

*M. V. Kaskyv, M. O. Klymenko, A. M. Prishepa*

Rivne State University of Humanities, Ukraine

National University of Water Management and Nature Resources, Ukraine

**ECOLOGICAL AND GENETIC ANALYSIS OF CELLS OF THE ORAL MUCOSA FOR MICRONUCLEUS TEST PRESCHOOL CHILDREN IN THE CITY OF RIVNE**

The article considers the problem of the influence of air pollution on the incidence of the condition of different age groups of the population of the city.

The application of the micronucleus test in cytogenetic monitoring system. The regularities of genetic changes in cells of the mucous membrane in the mouth of preschool children in parts of Rovno with different levels of anthropogenic impact.

Found that cytogenetic status of the body of the child worsens with increasing levels of anthropogenic load on the environment. Set level of genetic risk to humans from exposure to harmful environmental factors, taking into account environmental mutagens and the genetic health of the population.

The prospect of further research should be considered as the study of the chemistry of the air in some regions of Rivne and especially in the areas of industrial enterprises and streets with heavy traffic area.

*Keywords: intensity of the flow of vehicles, micronucleus test, epithelial cells, the concentration of (CO), atmospheric air*

Рекомендує до друку

Надійшла 25.12.2014

В. В. Грубінко

УДК 633.367:632.3

**В. В. КРУТЬ, Л. А. ДАНКЕВИЧ, С. К. ВОЦЕЛКО, В. П. ПАТИКА**

Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України

вул. Заболотного, 154, Київ, Д 03680

**СПОРОУТВОРЕННЯ І СИНТЕЗ БІЛКА В ІЗОЛЬОВАНИХ ШТАМІВ *BACILLUS THURINGIENSIS* ЗА ДІЇ ЛИПКОГЕННИХ КОМПОЗИЦІЙ**

Вивчено вплив різних липкогенних композицій на процеси спороутворення та синтезу білка штамми *B. thuringiensis*. Показано, що найкраще на процеси синтезу білка та спороутворення у досліджених штамів *B. thuringiensis* впливає додавання у середовище культивування липкогенних композицій А та Е в концентрації від 10 до 15%. Виявлено, що найбільш ефективними за даними характеристиками виявилися штами *B. thuringiensis* 5, 6, 8 та 9.

*Ключові слова: ізольовані штами B. thuringiensis, тип спор, синтез білка, липкогенні композиції*

Екологічна ситуація у всьому світі викликає тривогу і закономірним є прагнення до одержання екологічно безпечної сільськогосподарської продукції та збереження навколишнього середовища. У зв'язку з тим, що біопрепарати на основі мікроорганізмів є абсолютно безпечними для здоров'я людей і навколишнього середовища, їх використання - невід'ємний аспект сучасного агропромисловництва. Сільгосппродукція, отримана за допомогою біопрепаратів, є не тільки екологічно безпечною, а й економічно більш доцільнішою. У рослинництві такі біопрепарати як інокулянти, біологічні протруйники, фунгіциди, бактерициди, інсектициди, родентициди, допомагають ефективно вирішити всі ті ж проблеми, які вирішують за допомогою хімічних аналогів, але роблять це набагато більш якісно і менш вартісно, а головне – безпечно для навколишнього середовища. Достатньо тривалий період у якості біопрепаратів використовують різні штами *B. thuringiensis*, що мають інсектицидну дію на комах рядів Лускокрилі, Двокрилі та

Жорсткокрилі [10]. Як правило, застосовуються рідкі препаративні форми *B. thuringiensis*, що мають ряд недоліків. Створення нових препаративних форм мікробних препаратів, зокрема введення до їх складу геліних компонентів має не тільки збільшувати термін їх зберігання, але і підвищувати адгезивні властивості біоагентів [2].

Попередньо, нами спільно з колегами, вивчена і встановлена ефективність та доцільність використання різних липкогенних композицій на основі вітчизняного прилипача біологічного походження ЕПАА для створення гелевих форм різних мікробних препаратів [2, 5, 6, 8], в тому числі і на основі колекційних штамів *B. thuringiensis* [4]. Але, зважаючи на штамову гетерогенність представників даного виду [9], неухильне зростання інтересу до продукції органічного походження та тотальне забруднення агроєкосистем отрутохімікатами пошук нових ефективних штамів продуцентів біоінсектицидів та всебічне дослідження їх властивостей набуває все більшої актуальності. Саме тому, метою наших досліджень було вивчення впливу різних липкогенних композицій на основі препарату ЕПАА-М на рівень синтезу білка та титр спор ізольованими нами штамми *B. thuringiensis*

