATURES OF MELANIN PRODUCER PSEUDONADSONIELLA BRUNNEA UNDER THE INFLUENCE OF NITRATE LEAD

The features of Antarctic black yeast fungus *Pseudonadsoniella brunnea* (melanin producer) under the influence of heavy metals (lead salts) are studied. It is found that *Ps. brunnea* does not lose viability and developing under the conditions of nitrate content of lead concentrations of 100, 200, 500, 750 and 1000 mg / l (in terms of metal cation) in the environment. Solid and liquid culture media were used for the cultivation of *Ps. brunnea*. Spectrophotometric research methods were used within this study. The intensity of the synthesis of melanin by black fungi under the influence of lead nitrate was determined as a percentage relative to the control variant (media without adding metal). Indicated that *Ps. brunnea* undergoes morphological changes under exposure to heavy metals. Increasing in pigmentation of cultures studied (melanin biosynthesis) was observed with the concentration of 500-1000 mg / l Pb²⁺. Increased activity endofosfataz (acidic and neutral) in Antarctic black yeast fungi *Ps. brunnea* in conditions of the development under the influence of toxic metals is also shown. The described parameters can be considered as significant properties that contribute to the stability of *Ps. brunnea* to the effects of stress factors such as toxic metals.

Keywords: Antarctic microorganisms, heavy metals, metal resistance, intensification of melanogenesis, the activity of endogenous phosphatases.

УДК 612.82/.83; 612.821

А. Охрей, асп., Т. Куценко, канд. біол. наук, М. Макачук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ВПЛИВ ЗАНЯТЬ МУЗИКОЮ НА ВИКОНАННЯ ПРЯМОГО І ЗВОРОТНОГО ТЕСТІВ СТРУПА

Оцінено роботу системи уваги за виконанням прямого і зворотного тестів Струпа у музикантів і немужикантів. Обстежуваними були студенти Національної музичної академії ім. П.Чайковського (музиканти) та їх ровесники з ННЦ "Інститут біології та медицини" без музичного досвіду (немужиканти). Обстежувані проходили прямий та зворотний тести Струпа з наданням відповідей обома руками. При прямому тесті Струпа ефект інтерференції проявлявся в обох групах для обох рук. За результатами аналізу конгруентних стимулів музиканти не мали моторної асиметрії, а їх відповіді були швидшими, ніж у немужикантів. Неконгруентні стимули збільшували кількість помилок обох рук у немужикантів, а у музикантів – лише лівої руки. При зворотному тесті Струпа ефект інтерференції у немужикантів виявлявся для обох рук, у музикантів – тільки для лівої. Загальна кількість помилок не відрізнялася між групами. Музиканти і немужиканти мають однакову ефективність роботи системи уваги за загальною кількістю помилок. Неконгруентні стимули приводять до посилення когнітивного контролю лівої півкулі і появу моторної асиметрії у музикантів. У немужикантів прояв асиметрії виявлений під час аналізу і конгруентних, і неконгруентних стимулів.

Ключові слова: музиканти, немужиканти, прямий тест Струпа, зворотний тест Струпа.

Вступ. Накопичується все більше наукових даних, які свідчать про те, що вплив занять музикою на нервову систему людини є комплексним: він не обмежується лише змінами, які лежать в основі формування професійних навичок музиканта, а "передається" й на інші психо- і нейрофізіологічні функції, які можуть і не бути безпосередньо зв'язаними з музичними здібностями. Зокрема встановлено, що музиканти, у порівнянні з обстежуваними без музичного досвіду (немужикантами), мають переваги в когнітивних завданнях, демонструючи вищі результати в тестах на вербальну [1] та оперативну пам'ять [2, 3], у вирішенні математичних [4, 5, 6] і візуально-просторових задач [7], мають вищий показник IQ тощо [8, 9]. Зазначимо, що розуміння впливу занять музикою на когнітивну сферу людини (пам'ять, увагу) може стати перспективним напрямком з точки зору реабілітаційної і педагогічної практики [10], проте даний вплив є предметом дискусій і до кінця не вивчений.

У попередніх дослідженнях ми з'ясували, що музиканти не мали міжпівкульної різниці в часі появи компонентів N2, P3, N3 викликаних потенціалів головного мозку на тонові сигнали, у той час як у немужикантів зазначені піки у лівій півкулі мали довший латентний період (ЛП), ніж у правій [11], тобто виявлялася міжпівкульна асиметрія. Крім того, компонент P3 у лівій півкулі немужикантів виявлявся пізніше, ніж у музикантів, що, ймовірно, вказує на більш швидку оцінку стимулу у представників останньої групи. Подібні результати були також виявлені нами під час тестування ефекту Струпа з визначенням просторової локалізації стимулів – музиканти досягали значуще коротшого часу експозиції подразників, ніж немужиканти, що свідчить на користь бі-

льшої швидкості аналізу стимулів в обстежуваних з музичним досвідом [12]. Ми припускаємо, що під час виконання когнітивних завдань у музикантів прояв функціональної асиметрії є меншим, ніж у немужикантів, що, можливо, є основою кращого виконання тестів обстежуваними цієї групи. Для подальшого з'ясування нашого припущення у даному дослідженні ми вирішили застосувати прямий і зворотний тести Струпа [13], які вважаються одними із еталонних тестів для оцінки системи спрямованої уваги та ефекту інтерференції [14]. Методика, яка була застосована в даному дослідженні, є комп'ютеризованою модифікацією цього тесту і передбачає надання відповідей обома руками, що дозволяє прослідкувати прояв міжпівкульної асиметрії під час тестування.

Суть тесту Струпа полягає у поданні обстежуваним слів, що означають назви кольорів (наприклад, "ЗЕЛЕНИЙ"). Ці слова можуть бути висвітлені як "своїм" кольором (конгруентні подразники), так і мати інше забарвлення, яке не співпадає з семантичним значенням пред'явленого слова (неконгруентний подразник). Конгруентні подразники аналізуються швидше і з меншою кількістю помилок, ніж неконгруентні. Це явище називається ефектом Струпа, або ефектом інтерференції. Не дивлячись на свою простоту, механізми, що лежать в основі виникнення даного ефекту, є до кінця нез'ясованими. З психофізіологічної точки зору ефект Струпа може бути пояснений конкуренцією двох потоків інформації, які призводять до появи конфліктуючих відповідей [15]. Щоб невірна відповідь не надалася, необхідна активація пригнічення нерелевантної інформації і посилення впливу інформації, необхідної в даний момент для виконання завдання [16, 17]. Поява конкуренції між