

6. Ehlken S., Kirchner G. Seasonal variations in soil-to-grass transfer of fallout strontium and cesium and potassium in North German soils // J. Environ. Radioact. – 1996. – **33**. – P. 147–181.
7. Nisbet A. F., Konoplev A. V., Shaw G. et al. Application of Fertilizers and Ameliorants to Reduce Soil to Plant Transfer of Radiocaesium and Radiostrontium in the Medium to Long Term a Summary // Sci. Total Environment. – 1993. – **137**. – P. 173–182.
8. Пророк В. В., Масон К. Ф. В., Тимофеев С. Ф. та ін. Стронцій-кальцієве відношення для стабільних стронцію та кальцію у рослині та у ґрунтового розчині // Вісн. Київ. ун-ту. Сер. Фіз.-мат. науки. – 2003. – № 1. – С. 399–405.
9. Пророк В. В., Масон К. Ф. В., Ганушевич А. П., Осташко В. В., Макаренко Т. І., Мельниченко Л. Ю. Дослідження відношення стронцій-кальцій у рослині та у відповідному ґрунтового розчині для ^{90}Sr та природного валового стронцію // Зб. наук. праць Ін-ту ядер. досліджень. – 2005. – **18**, № 1. – С. 98–104.

Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 21.04.2008

УДК 577.115.3:582.28

© 2008

Ю. В. Карпенко

Вплив світла різного спектрального складу на жирнокислотні профілі мікроскопічних грибів, виділених із зони відчуження Чорнобильської АЕС

(Представлено членом-кореспондентом НАН України І. Г. Скрипалем)

The fatty-acid profiles of microscopic fungi isolated from highly radioactive and non-radioactive substrates and the influence of light with different spectral distributions on these profiles are studied. The quantitative and qualitative composition of the fatty acids of cell lipids is analyzed. The most significant for fungal cells were hexadecanoic, cis-9,12-octadecadienoic, cis-9-octadecenoic, and octadecanoic acids. It is shown that the 7-day action of light of different wavelengths leads to quantitative changes in the ratio of unsaturated and saturated fatty acids. These changes are most significant in strains of melanin-containing species C. cladosporoides and H. resinae. The blue light stimulated most actively the synthesis of unsaturated fatty acids, which increases the fluidity of cell membranes.

У сучасних дослідженнях систематики та філогенії грибів поруч із класичними морфологічними методами також використовують дані щодо складу клітинної стінки грибів. Висновки про систематичну належність грибів на основі ліпідного складу вперше було зроблено Феофіловою та співавт. [1].

Як відомо, мікроорганізми відповідають на зміни умов оточуючого середовища зміною жирнокислотного складу клітинних ліпідів, що може розглядатись як первинний механізм регуляції текучості мембран [2], що детально описано для прокаріотів та дріжджів [3, 4]. У міцеліальних грибів цей процес досліджений менш детально [5]. Їх онтогенез відрізняється більшою складністю та включає багато етапів від моменту проростання конідій до утворення гапліодних вегетативних та статевих структур. Вік культури, доступність поживного субстрату, режими температури, вологості та освітлення — збільшення впливу

кожного з цих факторів може призводити до змін біохімічного складу клітин відповідних організмів [6–8].

У результаті 20-річного моніторингу мікобіоти 10-км зони відчуження Чорнобильської АЕС співробітниками відділу було виділено 196 видів 85 родів грибів (понад 2000 культур), що становили основу створеної колекції грибів-екстремофілів [9].

Метою нашого дослідження було вивчення впливу світла різного спектрального складу на жирнокислотні профілі мікроскопічних грибів, що тривалий час знаходились в умовах високої радіоактивності.

Об'єктами дослідження були три види грибів (табл. 1), штами яких постійно зустрічались у 10-км зоні відчуження ЧАЕС та різнилися за ступенем пігментації. Так, види *Cladosporium cladosporioides* та *Hormoconis resinae* були меланінвмісними (темнозабарвленими), а вид *Raecilomyces lilacinus* — світлозабарвленим. Кожен вид був представлений штамами, виділеними з радіоактивних субстратів, та контрольними штамами, виділеними з місцезнаходжень з фоновим рівнем радіоактивності.

Мікроскопічні гриби вирощували на сусло-агарі протягом 7 днів при 28 °С. Аналіз жирних кислот проводили за методом [10], використовуючи хромато-мас-спектрометричну систему Agilent 6890 N/5973 inert.