### Матеріал і методи досліджень

Під час виконання даних досліджень використано 9 нових штамів ізольованих нами із внутрішніх тканин личинок колорадського жука (*Leptinotarsa decemlineata*, ряд *Coleoptera*) та американського білого метелика (*Huphantria cunea Dryri*, ряд *Lepidoptera*), з наступним їх накопиченням в чистій культурі на картопляному агарі (КА). Скринінг комах проводили на полях приватних господарств та на науково-дослідних установах, що не піддаються обробці хімічними чи біологічними інсектицидними препаратами, на території Київської, Черкаської, Житомирської областей та АР Крим. У роботі використали наступні липкогенні композиції: А–30% ЕПАА-М та 70% ксампану, Е–30% композиції В (70% ЕПАА-М та 30% ксампану) та 70% ксампану. Для розробки липкогенних композицій використовували модифікований сополімер ЕПАА-М отриманий шляхом полімеризації акриламідів і полісахариду ксантану в присутності окислювача та цільової добавки діаміну вугільної кислоти, що перешкоджає його забрудненню супутньою мікрофлорою при зберіганні [7]. Кінцева концентрація гелю липкогенних композицій дорівнювала 5,5%. Досліджувані штами культивували у мінеральному середовищі Омелянського з 3% вмістом глюкози та різних концентрацій липкогенних композицій протягом 3 діб за швидкості 210 об/хв.

Кількість білка визначали спектрофотометричним методом за поглинанням в УФ, з наступним обрахуванням істинної кількості білка [3]. Визначення титру бактерій у зразках проводили у камері Тома-Горяєва за стандартною методикою [1].

### Результати досліджень та їх обговорення

Попередньо нами показано, що найкраще на продукування спор та синтез білка колекційними штамми *B. thuringiensis* впливає додавання до середовища культивування липкогенних композицій Е та А [40]. Саме тому дані композиції і були включені у подальші дослідження. В ході досліджень встановлена гетерогенність досліджуваних штамів *B. thuringiensis* за кількістю синтезованого білка та титром спор. Виявлено, що найвищі рівні спороутворення спостерігаються у ізольованих нами штамів *B. thuringiensis* 5, 8 та 9 за умов їх культивування на синтетичному середовищі Омелянського з додаванням різних концентрацій липкогенних композицій А та Е. Зокрема, найкраще на процес спороутворення у всіх досліджуваних штамів *B. thuringiensis* впливає додавання 15% композиції А та від 10 до 15% композиції Е, що узгоджується з одержаними нами раніше аналогічними даними для колекційних штамів *B. thuringiensis*.

Так, додавання до середовища культивування 15% липкогенної композиції А збільшує кількість спор, що продукуються *B. thuringiensis* 5, 8 та 9 на 13,4-20,9%, а введення до середовища культивування від 10 до 15% липкогенної композиції Е покращує аналогічні показники у даних штамів на 9,2%-15 % (табл. 1, 2).

Залежність процесу спороутворення у ізольованих еталонного штаму *Bacillus thuringiensis* 98 від присутності у поживному середовищі різних концентрацій липкогенної композиції А

Рівень спороутворення у штамів <i>B. thuringiensis</i> , кл/мл	Концентрація липкогенної композиції у середовищі, %				
	5	10	15	20	Контроль
<i>B. thuringiensis</i> 1	$6,4 \cdot 10^8$	$6,8 \cdot 10^8$	$6,8 \cdot 10^8$	$6,3 \cdot 10^8$	$6,3 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 2	$6,5 \cdot 10^8$	$6,6 \cdot 10^8$	$6,6 \cdot 10^8$	$6,3 \cdot 10^8$	$6,5 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 3	$4,5 \cdot 10^8$	$4,7 \cdot 10^8$	$4,7 \cdot 10^8$	$4,6 \cdot 10^8$	$4,5 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 4	$6,6 \cdot 10^8$	$6,9 \cdot 10^8$	$7,0 \cdot 10^8$	$6,8 \cdot 10^8$	$6,5 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 5	$6,9 \cdot 10^8$	$7,2 \cdot 10^8$	$7,1 \cdot 10^8$	$6,8 \cdot 10^8$	$6,5 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 6	$6,4 \cdot 10^8$	$6,6 \cdot 10^8$	$6,6 \cdot 10^8$	$6,5 \cdot 10^8$	$6,4 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 7	$3,9 \cdot 10^8$	$4,1 \cdot 10^8$	$4,1 \cdot 10^8$	$3,8 \cdot 10^8$	$3,8 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 8	$7,2 \cdot 10^8$	$7,5 \cdot 10^8$	$7,6 \cdot 10^8$	$7,1 \cdot 10^8$	$6,7 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 9	$7,2 \cdot 10^8$	$7,7 \cdot 10^8$	$7,7 \cdot 10^8$	$7,7 \cdot 10^8$	$6,7 \cdot 10^8$

