

НАЦІОНАЛЬНЕ
КОСМІЧНЕ АГЕНТСТВО
УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНА
АКАДЕМІЯ НАУК
УКРАЇНИ

КОСМІЧНА НАУКА І ТЕХНОЛОГІЯ

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Журнал засновано в лютому 1995 р. ♦ Виходить 6 разів за рік

київ

Том 13, № 2, 2007

KYIV

ЗМІСТ

Волошин В. І., Корчинський В. М. Інваріантні інформаційні признаки класов об'єктів на многозональних косміческих снимках в задачах їх ідентифікації

Левенко А. С., Волошин В. І., Шапар А. Г. Оцінка состояння природних коридорів між екологіческими зонами і контроль біологічного разнообразия територій з використанням методів дистанційного зондирования Землі

Станкевич С. А., Козлова А. О. Оцінювання і картографування біорізноманіття Північно-Причорноморського регіону України на основі багатоспектральних космознімків і геоінформаційних технологій

CONTENTS

- 3 *Voloshin V. I., Korchinskii V. M. Invariant information features of object classes on multispectral space images in problems of their identification*
- 8 *Levenko A. S., Voloshyn V. I., Shapar A. G. Estimation of condition of natural corridors between ecological zones and control of biological variety of territories with the use of the Earth remote sensing methods*
- 18 *Stankevich S. A., Kozlova A. A. Biodiversity estimation and mapping of the Northern Pre-Black Sea region of Ukraine using hyperspectral satellite imagery and geoinformational technologies*

- Станкевич С. А. Оптимизация состава спектральных каналов гиперспектральных аэрокосмических изображений при решении тематических задач дистанционного зондирования Земли*
- Смирнов С. А., Терлецький Р. П., Гонтаренко І. С. Низькочастотна атмосферна корекція космічних знімків*
- Капустин Е. И., Кириллов А. И., Махонин Е. И., Волох К. Ф. Динамическое управление памятью бортового запоминающего устройства космического аппарата*
- Кириллов А. И., Капустин Е. И., Кириллова Н. А., Махонин Е. И., Волох К. Ф. Алгоритм планирования реализации тематических программ дистанционного зондирования Земли*
- Артеменко О. А. Вплив зміненої гравітації на проліфераційну систему дводобових проростків гороху*
- Шевченко Г. В., Кордюм Е. Л. Влияние клиностатирования на рост корневых волосков проростков Beta vulgaris*
- Талалаєв О. С. Вплив умов повільного клиностатування на експресію низькомолекулярних білків теплового шоку Pisum sativum L.*
- Козеко Л. Е. Влияние реальной и моделированной микрогравитации на генную экспрессию белков теплового шока*
- Недуха О. М., Кордюм Е. Л., Шнюкова Е. І. Вплив імітованої мікログравітації на структуру амілопластів, склад та характеристики крохмалю міні-бульб картоплі*
- Остапченко Л. І., Михайлік І. В., Прокопова К. В. Активність інтерферон-залежної 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах щурів в умовах трансформованого середовища*
- Бараненко В. В. Активация пероксидного окисления липидов как один из механизмов перестроек в функционировании клеток и тканей растений в условиях микрогравитации*
- Борисова Т. А., Касаткина Л. А. Тромбоциты как потенциальный периферический маркер для анализа функционирования высокоаффинных Na^+ -зависимых транспортеров глутамата в нервных окончаниях головного мозга*
- Носач Л. М., Повнича О. Ю., Жовновата В. Л. Аденовіруси як модель у дослідженнях впливу факторів космічного польоту*
- НАШІ АВТОРИ**
- 25 Stankevich S. A. Hyperspectral aerospace imagery spectral bands optimal selection in solving remote sensing thematic tasks**
- 29 Smirnov S. A., Terletsky R. P., Gontarenko I. S. Low-frequency atmospheric correction of space images**
- 35 Kapustin Ye. I., Kirillov A. I., Mahonin Ye. I., Voloh K. F. Dynamic management of the onboard memory device of a space vehicle**
- 39 Kirillov A. I., Kapustin Ye. I., Kirillova N. A., Mahonin Ye. I., Voloh K. F. Algorithm for planning of realization of thematic programs of the earth remote sensing**
- 43 Artemenko O. A. The altered gravity effect on proliferative system of two-day pea germs**
- 48 Shevchenko G. V., Kordyum E. L. Clinorotation influence on the growth of root hairs in Beta vulgaris seedlings**
- 53 Talalaiev O. S. The influence of slow clinorotation on the expression of small heat shock proteins in *Pisum sativum L.***
- 57 Kozeko L. Ye. Influence of the real and simulated microgravity on gene expression of heat-shock proteins**
- 62 Nedukha O. M., Kordyum Ye. L., Schnyukova Ye. I. The influence of imitated microgravity on the amyloplast structure, the composition and characteristics of potato minituber**
- 69 Ostapchenko L. I., Mikhailik I. V., Prokopova K. V. Activity of interferon-dependent 2',5'-oligoadenylate synthetase in rat lymphoid cells under transformed environment conditions**
- 75 Baranenko V. V. Activation of lipid peroxidation as a mechanism of plant cell rearrangements under microgravity**
- 80 Borisova T. A., Kasatkina L. A. Platelets as potential peripheral markers to study functioning of the high-affinity sodium-dependent glutamate transporters in the nerve terminals of the brain**
- 86 Nosach L. M., Povnitsa O. Yu., Zhovnovata V. L. Adenoviruses as a model in the study of the effect of space flight factors**
- 90 OUR AUTHORS**

УДК 528.8

В. И. Волошин¹, В. М. Корчинский²

¹Державне підприємство «Дніпрокосмос», Дніпропетровськ

²Дніпропетровський національний університет, Дніпропетровськ

Инвариантные информационные признаки классов объектов на многозональных космических снимках в задачах их идентификации

Надійшла до редакції 26.10.06

Пропонується система інформаційних ознак просторових розподілів яскравостей багатоспектральних зображень, інваріантна до їхніх афінних перетворень, зумовлених порушеннями юстування оптико-механічної системи сканера та нестабільнотами позиційних умов зйомки. Підвищення достовірності ідентифікації здійснено шляхом її реалізації до великомасштабних складових розподілів яскравостей зображень.

Пространственная нестабильность средств фиксации видовой информации дистанционного зондирования Земли (ДЗЗ) с аэрокосмических носителей и нарушение юстирования оптико-механических систем датчиков электромагнитного излучения — носителя видовой информации — приводят к аффинным преобразованиям распределений яркостей формируемых снимков [3, 10]. Такие искажения снижают достоверность классификации изображений, что существенно для многозональных снимков, поскольку параметры указанных преобразований различны в разных спектральных диапазонах.

Мы предлагаем систему информационных признаков (ИП) пространственных (по полю снимка) распределений яркостей многоспектральных изображений, инвариантную к их аффинным преобразованиям и фиксируемому спектральному диапазону.