Інокулюм досліджених культур мікроміцетів висівали на сусло-агар та одразу починали освітлювання світлом різного спектрального складу, що тривало безперервно протягом 7 днів. При цьому використовували джерело денного освітлення та світлофільтри синього (довжина хвилі 440–500 нм), зеленого (500–570 нм), жовтого (570–590 нм) та червоного (610–700 нм) кольорів.

Контрольні зразки тих же культур вирощували в темряві протягом того ж часу в аналогічних температурно-вологісних умовах.

Жирнокислотні профілі різних видів грибів, що 7 днів росли в темряві, різнилися між собою за якісним та кількісним складом (табл. 2). Так, серед штамів темнозабарвлених видів *C. cladosporioides* та *H. resinae* було виділено відповідно 7–9 жирних кислот, а світлозабарвленого виду *P. lilacinus* — 9 жирних кислот.

Таблиця 1. Характеристика штамів грибів, використаних у роботі

Вид	Штам	Місце та час виділення	Радіоактивність субстрату на час виділення
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fr.) de Vries	4 (Ra)	Грунт промислового майданчика на території ЧАЕС, осінь 1986 р.	$3,6 \cdot 10^5$ Бк/кг
	396 (K)	Ризосфера кукурудзи, Львівська область, 1957 р.	Контроль
	alb-мутант	Отриманий шляхом опромінення у дозі 9000 Гр в умовах гіпоксії	—
<i>Hormoconis resinae</i> (Lindau) von Arx et de Vries	21(Ra)	Поверхня стіни приміщення 4-го блоку ЧАЕС, 2001 р.	300 мР/год
	77 (Ra)	Поверхня стіни приміщення 4-го блоку ЧАЕС, 2003 р.	30000 мР/год
	K (K)	Паливо ТС-1, 2005 р.	Контроль
<i>Raecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson	1941 (Ra)	Грунт "Рудого" лісу біля ЧАЕС, 1994 р.	$3,2 \cdot 10^4$ Бк/кг
	101 (K)	Грунт, Коктебель, Крим, 2000 р.	Контроль

Примітка. Тут і в табл. 2 Ra — штами, виділені із зони відчуження ЧАЕС; K — штами, виділені з місць з фоновим рівнем радіоактивності.

Таблиця 2. Вплив світла на жирнокислотний склад мікроскопічних грибів, виділених із зони аварії на ЧАЕС

Вид	Штам	Світло	Вміст жирних кислот, % від суми								
			C 14 : 0	C 15 : 0	C 16 : 1	C 16 : 0	C 17 : 0	C 18 : 2	C 18 : 1 (цис)	C 18 : 1 (транс)	C 18 : 0
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>C. cladosporioides</i>	4 (Ra)	Синє	—	0,22	—	15,52	0,44	60,75	19,73	—	3,55
		Зелене	—	—	—	16,53	—	56,61	21,90	—	4,96
		Жовте	—	0,22	—	15,14	0,22	61,02	20,49	—	3,12
		Червоне	—	—	—	17,26	0,79	54,17	23,02	—	4,76
	396 (K)	Контроль (темрява)	—	—	—	20,04	0,18	48,15	26,36	—	5,27
		Синє	—	—	—	14,66	1,34	61,22	20,11	—	2,68
		Зелене	—	—	—	21,55	0,59	31,96	40,18	—	5,72
		Жовте	—	—	—	16,10	3,39	58,05	19,49	—	2,97
		Червоне	—	—	—	16,68	1,31	51,27	26,99	—	3,75
	alb-мутант	Контроль (темрява)	—	—	—	26,88	1,46	39,88	25,36	—	6,43
		Синє	—	0,58	—	18,25	0,39	52,82	21,75	—	6,21
		Зелене	0,93	1,09	—	42,37	2,49	22,74	19,00	—	11,37
		Жовте	—	—	—	36,64	1,07	26,85	26,85	—	8,59
		Червоне	0,97	—	—	36,77	2,58	43,87	2,42	—	13,39
		Контроль (темрява)	0,31	0,62	—	26,01	1,55	42,11	22,29	—	7,12