Таблиця 2

Залежність процесу спороутворення у ізольованих еталонного штаму *Bacillus thuringiensis* 98 від присутності у поживному середовищі різних концентрацій липкогенної композиції Е

Рівень спороутворення у штамів <i>B. thuringiensis</i> , кл/мл	Концентрація липкогенної композиції у середовищі, %				
	5	10	15	20	Контроль
<i>B. thuringiensis</i> 1	$6,5 \cdot 10^8$	$6,6 \cdot 10^8$	$6,5 \cdot 10^8$	$6,6 \cdot 10^8$	$6,3 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 2	$6,6 \cdot 10^8$	$6,6 \cdot 10^8$	$6,8 \cdot 10^8$	$6,6 \cdot 10^8$	$6,5 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 3	$4,6 \cdot 10^8$	$4,6 \cdot 10^8$	$4,9 \cdot 10^8$	$4,5 \cdot 10^8$	$4,5 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 4	$6,8 \cdot 10^8$	$7,0 \cdot 10^8$	$7,0 \cdot 10^8$	$6,7 \cdot 10^8$	$6,5 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 5	$7,1 \cdot 10^8$	$7,3 \cdot 10^8$	$7,5 \cdot 10^8$	$7,1 \cdot 10^8$	$6,5 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 6	$6,6 \cdot 10^8$	$6,7 \cdot 10^8$	$6,8 \cdot 10^8$	$6,4 \cdot 10^8$	$6,4 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 7	$4,1 \cdot 10^8$	$4,4 \cdot 10^8$	$4,2 \cdot 10^8$	$4,2 \cdot 10^8$	$3,8 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 8	$7,2 \cdot 10^8$	$7,6 \cdot 10^8$	$7,6 \cdot 10^8$	$7,2 \cdot 10^8$	$6,7 \cdot 10^8$
<i>B. thuringiensis</i> 9	$7,1 \cdot 10^8$	$7,9 \cdot 10^8$	$8,1 \cdot 10^8$	$7,9 \cdot 10^8$	$6,7 \cdot 10^8$

Слід відмітити, що введення у середовище культивування від 10 до 15% липкогенних композицій А та Е також позитивно впливає на продукування білка усіма ізольованими штамми *B. thuringiensis*. Зокрема, додавання до середовища культивування від 10 до 15% липкогенної композиції А збільшує кількість білка у всіх ізольованих штамів від 9,27% до 99,6% порівняно з контролем (рис. 1), а аналогічне введення у середовище культивування від 10 до 15% липкогенної композиції Е підвищує рівень білкового синтезу від 9,5 до 51,7% від контрольних показників (рис. 2). Включення склав лише штам *B. thuringiensis* 7 у якого спостерігається зменшення продукції білка при додаванні від 15 до 20% липкогенної композиції А у середовище культивування.

Крім того, нами відмічено, що штамми *B. thuringiensis* 5, 8 та 9 не завжди синтезують найвищі рівні білка. Так, при введенні у середовище культивування усіх концентрацій липкогенних композицій достатньо не поганий загальний рівень синтезу білка має штам *B. thuringiensis* 6 (рис. 1, 2).