Формообразование изображений ДЗЗ, фиксируемых в коротковолновых диапазонах электромагнитного спектра (оптическом, инфракрасном), достаточно точно описывается изоплана-

тическим приближением — пространственное распределение яркости снимка (ПРЯС) является результатом свертки собственной яркости отображаемой сцены в фиксируемом спектральном диапазоне с функцией рассеяния точки (оптической передаточной функцией иконической системы формирования изображений) [6, 11]

$$I(\mathbf{r}) = \int_{\Omega} P(\mathbf{r} - \boldsymbol{\rho}) I_0(\boldsymbol{\rho}) d\boldsymbol{\rho}, \quad (1)$$

где Ω — поле зрения датчика, \mathbf{r} — радиус-вектор точки поля снимка, $I(\mathbf{r})$ и $I_0(\boldsymbol{\rho})$ — пространственные распределения яркостей изображения и собственной яркости сцены, $P(\mathbf{r})$ — функция рассеяния точки (ФРТ).

В качестве основы для системы информационных признаков (ИП) изображений примем семинварианты распределений их яркостей

$$S_{nm} = \frac{1}{t^{n+m}} \frac{\partial^{n+m}}{\partial u_1^n \partial u_2^m} \ln F(\mathbf{u})|_{u=0}, \quad (2)$$

где $F(\mathbf{u})$ — преобразование Фурье от $I(\mathbf{r})$; $\mathbf{u} =$

$= (u_1, u_2)$ — ковариантный вектор пространственных частот снимка; n, m — целые числа, начиная с нуля, сумма которых определяет порядок семиинварианта $N = n + m$; $i = \sqrt{-1}$ — мнимая единица.

С учетом соотношения (1) семиинварианты произвольного порядка от ПРЯС приобретают вид

$$S_{nm} = P_{nm} + s_{nm}, \quad (3)$$

где P_{nm} , s_{nm} — соответственно семиинварианты ФРТ и собственной яркости сцены.

Для обеспечения масштабной инвариантности ИП необходимы безразмерные комбинации семиинвариантов функций распределения яркостей. В соответствии с π -теоремой теории размерностей [12], на основе величин S_{n-m} можно образовать $N+1$ таких комбинаций, которые примем в виде

$$Z_i = S_{i, N-i} \exp\left(-\frac{N}{2} S_{00}\right), \quad i = 0, \dots, N. \quad (4)$$

В силу своего определения величины Z_i при $N \geq 2$ не зависят от параллельных переносов изображения. При его масштабировании величины Z_i изменяются в соответствии с выражениями

$$\bar{Z}_i = Z_i k_1^{(N+2-2i)/2}, \quad \bar{Z}_i = Z_i k_2^{(2i-2-N)/2}, \quad (5)$$

где k_1, k_2 — коэффициенты масштабирования вдоль горизонтальной и вертикальной осей координатной системы снимка (КСН), чертой сверху обозначены преобразованные значения.

При косых сдвигах изображения вдоль осей КСН преобразования Z_i имеют вид

$$\begin{aligned} \bar{Z}_i &= \sum_{k=0}^i C_i^k (-1)^{i-k} a^{i-k} Z_k, \\ \bar{Z}_i &= \sum_{k=0}^i C_{N-i}^k (-1)^{N-i-k} b^{N-i-k} Z_k, \end{aligned} \quad (6)$$

где a, b — параметры косых сдвигов вдоль горизонтальной и вертикальной осей КСН, C_i^k — биномиальные коэффициенты.

Преобразования Z_i при повороте изображения на угол α имеют вид

$$\bar{Z}_i = \sum_{k=0}^i C_i^k (-1)^{i-k} \cos^k \alpha \sin^{i-k} \alpha Z_k. \quad (7)$$

На основании выражений (5)–(7) по методике, предложенной в работе [8], можно определить следующие комбинации Z_i для четных порядков используемых семиинвариантов, инвариантные к указанным преобразованиям, совокупность которых определяет общее аффинное преобразование снимка:

$$F_n = Z_n^2 - 2 \sum_{k=0}^{n-1} \frac{(-1)^k (n!)^2 Z_{n-k-1} Z_{n+k+1}}{(n-k-1)!(n+k+1)!}, \quad (8)$$

$$n = N/2.$$

Величины F_n рассматриваем как аффинно-инвариантные ИП изображения. Классы объектов при этом определяются как множества изображений, отличающихся от эталонного всевозможными аффинными преобразованиями. Решающее правило классификации состоит в сравнении ИП различных порядков, вычисленных для анализируемого снимка, с их эталонными значениями. Информативность ИП возрастает с увеличением их порядков.

Известен ряд интегральных ИП, инвариантных к частным случаям аффинных преобразований распределений яркостей изображений, на основе декартовых моментов таких распределений [1, 9] и различных модификаций, полученных из декартовых моментов ортогональными преобразованиями — моменты Цернике [13] и др. Существенное ограничение использования таких ИП для информационного представления многотоновых изображений состоит в неоднозначности отображения распределений яркостей на множества моментов [2]. Семиинварианты в качестве ИП пространственных распределений свободны от этого ограничения — восстановление координатных зависимостей по множеству их семиинвариантов возможно с произвольной точностью, определяемой мощностью этого множества [2]. В вычислительном отношении семиинварианты представляют собой нелинейные алгебраические формы декартовых моментов [2, 7].

Выражение (8) получено для непрерывного по полю снимка распределения его яркости. Для растровых изображений инвариантность предложенной системы ИП нарушается по отношению к косым сдвигам и поворотам вследствие дискретности растровой системы координат снимка.

Рис. 1. Первичный многоспектральный снимок (*a*) и аппроксимирующий компонент максимального уровня декомпозиции (*b*)

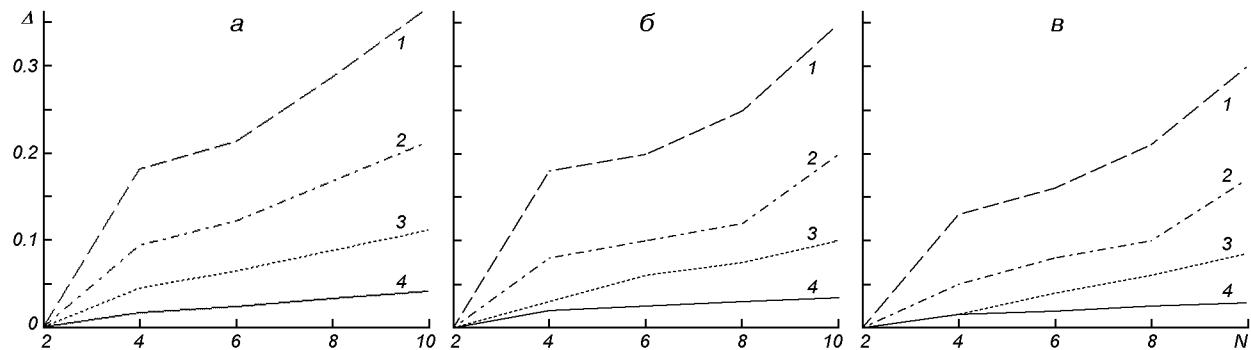


Рис. 2. Зависимость ошибки инвариантности от порядка ИП: *а* — красный канал, *б* — зеленый канал, *в* — синий канал