Таблиця 2. Продовження

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>H. resinae</i>	21 (Ra)	Синє	—	—	—	8,51	—	51,84	2,51	—	37,14
		Зелене	—	—	—	10,38	—	55,19	4,37	—	30,05
		Жовте	—	—	—	19,51	1,12	13,00	5,38	—	60,99
		Червоне	—	—	—	9,58	—	45,21	5,75	—	39,46
		Контроль (темрява)	—	—	—	9,20	1,80	30,00	4,60	—	54,40
	77 (Ra)	Синє	—	—	—	6,56	—	39,34	4,92	—	49,18
		Зелене	—	—	—	7,81	—	35,55	3,91	—	52,73
		Жовте	—	—	—	7,66	—	35,14	3,60	—	61,26
		Червоне	—	—	—	6,06	—	51,13	3,79	—	39,02
		Контроль (темрява)	—	—	—	9,74	—	35,21	4,12	—	50,94
	К (К)	Синє	—	—	0,88	27,02	1,62	29,96	35,54	—	4,99
		Зелене	—	—	—	42,90	—	20,78	33,40	—	4,27
		Жовте	—	—	—	42,90	—	20,19	26,81	—	10,09
		Червоне	0,64	0,96	1,12	39,33	2,09	3,69	43,82	0,64	7,70
Контроль (темрява)		—	—	1,39	34,47	—	28,28	33,33	—	2,53	
<i>P. lilacinus</i>	1941 (Ra)	Синє	1,08	0,84	2,03	30,76	1,29	32,75	23,34	1,44	6,46
		Зелене	0,56	0,59	0,53	32,25	2,37	40,53	15,53	1,42	6,21
		Жовте	0,48	0,82	0,57	32,31	1,03	41,18	16,30	1,27	6,04
		Червоне	0,58	0,58	0,87	34,11	1,02	39,94	15,74	1,17	5,98
		Контроль (темрява)	0,58	0,64	0,85	33,43	2,13	41,49	13,68	1,22	5,99
	101 (К)	Синє	0,30	0,46	0,85	33,81	0,76	41,73	16,14	0,76	5,18
		Зелене	0,80	0,45	1,06	34,93	1,06	36,39	17,80	1,14	6,37
		Жовте	0,40	0,53	0,40	28,69	0,66	36,39	12,08	0,80	5,05
		Червоне	0,54	0,54	0,67	36,83	0,81	36,02	17,34	0,81	6,45
		Контроль (темрява)	0,27	0,33	0,60	33,66	0,67	45,65	13,66	1,33	3,83

З клітин грибів, що виростили в повній темряві та під впливом світла різного спектрального складу, у найбільших кількостях для всіх штамів меланінвмісного виду *C. cladosporioides* виділяли гексадеканову (вміст у клітині становив 15–42%), цис-9,12-октадекадієнову (22–61%) та цис-9-октадеценону (19–40%) кислоти. Вміст інших жирних кислот у клітинах становив 0,2–13%.

З клітин штамів виду *H. resinae*, виділених з радіоактивних субстратів, у найбільших кількостях виділяли цис-9,12-октадекадієнову (30–55%) та октадеканову (30–61 %) кислоти. У клітинах контрольного штаму цього виду в найбільших кількостях були присутні гексадеканова (27–43%), цис-9,12-октадекадієнова (20–30%) та цис-9-октадеценону (27–44%) кислоти. Вміст інших жирних кислот становив 0,64–10% загальної кількості в клітині.

Для штамів світлозабарвленого виду *P. lilacinus* найбільш значними за кількістю були гексадеканова (28–36%), цис-9,12-октадекадієнова (32–46%) та цис-9-октадеценону (12–23%) кислоти. Вміст інших жирних кислот становив 0,3–6%.

Для характеристики впливу світла на жирнокислотний склад клітин досліджених грибів доцільно використовувати показники співвідношення відсоткового складу ненасичених жирних кислот (ННЖК) до насичених (НЖК), а також ступінь ненасиченості (СН) клітинних ліпідів (табл. 3), що розраховували за формулою: $СН = (1 \cdot (\text{відсотковий вміст моноєнів}) + 2 \cdot (\text{відсотковий вміст дієнів}) + 3 \cdot (\text{відсотковий вміст триєнів})) / 100$ [11].