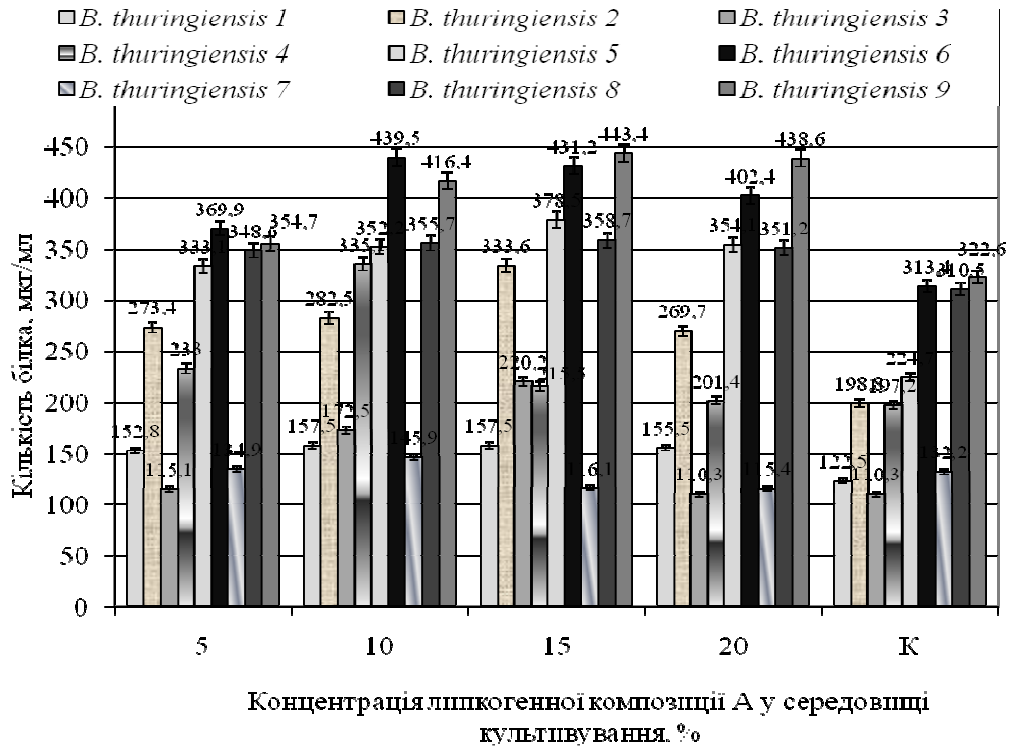


Рис. 1. Синтез білка ізольованими штамами *Bacillus thuringiensis* за присутності в поживному середовищі липкогенної композиції А.

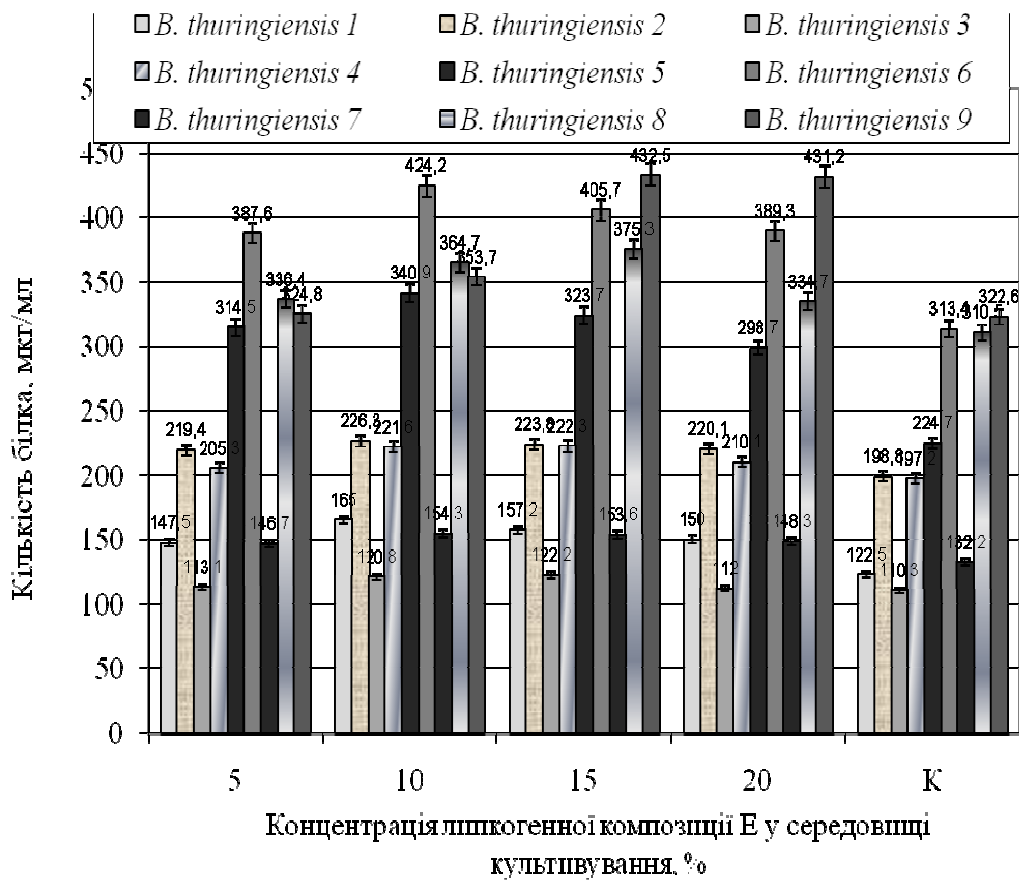


Рис. 2. Синтез білка ізольованими штамами *Bacillus thuringiensis* за присутності в поживному середовищі липкогенної композиції Е.