На рис. 1, *а* приведено первичное многоспектральное изображение, которое было подвергнуто поворотам с различными углами. Для этих изображений определялись афинно-инвариантные ИП (8) различных порядков, а также относительные ошибки инвариантности, обусловленные растровым характером изображения, которые определялись из выражения $\Delta = |(F_n - \bar{F}_n)/F_n|$, где F_n — ИП первичного изображения, \bar{F}_n — ИП изображения, подвергнутого повороту. На рис. 2 приведены графики зависимостей относительной ошибки инвариантности от порядка использованных семиинвариантов N для различных углов α поворота снимка (*1* — $\alpha = 45^\circ$, *2* — $\alpha = 34^\circ$, *3* — $\alpha = 23^\circ$, *4* — $\alpha = 12^\circ$) и различных спектральных каналов. Нетрудно видеть, что ошибка инвариантности увеличивается с увеличением порядка ИП, что приводит к снижению достоверности классификации, поскольку ИП тем информативнее, чем выше его порядок. Ошибка инвариантности тем меньше, чем ниже информативность снимка, определенная его сигнальной энтропией, предложенной в работе [4] (для красного канала сигнальная энтропия составляет 7.2313, для зеленого канала — 7.0372, для синего канала — 6.1323).

Повышение достоверности идентификации при невысоких порядках используемых информационных признаков, для которых ошибка инвариантности мала, может быть достигнуто реализацией идентификации применительно к крупномасштабным составляющим распределений яркостей классифицируемых изображений, выделенных посредством их вейвлет-декомпозиции.

Вейвлет-декомпозиция изображения состоит в его разделении на крупномасштабную (аппроксимирующую) и мелкомасштабную (детализирующую) составные, причем этот процесс может быть повторен для аппроксимирующей компоненты, сформированной на каждом этапе декомпозиции. Как известно из теории вейвлет-преобразований, для каждой размерности цифрового изображения есть максимально достижимый уровень вейвлет-декомпозиции [5]. Соответствующая аппроксимирующая составляющая содержит наиболее крупномасштабные компоненты первичного снимка с наименьшим уровнем сигнальной энтропии [4]. На рис. 1, *б* приведено аппроксимирующее изображение красного канала первичного цифрового снимка, представленного на рис. 1, *а*. Сигнальная энтропия данного изображения составляет 5.8314.

Ошибки инвариантности для указанных углов поворота данного изображения уменьшаются по сравнению с первичным изображением на 70—90 % для второго — десятого порядков ИП, что находится в пределах вычислительной погрешности. Вероятность правильного определения анализируемого снимка к классу, представленному эталонным изображением, составляет 0.9871.

1. Анисимов Б. В., Курганов В. Д., Злобин В. К. Распознавание и цифровая обработка изображений. — М.: Высш. шк., 1983.—296 с.
2. Ахманов С. А., Дьяков Ю. Е., Чиркин А. С. Введение в статистическую радиофизику и оптику. — М.: Наука, 1981.—680 с.
3. Бейтс Р., Мак-Доннел М. Восстановление и реконструкция изображений: Пер. с англ. — М.: Мир, 1989.—334 с.

4. Волошин В. И., Корчинский В. М., Негода А. А. Повышение информативности панхромных цифровых изображений дистанционного зондирования Земли // Космічна наука і технологія.—2004.—10, № 5/6.— С. 178—181.
5. Добеши И. Десять лекций по вейвлетам: Пер. с англ. — Москва—Ижевск: РХД, 2004.—256 с.
6. Кирейтов В. Р. Обратные задачи фотометрии. — Новосибирск: ВИ СО АН СССР, 1983.—326 с.
7. Кляцкин В. И. Статистическое описание динамических систем с флюктуирующими параметрами. — М.: Наука, 1975.—256 с.
8. Корчинський В. М. Інформаційно-геометрична модель багатотонових та багатоспектральних фотограмметричних зображень на основі узагальнених моментів // Прикладна геометрія та інженерна графіка.—2003.— Вип. 73.—С. 72—77.
9. Кочевых В. И., Никонов В. К. Система зрительного анализа объектов робот роботизированного производства. — Киев: Техника, 1990.—128 с.
10. Лобанов А. Н., Журкин И. Г. Автоматизация фотограмметрических процессов. — М.: Недра, 1980.—240 с.
11. Очин В. Ф. Вычислительные системы обработки изображений. — Л.: Энергоатомиздат, 1989.—134 с.
12. Седов Л. И. Методы размерности и подобия в механике. — М: Наука, 1984.—324 с.
13. Khotanzad A., Hong Y. H. Rotation invariant pattern recognition using Zernike moments // Proc. of 9th Int. Conf. ICPR. — Rome (Italy), 1998.—P. 326—328.

INVARIANT INFORMATION FEATURES OF OBJECT CLASSES ON MULTISPECTRAL SPACE IMAGES IN PROBLEMS OF THEIR IDENTIFICATION

V. I. Voloshin, V. M. Korchinskii

We offer the system of informative features of brightness distributions of space images which is invariant to their distortions caused by sensor disalignment and instabilities of positional parameters of a survey. The identification reliability is enhanced on the basis of wavelet decomposition of primary image for elimination of its most informative spatial components.

УДК 528.8:577.456

А. С. Левенко¹, В. И. Волошин¹, А. Г. Шапарь²

¹Державне підприємство «Дніпрокосмос», Дніпропетровськ

²Інститут проблем природокористування і екології Національної академії наук України, Дніпропетровськ

Оценка состояния природных коридоров между экологическими зонами и контроль биологического разнообразия территорий с использованием методов дистанционного зондирования Земли

Надійшла до редакції 26.10.06

Розглянуто можливість застосування методів дистанційного зондування Землі для вивчення біологічної розмаїтості в Україні на регіональному рівні. Така можливість базується на розроблених методиках і проведених практичних роботах в межах міста Дніпропетровська.

ВВЕДЕНИЕ

Ценность природного биологического разнообразия формировалась в процессе эволюции. Благодаря выполняемым им функциям в биосфере — буферной и стабилизационной, нейтрализуется отрицательное действие абиотических факторов на живую природу. Поэтому сохранение существующего биологического разнообразия имеет важное стратегическое значение для Украины. В ходе конференции ООН 5 июня 1992 г. в Риоде-Жанейро была заключена международная Конвенция о биоразнообразии, а в мае 2003 г. принятая соответствующая Киевская резолюция [7] (Міжнародний договір «Конвенція про охорону біологічного різноманіття»). Большая часть территории Украины находится под прессом антропогенного (в основном техногенного) воздействия, потенциально приводящего к снижению биологического многообразия (разнообразия) в природной среде.