Ненасичені жирні кислоти є важливим фактором регулювання проникності мембран (впливають на поверхневі властивості фосфоліпідів, білок-ліпідні та ліпід-ліпідні взаємодії) та функціонування мембраннозв'язаних ферментів [12]. Наявність ненасичених жирних кислот у мембранах надає їм текучості та нормалізує їх проникність, регулює надходження речовин у клітину, запобігає проникненню чужорідних організмів та сполук, істотно впливає на всі процеси, що проходять у клітинах, оскільки є одним з головних високоенергетичних молекул у природі.

Згідно з отриманими результатами, кількість ненасичених кислот значно збільшувалась під впливом світла різного спектрального складу в порівнянні з контролем у меланінвмісних штамів. Тобто показники СН у темнозабарвлених штамів виду *C. cladosporioides* були найвищими при їх вирощуванні на синьому та жовтому світлі (1,36–1,43), у той час як у безпигментного мутанта цього ж виду — при його рості на синьому світлі та в темряві (1,27 та 1,07 відповідно).

У штамів іншого темнозабарвленого виду — *H. resinae* 21 та 77 — показники СН збільшувались при опроміненні синім, зеленим та червоним світлом. Причому у штаму *H. resinae* 21, що був виділений з найбільш радіоактивного серед вивчених штамів субстрату, спостерігали значне (майже в 2 рази) підвищення вмісту ненасичених жирних кислот у порівнянні з контрольним, що був вирощений у темряві. У штаму *H. resinae* 77 цей ефект був набагато менш виражений. У контрольного штаму цього ж виду відмічали лише незначне збільшення ненасичених жирних кислот під впливом синього світла.

У штамів світлозабарвленого виду *P. lilacinus* усі визначені показники практично не змінювались під впливом світла різного спектрального складу.

Узагальнюючи отримані дані, підкреслимо, що жирнокислотний склад клітинних ліпідів відрізнявся у різних видів грибів, але залишався постійним у межах одного виду.

Зміни в жирнокислотному складі грибних клітин відбувались лише у пігментованих видів. Найбільші зміни під впливом світла виявлені у штамів виду *C. cladosporioides*, що характеризується високим вмістом пігменту меланіну [13]. Цей факт підтверджує теорію про пігментну природу хромофора фоторецепторного білка грибів [14].

Збільшення ступеня ненасиченості (тобто сприятливий вплив на роботу клітинних мембран) вивчених штамів відбувалося більшою мірою під впливом синього світла. З літератури відомо, що синє та зелене світло найістотніше впливає на ріст та розвиток грибів, жовте — практично не впливає, а червоне навіть пригнічує їх ріст [15]. Щодо синього світла, наші дослідження підтвердили його певний вплив на жирнокислотний склад вивчених штамів. Світло іншого спектрального складу не виявилось достатньо впливовим фактором для значної зміни цього показника.

Таким чином, нами отримано перші результати щодо впливу світла різного спектрального складу на жирнокислотні профілі ряду штамів, виділених із зони аварії на ЧАЕС.

Таблиця 3. Ступінь ненасиченості клітинних ліпідів грибів під впливом світла різного спектрального складу

Вид	Штам	Світло	Співвідношення % ННЖК/ % НЖК	Ступінь ненасиченості клітинних ліпідів
<i>C. cladosporioides</i>	4 (Ra)	Синє	4,07	1,41
		Зелене	3,65	1,35
		Жовте	4,36	1,43
		Червоне	3,38	1,31
		Контроль (темрява)	2,92	1,23
	396 (K)	Синє	4,35	1,43
		Зелене	2,59	1,04
		Жовте	3,45	1,36
		Червоне	3,60	1,30
		Контроль (темрява)	1,88	1,05
	alb-мутант	Синє	2,93	1,27
		Зелене	0,72	0,64
		Жовте	1,16	0,81
		Червоне	0,86	0,91
		Контроль (темрява)	1,81	1,07
		<i>H. resinae</i>	21 (Ra)	Синє
Зелене	1,47			1,15
Жовте	0,22			0,31
Червоне	1,04			0,96
Контроль (темрява)	0,53			0,65
77 (Ra)	Синє		0,79	0,84
	Зелене		0,65	0,75
	Жовте		0,56	0,74
	Червоне		1,22	1,06
	Контроль (темрява)		0,65	0,75
K (K)	Синє		1,97	0,96
	Зелене		1,15	0,75
	Жовте		0,87	0,67
	Червоне		1,00	0,53
	Контроль (темрява)		1,70	0,91
<i>P. lilacinus</i>	K (K)	Синє	1,28	0,92
		Зелене	1,38	0,98
		Жовте	1,46	1,00
		Червоне	1,37	0,98
		Контроль (темрява)	1,34	0,98
	1941 (Ra)	Синє	1,47	1,01
		Зелене	1,29	0,93
		Жовте	1,41	0,86
		Червоне	1,21	0,91
		Контроль (темрява)	1,58	1,06