**Висновки**

Отже, найкраще на процеси синтезу білка та спороутворення у досліджених штамів *B. thuringiensis* впливає додавання у середовище їх культивування липкогенних композицій А та Е в концентрації від 10 до 15%. Крім того, як і у випадку з колекційними штамми нами показано, що рівень продукції білка ізольованими штамми і титр спор є варіабельною ознакою. Тобто, найбільш перспективними за даними ознаками виявилися штами *B. thuringiensis* 5, 8 та 9 та *B. thuringiensis* б. Але, остаточно про перспективність даних штамів можна буде говорити після дослідження решти їх фенотипових властивостей зокрема ентомотоксичності, фітотоксичності тощо.

1. Аникиев В.В. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / В.В. Аникиев, К.А. Лукомская. — Второе изд. — М. «Просвещение», 1983. — 52 с.
2. Каменева І.А. Перспектива розробки гельних препаратів на основі агрономічно корисних мікроорганізмів / [Каменева І.А., Грітччина Л.Ю., Мельничук Т.М. та ін.] // Матеріали XII з'їзду Товариства мікробіологів України ім. С.М.Виноградського (25-30 травня 2009р.) — Ужгород: Ужгородський національний університет, — 2009. — С. 376.
3. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. Учебное пособие для студентов биологических специальностей / Г.А. Кочетов. — М., «Высшая школа», 1971. — 352 с.
4. Круть В.В. Вплив різних липкогенних композицій на спороутворення та синтез білка колекційними штамми *Bacillus thuringiensis* / [Круть В.В., Данкевич Л.А., Воцелко С.К., Патица В.П.] // Мікробіол. журн. — 2014. — Т. 76, № 5. — С. 34—41.
5. Литвинчук О.А. Характеристика новой гелевой композиции на основе ЭПАА и *Pantoea agglomerans* / [Литвинчук О.А., Воцелко С.К., Пасічник Л.А., Патица В.П.] // Материалы VII Международной конференции «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии» (Минск 31 мая-4 июня 2010 г) — Минск, Беларусь, — 2010. — С. 457—459.
6. Патент України UA 89120 C12 №1/00, А 01С 1/00 Композиція для інокуляції насіння бобових рослин на основі бульбочкових бактерій та липко гена ЕПАА / Леонова Н.О., Воцелко С.К., Титова Л.В., Грегало І.С., Іутинська Г.О., Патица В.П. // Опубл.25.12.2009. — Бюл. № 24.
7. Патент України на корисну модель UA 60637, C08F 120/00 Спосіб одержання легкорозчинного співполімеру поліакриламід (ЕПАА-М) / Воцелко С.К., Гнідець В.П., Данкевич Л.А., Литвинчук О.О., Патица В.П. // Опубл. 25.06.2011 — Бюл. № 12.
8. Титова Л.В. Роль липкогенних компонентів в підвищенні фізіологічної активності ризобій і продуктивності соєво-ризобіального / [Титова Л.В., Бровко І.С., Леонова Н.О. та ін.] // Мікробіол. журн. — 2012. — 74, № 6. — С. 9—16.
9. Hernandez C.S. Correlation between serovars of *Bacillus thuringiensis* and type I  $\beta$ -exotoxin production / [Hernandez C.S., Martinez C., Porcar M., Caballero P., Ferre J.] // J. Invertebr Pathol. — 2003. — 82, N 1. — P. 57—62.
10. Ibrahim M.A. A. *Bacillus thuringiensis*. A genomic and proteomics perspective / [Ibrahim M.A., Griko N., Junker M., Bulla L.] // Bioengineered bugs. — 2010. — N 1. — P. 31—50.