Нужно отметить, что сохранение биологического разнообразия является составляющей эко-

логических аспектов обеспечения устойчивого развития Украины [1, 2, 10]. Территории Украины присущее богатое биологическое разнообразие. Леса в Украине занимают 9 млн га (15.6 %) из общей площади, луга — 5.4 млн га (8.9 %), болота и плавни занимают около 3 % территории, степи — менее 1 %. За время новой эры здесь утрачено 150—200 видов растений и животных, в основном эндемиков. Украина занимает 6 % территории Европы, и здесь до настоящего времени сохранено 35 % европейского биоразнообразия (по этому показателю Украина уступает лишь Франции). Украинское биологическое разнообразие представлено около 70 тысячами видов, из них флора — около 25 тысячами видов [5]. Часть видов сохранена благодаря тому, что в Красную книгу Украины занесено 511 видов растений, 382 вида животных. А общая площадь охраняемых земель природно-заповедного фонда составляет 1.9 % территории страны (1123.4 тыс. га). К сожалению, распределение охраняемых земель неравномерно, наименьшее их количество в Кировоградской, Днепропетров-

ской и Винницкой областях (0.4—0.8 %). В частности, в Днепропетровской и Запорожской областях (отнесенных к промышленному Приднепровью) охраняются 18 лесных растений (из 263 по Украине), 66 видов лесных животных (из 192 по Украине) находятся под угрозой исчезновения.

В связи с этим особое значение приобретает сохранения природы в неохраняемых зонах, в том числе на территориях крупных городов. Сохранение в этих зонах биологического разнообразия возможно при исключении изоляции и поддержании биологических коридоров для обмена с другими природными резервациями. На территории крупных городов, кроме парков и расположенных внутри городов лесничеств, биоразнообразие поддерживается естественным путем на землях, непригодных для строительства городских инфраструктур — прежде всего это балки [2].

Целенаправленный контроль биологических коридоров в Украине отсутствует, инструменты глобального контроля не применяются. Тем не менее понимание необходимости внедрения сис-

тем глобального контроля есть. В ст. 132 раздела IV Политической декларации от 4 сентября 2002 г. «Йоганнесбургская декларация по устойчивому развитию. От наших истоков к будущему» рекомендуется: «Заохочувати розроблення і більш широке використання технологій спостереження за Землею, включаючи дистанційне зондування з супутників, глобальне картографування і системи географічної інформації для збору надійних даних про вплив на навколоінше середовище, землекористування і зміни в землекористуванні, зокрема шляхом здійснення невідкладних заходів на всіх рівнях».

В настоящее время в рамках Минприроды Украины действует система экологического мониторинга, которая в какой-то мере может быть использована для контроля сохранения биологического разнообразия в Украине. Мониторинг предусматривает сбор информации из различных источников для принятия управленических решений и в настоящее время строится на основе ведомственных данных (www.menr.gov.ua), рис. 1. Известно, что данные дистанционного зондирования Земли (ДЗЗ) в зарубежных про-

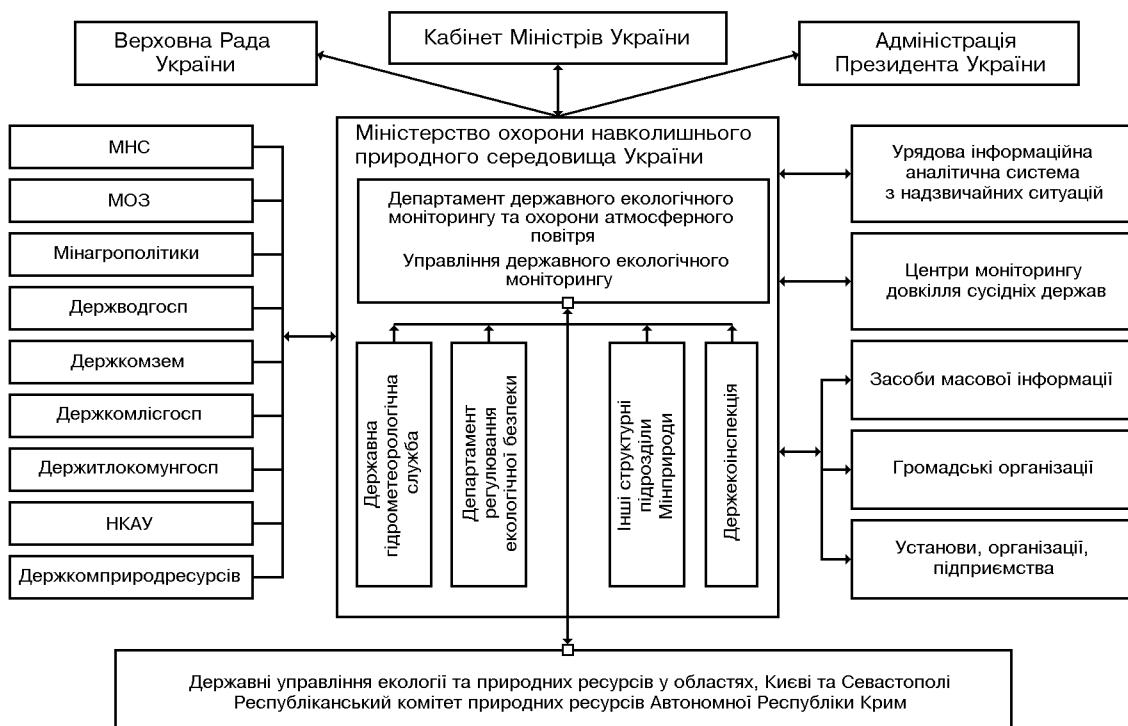


Рис. 1. Экологический мониторинг в системе Минприроды Украины

Рис. 2. Космический снимок г. Днепропетровска

Рис. 3. Детальное выделение объекта — Тоннельной балки г. Днепропетровска (снимок б)

Рис. 4. Выделение объекта — Тоннельной балки — на космоснимке с интерпретацией состояния озеленения территории г. Днепропетровска

Рис. 5. На космическом снимке по данным NDVI можно прогнозировать создание перспективного «зеленого коридора» к левобережной части г. Днепропетровска (стрелка желтого цвета). В то же время не является эффективным для сохранения биоразнообразия направление вниз по течению р. Днепр (желтый пунктир)

Рис. 6. Фото, сделанные в Тоннельной балке в 2006 г. Среди растений здесь произрастают около 40 видов лекарственных трав, дубовые, грушевые и абрикосовые рощи, значительное количество насекомых: от муравьев и поденок до жуков и стрекоз. В балке протекает малая река с притоками

ектах и программах составляют до 70 % всей информации. В существующей системе мониторинга Минприроды Украины данные ДЗЗ пока не получили должного применения.

Контроль сохранения биоразнообразия в Украине ведется методами статистического анализа и проведения отдельных исследований. Он не носит глобального характера, а исчезновение или сохранение видов принимается как факт.

В нашей работе рассматривается возможность выделения отдельных биосистем (экосистем) и путем применения ДЗЗ обеспечения планирования создания биокоридоров между этими системами с целью поддержания в них условий природного обмена для сохранения и увеличения биологического разнообразия.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ В г. ДНЕПРОПЕТРОВСКЕ

Многолетний практический опыт работы ГП «Днепрокосмос» для решения региональных задач на уровне Днепропетровской области и г. Днепропетровска базируется на интерпретации данных ДЗЗ в части экологии.