Але чіткої залежності зміни жирнокислотного складу грибних клітин від впливу світла не виявлено. Робота в цьому напрямку буде продовжуватись, з урахуванням вивчення інших фізіолого-морфологічних параметрів розвитку грибів та розширення кола грибних об'єктів.

1. Феофилова Е. П., Полотебнова М. В., Когтев Л. С. Использование данных о жирнокислотном составе липидов грибов с целью уточнения их филогенетических связей // Биол. науки. – 1989. – № 4. – С. 66–70.
2. Конова И. В., Рудакова Л. М., Панькина О. И. и др. Влияние экзогенных липидов комплексных сред на состав жирных кислот у мицелиальных грибов // Микробиология. – 1986. – 55, № 1. – С. 41–48.
3. McDonough V. M., Roth T. M. Growth temperature affects accumulation of exogenous fatty acids and fatty acid composition in *Schizosaccharomyces pombe* // Antonie van Leeuwenhoek. – 2004. – 86, No 4. – P. 349–354.
4. Феофилова Е. П., Бурлакова Е. П., Кузнецова Л. С. Значение реакции свободнорадикального окисления в регуляции роста и липидообразования эукариотных и прокариотных организмов // Прикл. биохимия и микробиология. – 1987. – 23, вып. 1. – С. 3–12.
5. Феофилова Е. П., Кузнецова Л. С., Розанцев Э. Г., Широкова Е. А. Влияние температурных воздействий на состав липидов *Cunninghamella japonica* // Микробиология. – 1986. – 55, вып. 5. – С. 737–744.
6. Betina V., Koman V. Changes in the lipid composition during the photo-induced conidiation of *Trichoderma viride* // Folia microbiol. – 1980. – 25, No 2. – P. 295–300.
7. Merja S. Effect of growth temperature on lipid fatty-acids of 4 fungi (*Aspergillus niger*, *Neurospora crassa*, *Penicillium chrysogenum* and *Trichoderma reesei*) // Arch. Mikrobiol. – 1995. – 164, No 3. – P. 212–216.
8. Феофилова Е. П., Дараган-Суцова М. В., Волохова М. В. и др. Изменения в химическом составе клеток в цикле развития *Aspergillus japonicus* // Микробиология. – 1988. – 57, № 5. – С. 778–784.
9. Жданова Н. Н., Василевская А. И., Захарченко В. А. и др. Микобиота и биологическая активность грибов, развивающихся в условиях высокой радиационной нагрузки // Бюл. Ін-ту сільськогосп. мікробіології УААН. – 2000. – № 6. – С. 31–36.
10. Brian B. L., Gardner E. W. Preparation of bacterial fatty acid methyl esters for rapid characterization by gas-liquid chromatography // Appl. Microbiol. – 1967. – 15, No 6. – P. 1499–1500.
11. Феофилова Е. П., Горнова И. Б., Меморская А. С., Гарибова Л. В. Липидный состав плодовых тел и глубинного мицелия *Lentinus edodes* (Berk.) sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] // Микробиология. – 1998. – 67, № 5. – С. 655–659.
12. Богач П. Г., Курский М. Д., Кучеренко Н. Е., Рыбальченко В. К. Структура и функция биологических мембран. – Киев: Вища шк., 1981. – 336 с.
13. Жданова Н. Н., Василевская А. И. Меланинсодержащие микромицеты в экстремальных условиях. – Киев: Наук. думка, 1988. – 194 с.
14. Kumagai T. Mycochrome system and conidial development in certain fungi imperfecti // Photochem. and Photobiol. – 1978. – 27, No 2. – P. 371–379.
15. Крицкий М. С. Фоторегуляция метаболизма и онтогенеза у гетеротрофных микроорганизмов // Успехи микробиологии. – 1982. – Вып. 17. – С. 41–62.

Інститут мікробіології і вірусології
ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ

Надійшло до редакції 19.02.2008