*В. В. Круть, Л. А. Данкевич, С. К. Воцелко, В. Ф. Патица*

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины

**СПОРООБРАЗОВАНИЕ И СИНТЕЗ БЕЛКА У ИЗОЛИРОВАННЫХ ШТАМОВ *BACILLUS THURINGIENSIS* ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛИПКОГЕННЫХ КОМПОЗИЦИЙ**

Изучено влияние различных липкогенных композиций на процессы спорообразования и синтеза белка изолированными штаммами *B. thuringiensis*. Показано, что лучше всего на процессы синтеза белка и спорообразования у исследованных штаммов *B. thuringiensis* влияет добавление в среду культивирования липкогенных композиций А и Е в концентрации от 10 до 15%. Определено, что наиболее эффективными по данным признакам оказались штаммы *B. thuringiensis* 5, 6, 8 и 9.

*Ключевые слова:* изолированные штаммы *B. thuringiensis*, титр спор, синтез белка, липкогенные композиции

V. V. Krout, L. A. Dankevych, S. K. Votselko, V. P. Palyka

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine

## PROCESSES OF SPORULATION AND PROTEIN SYNTHESIS IN ISOLATED *BACILLUS THURINGIENSIS* STRAINS UNDER DIFFERENT STICKY-GENE COMPOSITION EFFECT

The influence of different sticky-gene composition on sporulation and protein synthesis by *B. thuringiensis* isolated strains has been investigated. It has been shown that the *best on protein synthesis processes and sporulation by investigated B. thuringiensis strains influences adding to the culture medium sticky-gene compositions A and E in a concentration of from 10 to 15%*. It has been found that the most effective according this characteristics were *B. thuringiensis* isolated strains 5, 6, 8 and 9.

*Keywords: B. thuringiensis isolated strains, spores titer, protein synthesis, sticky-gene composition*

Рекомендує до друку

Надійшла 12.12.2014

В. В. Грубінко

УДК 576.54

<sup>1</sup>С. В. ОПЕЙДА, <sup>1</sup>Л. М. СКІВКА, <sup>2</sup>О. Г. ФЕДОРЧУК, <sup>3</sup>Н. М. ХРАНОВСЬКА,  
<sup>1</sup>В. В. ПОЗУР, <sup>1</sup>М. П. РУДИК, <sup>1</sup>Н. В. СЕНЧИЛО, <sup>1</sup>В. В. ШЕПЕЛЕВИЧ,  
<sup>1</sup>В. М. СВЯТЕЦЬКА

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології»  
пр-т Академіка Глушкова, 2, Київ, 03022

<sup>2</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України  
вул. Васильківська, 45, Київ, 03022

<sup>3</sup>Національний інститут раку  
вул. Михайла Ломоносова, 33/43, Київ, 03022

## ВПЛИВ РОСТУ КАРЦИНОМИ ЛЕГЕНІ ЛЬЮЇС НА ЦИТОТОКСИЧНУ АКТИВНІСТЬ ЕФЕКТОРІВ ВРОДЖЕНОГО ІМУНІТЕТУ

Природні кілерні клітини та клітини моноцитарно-макрофагального ряду є ефекторними клітинами природного імунітету, яким належить важлива роль у протипухлинній резистентності організму. Розвиток пухлинного процесу асоціюється з порушенням кількісних і функціональних показників цих клітин, характер якого досліджено недостатньо.

Метою роботи було дослідити вплив росту карциноми легені Льюїс на цитотоксичну активність ефекторів вродженого імунітету. Дослідження проводили на мишах лінії C57Bl/6. Визначали цитотоксичну активність лімфоїдних клітин селезінки МТТ-колориметричним методом, киснезалежний метаболізм мононуклеарних фагоцитів методом проточної цитофлюориметрії та вНСТ-тесті. Ріст LLC асоціювався зі зниженням цитолітичної активності мононуклеарних лейкоцитів селезінки мишей проти пухлинних клітин різного ступеню чужорідності, не викликав порушень екзоцитозу реактивних форм кисню, супроводжувався пригніченням внутрішньоклітинного оксидативного метаболізму і відсутністю функціонального резерву киснезалежної цитотоксичності мононуклеарних фагоцитів.

*Ключові слова: карцинома легені Льюїс, цитотоксична активність, природні кілерні клітини, киснезалежний метаболізм, циркулюючі фагоцити, перитонеальні макрофаги*

Досягнення в розумінні функціонування протипухлинної імунної відповіді та біології раку розкрили складну взаємодію ефекторів вродженого імунітету пухлинних клітин [9]. Гуморальна клітинно-опосередкована імунна відповідь на пухлино-специфічні або пухлино-асоційовані антигени, участь мононуклеарних фагоцитів та природних кілерних клітин (NK) у