Среди работ, которые были выполнены по заказу Днепропетровского горисполкома, можно отметить оценку техногенной нагрузки на территории города по косвенному признаку — состоянию растительности (рис. 2). Фактически была получена информация, характеризующая территорию города в части «зеленых коридоров» (выделены стрелками) и их состояние в связи с техногенной нагрузкой, а также выделены изолированные городом природные зоны. Пункти-

ром показано условное разделение правобережной части Днепропетровска на две природные зоны.

В левобережной части города такое разделение природных зон еще более очевидно.

На примере г. Днепропетровска рассмотрим естественное сохранение в Украине значительного количества участков с ценными естественными экосистемами. Такие экосистемы при обеспечении «зеленых коридоров» между ними являются основой сохранения в Украине биологического разнообразия. Проблема создания и сохранения «зеленых коридоров» между охраняемыми и неохраняемыми территориями в Украине заключается в отсутствии инструмента глобального контроля природных процессов.

Эта проблема может быть решена применением анализа вегетационного индекса территории страны (в режиме вегетации флоры) и отдельных ее регионов по данным космической съемки, например с использованием доступной информации космического аппарата TERRA-MODIS и других спутников.

В качестве примера проведен наземный анализ состояния биологического разнообразия Тоннельной балки (рис. 3, 4), расположенной внутри селитебной зоны г. Днепропетровска с определением наличия биологического разнообразия (сведений о растениях, насекомых, птиц и пр.). Обозначена экологическая зона Тоннельной балки по снимку KA IKINOS (правая часть рис. 3) с наблюдаемыми из космоса «зелеными коридорами» между экозонами с привязкой к проведенному анализу NDVI территории Днепропетровской области по данным аппарата MODIS за март — август 2006 г. (рис. 5).

Расчет индекса биоразнообразия диких копытных животных в Украине

№ п/п	Копытные животные	Численность голов		Структура поголовья в 2002 г., %	Индексы изменения количество поголовья, %	Индексы с учетом видового разнообразия, %
		1995 г.	2002 г.			
	Всего	237279	179677	100	75.72	76.33
1	Лоси	9065	4377	2.44	48.27	1.18
2	Олени	21342	15944	8.87	74.72	6.63
3	Кабаны	47070	37390	20.81	79.43	16.53
4	Косули	157035	119455	66.48	76.07	50.57
5	Зубры	659	405	0.23	61.46	0.14
6	Лани	1331	1616	0.9	121.41	1.09
7	Муфлоны	723	422	0.23	58.37	0.14
8	Куланы	51	68	0.04	133.33	0.05

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОННЕЛЬНОЙ БАЛКИ

Рассмотрена расположенная внутри территории г. Днепропетровска биосистема Тоннельной балки [11], защищенная от полного уничтожения веткой железной дороги с одной стороны, оползнеопасным склоном с другой (правая часть рис. 3).

Наземные исследования свидетельствуют о наличии на территории балки значительного количества образцов флоры и фауны. Результаты наземных исследований могут быть проиллюстрированы фотографиями, сделанными в Тоннельной балке (рис. 6). В результате наблюдений в течение последних 20 лет в Тоннельной балке отмечены как стабильно встречающиеся около 15 видов деревьев, 10 видов кустарников, 50 видов трав и цветов (в том числе лекарственных), 50 видов беспозвоночных и насекомых, 20 видов птиц, грибы (среди них сыроечки, рядовки, горчаки, моховики, шампиньоны, дождевики, подубники, ложные трутовики, бледная поганка, сатанинский гриб и др.), земноводные (лягушки, уж, гадюка степная, ящерицы), в одном сохранившемся озере водятся караси.

СВЯЗЬ ЗАМКНУТЫХ ВНУТРИ ГОРОДА СИСТЕМ С ПРИРОДОЙ ДНЕПРОПЕТРОВСКОЙ ОБЛАСТИ НА ПРИМЕРЕ ВЕГЕТАЦИОННОГО ИНДЕКСА

На рис. 5 представлен визуальный анализ состояния вегетационного индекса NDVI растительности на территории Днепропетровской области, который хорошо иллюстрирует необходимость создания зеленой зоны вдоль Днепра выше по течению от г. Днепропетровска (для правобережной территории города). Условие сохранения биологического разнообразия левобережной территории города можно считать удовлетворительным: есть связь с природными зонами бассейна р. Самара.

Нужно отметить, что правый берег Днепра в районе города Днепропетровска расчленен шестью балками, глубоко уходящими внутрь городской застройки. Среди них на границе города к Днепру последовательно открываются Тоннельная балка, Евпаторийская, Лоцманская Сажавка, Каменоватая Средняя и Верхняя Сажавка, одна из самых протяженных в Днепропетровске

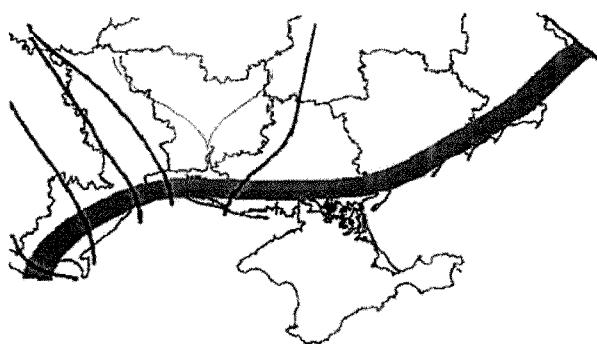


Рис. 7. Схема широтных и меридиональных экологических коридоров Украинского Причерноморья

и выходящая своими верховьями в район аэропорта, т. е. практически за пределы города.

Эти балки совершенно разные по биологическому разнообразию. Верхняя Сажавка имеет остатки луговой и лугово-степной растительности, только по дну можно встретить отдельные деревья лоха узколистого, акации, вишни, тополя — последствие влияния на природу расположенных со всех сторон садовых участков. Природа балки бедна, хотя здесь можно встретить серую куропатку, ящериц, отдельные виды бабочек. Эту балку люди активно обживали со времен неолита (не менее 7—13 тысяч лет), о чем свидетельствуют результаты проведенных в разные годы исследований — напротив устья балки в русле Днепра расположен Княжий или Каменоватый остров (первое название балки Каменоватая Сажавка), там обнаружена стоянка древних людей. В результате природа в балке претерпела и продолжает претерпевать значительное разрушительное влияние человека.

Природа Евпаторийской балки уничтожена. Лоцманская Сажавка, Каменоватая и Средняя превращены в свалки мусора.

Тоннельная балка остается уникальной, и только в ней сохранились остатки дикой природы, сочетающей природу степи, лугов и леса — до 90 % центральной части балки считались малоизмененными. В последние годы значительная часть в районе уникального песчаного карьера отдана под горнолыжный комплекс, однако можно считать, что она может еще стать основой восстановления природы в части биологиче-

ского разнообразия в пределах промышленного миллионного города Днепропетровска [1, 2].

На основе значений вегетационного индекса, полученных из обработки космических снимков, можно проектировать создания «зеленых коридоров», связывающих днепропетровские балки как основу сохранения остатков дикой природы в городе. При этом важно не только создать условия для сохранения Тоннельной балки (что в настоящее время еще не сделано), но и считать ее базовой для сохранения и умножения биологического разнообразия. Такая возможность подтверждается проведенными наземными исследованиями.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ

При оценке ландшафтов можно охарактеризовать биологическое разнообразие индексом, который отражает состояние популяции (Jenkins M., Kapos V., Loh J. Rising to the Biodiversity Challenge. Draft Discussion Paper CBD COP7, Februari 2004.—17 p.). Например, для диких копытных животных Украины известны данные, приведенные в таблице для агроландшафтных территорий [6].

Обобщенный средний квадратичный индекс биологического разнообразия для диких копытных животных с учетом видового разнообразия равен

$$I_{q_k}^o = \sum_{i=1}^n I_{q_ki}^o = 76.33 \%,$$

где $n = 8$, $I_{q_ki}^o = I_{q_ki}^{in} \times \Psi_{q_ki}^{in}$ — обобщенный индекс i -го дикого копытного животного, $I_{q_ki}^{in}$ — индивидуальный индекс i -го вида, $\Psi_{q_ki}^{in}$ — часть i -го вида в общем количестве.

Количественная оценка биологического разнообразия отдельных видов и получение усредненных данных проводится по информации наземных наблюдений тестируемой территории.

Государственным предприятием «Днепрокосмос» разработана методика классификации подстилающей поверхности по покровным элементам ландшафта из данных съемки высокого пространственного разрешения в оптическом диапазоне. Методика предназначена для формирования тематической карты покровных элементов

земной поверхности масштаба 1 : 100000. Тематическая карта определяет долю территории, занимаемой классом ландшафта. Методика позволяет визуально контролировать «зеленые коридоры» между отдельными природными зонами с характерным биоразнообразием. Определяется доля территории, занимаемой лесами, степью, водными объектами и т. п.

С учетом наземных данных может составляться количественный прогноз показателей биологического разнообразия на однотипных связанных между собой покровных элементах земной поверхности. Погрешность ландшафтной классификации — не более 20 %.

ВЫВОДЫ

Опыт работ ГП «Днепрокосмос», в том числе и в сотрудничестве с Институтом проблем природопользования и экологии (ИППЭ) НАН Украины (исследование техногенной нагрузки на территории, исследование загрязнений водных бассейнов, оценка вегетационного индекса территории и др.), позволяет сделать вывод о возможности и целесообразности для обеспечения сохранения биологического разнообразия в Украине применять информацию дистанционного зондирования Земли. Для обработки спутниковой информации в Украине имеются методики, программное обеспечение и возможность наземной заверки полученных сведений.

Подобные работы уже проведены в части агробиоразнообразия [9], например Украинским центром менеджмента земли и ресурсов (Киев). Результаты по этой тематике обобщались на 5-й Международной конференции «Геоинформационные технологии в управлении территориальным развитием» (27—31 мая 2002 г., Партизанский, АР Крым). В рамках проекта ЮНЕП-ГЕФ разработаны «Индикаторы биоразнообразия для национального использования (агробиоразнообразие)». Разработаны также основные принципы мониторинга биологического разнообразия в аграрных системах [3].

Уже назрела необходимость выбора минимальных ландшафтных единиц на уровне урошищ (балок) для обеспечения мониторинга биоразнообразия методами ДЗЗ [9] в рамках украинской перспективной экосети, разрабатывае-

мой в Минэкоресурсов Украины (рис. 7) [4]. Следует отметить, что балки Приднепровья с доисторических времен связывали лесостепь с рекой Днепр через прибрежные леса. Здесь всегда было больше видов флоры и фауны, чем в соседних ареалах. Возможно, что само существование природы в балках привело к повышенному их «имунитету» — например, в Тоннельной балке до сих пор цветет и плодоносит земляника на площади от 1.5 до 3 м²: двести лет назад земляника была очень распространенным видом в Приднепровье, чего сейчас в отношении Днепропетровской области сказать нельзя. Поэтому балки как очаги биоразнообразия могут стать в какой-то мере тем минимальным объектом исследований, который обеспечит в будущем развитие биоразнообразия на территориях крупных городов.

На региональном уровне ИППЭ НАН Украины в сотрудничестве с ГП «Днепрокосмос» проводятся работы в сфере создания методик экологического мониторинга по заказам областной и городских администраций Днепропетровской области [8].

1. Анісімова Л. Б., Левенко О. С., Романеско І. І. Збереження біорізноманіття — запорука стійкого розвитку міста Дніпропетровська // Екологія і природокористування: Зб. наук. праць — Дніпропетровськ: Ін-т проблем природокористування та екології НАН України.— 2005.— Вип. 8.— С. 194—197.
2. Афанасьев О. Від Сажавки до Тунельної балки // Свята справа.— 2003.— Вип. 1—6.— С. 342—345.
3. Гродзинский М. и др. Концентрация экосети трансграничной области бассейн Днепра // Информ. бюл. Программы ПРООН-ГЕФ экологического оздоровления бассейна Днепра.— 2003.— № 4.— С. 11—12.

4. Закон України «Про екологічну мережу України» від 24 червня 2004 р. // Відомості Верховної Ради України.— 2004.— № 45.— Ст. 502.
5. Заповідна природа Дніпропетровщини / За ред. М. В. Шпака. — Дніпропетровськ, 2000.— 64 с.
6. Квашук Л. П. Приклад розрахунку узагальненого індексу агробіорізноманіття // Агробіорізноманіття України: теорія, методологія, індикатори, приклади. — Кий: ЗАТ «Нічлава», 2005.— Кн. 1.— С. 206—222.
7. Київська резолюція про біорізноманіття. — К.: Україна, 21—23 травня 2003 р.
8. Левенко А. С., Волошин В. И., Шапарь А. Г. Контроль биологического разнообразия территорий методами ДЗЗ // Шестая Укр. конф. по космическим исследованиям: Сб. тез. (3—10 сентября 2006 г., НЦУИКС, Евпатория). — Киев, 2006.— С. 118.
9. Придатко В. І., Пархісенко Я. В., Іщук О. А. та ін. Нові перспективи для розвитку теорії створення екомережі в Україні у зв'язку з використанням космічних знімків та геоінформаційних систем // Агробіорізноманіття України: теорія, методологія, індикатори, приклади. — К.: ЗАТ «Нічлава», 2005.— Кн. 1.— С. 185—196.
10. Шеляг-Сосонко Ю., Ємельянов І. Біорізноманіття та сталій розвиток України // Вісник НАН України.— 2000.— № 4.— С. 35—39.
11. Щербаченко О. Тунельна балка чи міське звалище? // Свята справа.— 2002.— № 5.— С. 33—34.

ESTIMATION OF CONDITION OF NATURAL CORRIDORS BETWEEN ECOLOGICAL ZONES AND CONTROL OF BIOLOGICAL VARIETY OF TERRITORIES WITH THE USE OF THE EARTH REMOTE SENSING METHODS

A. S. Levenko, V. I. Voloshyn, A. G. Sharpar

We consider the opportunity to use the Earth remote sensing methods for study of biological variety in Ukraine at a regional level. Such an opportunity is based on developed techniques and practical works in Dnepropetrovsk city.

УДК 574.472:528.854.4

С. А. Станкевич, А. О. Козлова

Науковий центр аерокосмічних досліджень Землі Інституту геологічних наук НАН України, Київ

Оцінювання і картографування біорізноманіття Північно-Причорноморського регіону України на основі багатоспектральних космознімків і геоінформаційних технологій

Надійшла до редакції 26.10.06

Пропонується алгоритм оцінювання і картографування біорізноманіття Північно-Причорноморського регіону України на основі багатоспектральних космічних знімків низької просторової розрізненості та геоінформаційних технологій. Наводяться результати оцінювання біорізноманіття півострова Крим за нечітко-логічною моделлю.

ВСТУП

На сьогоднішній день біорізноманіття розглядається як основний параметр, який характеризує стан надорганізмових систем. Загроза суттєвого скорочення біорізноманіття в результаті деяких видів людської діяльності змусила визнати його не лише як загальне поняття, а і як глобальний об'єкт охорони. Успішне збереження біорізноманіття неможливе без розробки чіткої наукової концепції біорізноманіття. І в цьому ряду картографування і картографічний метод дослідження мають відігравати одну з провідних ролей. Перспективи вивчення і картографування біорізноманіття тісно пов'язані з використанням матеріалів дистанційного зондування і геоінформаційних технологій.

Незважаючи на те, що більша частина території півдня України знаходиться під постійним господарсько-рекреаційним впливом, в її північному Причорномор'ї спостерігається значний розмах біологічного різноманіття. Більше того, півострів Крим, єдиний в Україні та один з восьми в Європі, включений у перелік регіонів з високим біологічним різноманіттям [1].

З огляду на це актуальною є розробка комплексного підходу до оцінювання і картографування біорізноманіття для інформаційної підтримки та планування природоохоронної діяльності. Основним і найскладнішим завданням під час реалізації цього підходу є визначення показників, які характеризують біорізноманіття і можуть бути ідентифіковані з використанням матеріалів дистанційного зондування та геоінформаційних систем.

Розробка алгоритмів оцінювання і картографування біологічного різноманіття на основі багатоспектральних космознімків і геоінформаційних технологій надасть можливість встановити особливості просторового розподілу біорізноманіття Північно-Причорноморського регіону України.

ПОСТАНОВКА ЗАДАЧІ

Біорізноманіття часто асоціюється з кількістю видів як окремого угруповання, так і ландшафту в цілому. Видове різноманіття утворюють два компоненти. Перша складова — видове багатство

во, тобто загальне число наявних видів. Другий важливий аспект різноманіття — рівномірність розподілу видів, яка базується на визначенні положення виду в структурі домінування на основі мір значущості [5].

У дослідженнях видового різноманіття, зокрема при його оцінці, широко використовується ентропійний індекс Шеннона B [6]:

$$B = \sum_{i=1}^N P_i \log_2 P_i, \quad (1)$$

де N — кількість видів, P_i — значущість виду i .

Здатність індексу враховувати не лише багатство видів, а й рівномірність розподілу цих видів за будь-якою своєю ознакою, обумовлює трудомісткість його розрахунку. Залучення даних дистанційного зондування та сучасних цифрових технологій обробки аерокосмічних зображень, на нашу думку, може додати ряд переваг у процес розрахунку індексу видового різноманіття за Шенноном: значно розширити територію дослідження, відобразити реальну інформацію щодо просторового розподілу рослинних угруповань та надавати можливість її постійного оновлення, а представлення даних у цифровому вигляді забезпечує їхню ефективну обробку.

Проте слід зазначити, що переважна більшість існуючих методів оцінювання біорізноманіття на основі використання матеріалів дистанційного зондування Землі окрім досліджують різні компоненти біорізноманіття, зокрема різноманіття ландшафтів, лісових рослинних угруповань, ссавців, асоційованих з агроландшафтами та ін. [<http://europa.eu.int/comm/agriculture/publi/landscape/index.htm>, <http://abmp.arc.ab.ca>, http://www.ulrmc.org.ua/services/binu/index_ua.html].

З іншого боку, вирішення завдання оцінки, і тим більше картографічної оцінки біорізноманіття на скільки-небудь значній території на детальному рівні через повне врахування всіх біокомпонентів, доки залишається неможливим. З такої точки зору для оцінювання біорізноманіття найбільш адекватним, на нашу думку, є екосистемний підхід, запропонований А. Н. Кисельовим [3].

Головна ідея даного методу полягає в тому, що оцінка біорізноманіття може спиратися на будь-які інтегративні характеристики, які забезпечують «представництво» усіх біокомпонентів.

Зміст екосистемного підходу зводиться до наступного: елементи живої та неживої природи знаходяться у тісному зв'язку та взаємодіють один з одним, тобто утворюють еко-або геосистеми різних рівнів та різної тривалості існування. Підпорядкування цих елементів один одному за спрощеною схемою виглядає таким чином: умови навколошнього середовища або середовища існування (рельєф, клімат, гідрологічні умови, літологія та ін.) визначають процеси заселення певної території видами рослинності, що в свою чергу формує умови становлення та розвитку тваринного населення. Безперечно, в реальних екосистемах процеси взаємодії значно складніші, тим не менше представлена схема є цілком справедливою.

Ті елементи живої або неживої природи, які визначаються за допомогою даних дистанційного зондування, можна умовно віднести до видимого біорізноманіття, решту — до прихованого.

Основна задача нашої роботи полягає у визначенні за даними дистанційних спостережень і наземних вимірювань видимого біорізноманіття для кожного класу земної поверхні, встановленні регресійних залежностей між видимим і прихованим біорізноманіттям, обчислення повного біорізноманіття для кожної ділянки ландшафту.

АНАЛІЗ ФАКТОРІВ

Видове багатство певного угруповання можна пов'язати з цілим рядом факторів, які відносяться до декількох категорій. По-перше, це так звані «географічні» фактори, а саме широта, висота над рівнем моря. Їх часто пов'язували з видовим багатством, але самі по собі вони, скоріше за все, не можуть його визначати. Якщо видове багатство змінюється з широтою, це означає, що має бути ще якийсь фактор, який залежить від неї і безпосередньо впливає на угруповання.

Наступна група факторів якраз має тенденцію корелювати з широтою, однак ця кореляція не абсолютна. До таких факторів відносять продуктивність середовища, та кліматичну мінливість [2].

Механізми впливу наведених факторів на

Таблиця 1. Фактори, що впливають на біорізноманіття

Фактор	Показник	Діапазон значень	Оптимум
Рельєф місцевості	Середньодобове опромінення сонячним випромінюванням	0—300 Вт/м ²	максимум
Вода	Вологість ґрунту	0—100 %	максимум
Тепло	Середньодобова температура ґрунту	253—323 К	293 К
Опади	Середньорічна кількість осадженої води	0—200 мм	максимум
Рослинний покрив	NDVI або EVI	-1...+1	максимум
Життєва активність	LAI або FPAR	-1...+1	максимум
Життєва ефективність	GPP або NPP	0—600 кг/(м ² ·рік)	максимум

темпи, форми і спрямованість диференціації біот достатньо широко висвітлені в літературі. Для даної роботи важливішим є встановлення діапазону значень факторів впливу, а також їхнього найсприятливішого значення для біорізноманіття.

Фактори, що впливають на біорізноманіття та можуть бути визначені за матеріалами ДЗЗ наведено у табл. 1.

ДЖЕРЕЛА ДАНИХ

Показники, наведені в табл. 1, можна одержати шляхом спеціального оброблення каліброваних багатоспектральних космічних знімків видимого, інфрачервоного та мікрохвильового діапазонів. Розробка алгоритмів визначення кожного з показників за цифровими космічними знімками першого рівня обробки є складною науково-технічною задачею. На практиці її реалізація потребує багаторічної роботи досвідчених наукових колективів [4].

Зараз в світі існує мережа центрів прийому, обробки та розповсюдження матеріалів ДЗЗ, яка постачає не тільки вихідні аерокосмічні знімки, а й інформаційні продукти вищих рівнів обробки — другого, третього та четвертого. Прикладом може послужити міжнародний науковий проект ДЗЗ EOS, в рамках якого одержуються цифрові супутникові зображення сенсорів AMSRE, MODIS, ASTER та інших. Найповніший перелік інформаційних продуктів, потрібних при оцінюванні біорізноманіття, доступний для спектро-радіометра низької просторової розрізненості MODIS, до того ж вони безкоштовні. В табл. 2 наведено стандартні інформаційні продукти EOS, які можуть використовуватися при оцінюванні біорізноманіття [4, 8].

Інформаційні продукти EOS дозволяють кількісно оцінювати орієнтовні показники біорізноманіття з просторовою розрізненістю не краще 1 км в регіональному або глобальному масштабі з періодичністю 1 раз на рік або частіше за умовою наявності теоретичних моделей агрегування інформації, наземних завіркових даних для їх валідації, загального довгострокового кліматичного та екологічного опису регіону спостереження.

НЕЧІТКО-ЛОГІЧНА МОДЕЛЬ

Коректне кількісне визначення впливу факторів на величини, що характеризують біорізноманіття, потребує встановлення або детермінованих, або статистичних зв'язків між ними. В першому випадку мають будуватися причинно-наслідкові кількісні екосистемні моделі високої просторової розрізненості для кожної ділянки ландшафту та їх взаємодії. Надзвичайна складність та неопрацьованість таких моделей може негативно відбиватися на точності одержуваних результатів, але використання саме дистанційних даних може суттєво покращити якість визначення їхніх параметрів або уточнити вигляд та склад рівнянь. В другому випадку потрібен значний обсяг наземних завіркових даних для побудови регресії, причому бажано для всього різноманіття ландшафтних комплексів різних кліматичних зон регіону. Це призводить до надмірного зростання обсягу польових досліджень. Обидва підходи мають свої слабкі та сильні сторони і можуть бути вдосконалені шляхом використання даних ДЗЗ. Компромісним варіантом між ними може бути нечітко-логічний підхід. Нечіткі моделі дозволяють як описувати класичні детерміновані взаємозв'язки з невизначеними або

Таблиця 2. Інформаційні продукти EOS

Продукт	Сенсор	Просторова розрізненість	Період поновлення	Інформаційні шари
MOD12Q1 — типи покриття ландшафту	MODIS	1 км	96 діб та щорічно	п'ять типів класифікації покрить ландшафту
MOD03A2 — геолокаційні дані	MODIS	1 км	щоденно	широта, довгота, висота місцевості, зенітний та азимутальний кути сенсора, нахильна дальність, зенітний та азимутальний кути Сонця, маска земля-море
MOD05L2 — повний водозбір	MODIS	1 км, 5 км	півдоби — день та ніч	широта, довгота, поточний час, водозбір в близькому ІЧ-діапазоні, водозбір в дальньому ІЧ-діапазоні, маска хмар
MOD11A1 — температура поверхні	MODIS	1 км	півдоби — день та ніч	зенітний кут, поточний час, температура поверхні, випроміненність в 31 та 32 спектральних діапазонах MODIS
AMSRE_L3 — вологість ґрунту	AMSRE	0.25° за широтою та довготою	щоденно, щотижня та щомісячно	поточний час, вологість ґрунту, водовміст рослинності, температура поверхні
MOD13Q1 — вегетаційні індекси	MODIS	250 та 500 м, 1 км	16 діб та щомісячно	середні зенітний та азимутальний кути Сонця, NDVI та EVI
MOD15A2 — листяне покриття	MODIS	250 та 500 м, 1 км	16 діб, щомісячно та щорічно	FPAR та LAI
MOD17A3 — продуктивність рослинності	MODIS	500 м та 1 км	8 діб та щорічно	GPP та NPP

погано визначеними параметрами і статистичні залежності з невідомими законами розподілу, так є формалізувати експертні уявлення про характер процесів в екосистемах, що досліджуються. Додатковим аргументом на користь вибору нечітко-логічної моделі є достатньо слабка залежність результатів нечітких операцій від вигляду суб'єктивно апроксимованих функцій належності в широкому діапазоні значень нечітких величин. Нечітко-логічні моделі успішно застосовуються в складних системах керування та прийняття рішень, і на наш погляд, цілком придатні для оцінювання біорізноманіття [7].

Нехай відомо кількісні значення F_i , $i = 1, \dots, n$ факторів, що впливають на оцінку біорізноманіття B , де n — загальна кількість факторів. Для кожного з m класів земного покриття ландшафту можна визначити потенційно можливе біорізноманіття $B_0^{(j)}$, $j = 1, \dots, m$, яке в разі використання індексу Шеннона (1) цілком визначиться кількістю характерних біологічних

видів даного класу $N_0^{(j)}$:

$$B_0^{(j)} = \log_2 N_0^{(j)}. \quad (2)$$

Далі для кожного з n факторів за відомими екологічними моделями, статистичними залежностями або експертними уявленнями про вплив цього фактора на біорізноманіття визначається вигляд функції належності $\mu(F_i)$ впливу для всього діапазону можливих значень F_i . Якщо всі функції належності визначено, стає можливим обчислити спільну функцію належності μ_0 вектора факторів. Теоретичним обґрунтуванням цього визначення може служити висновок про існування лімітуючого фактора для будь-якого вектора факторів [5].

В цьому разі природною операцією визначення спільної функції належності буде нечітка кон'юнкція:

$$\mu_0 = \prod_{i=1}^n \mu_i(F_i). \quad (3)$$

Після визначення лімітуючої функції належності (3) та показника потенційного біорізно-

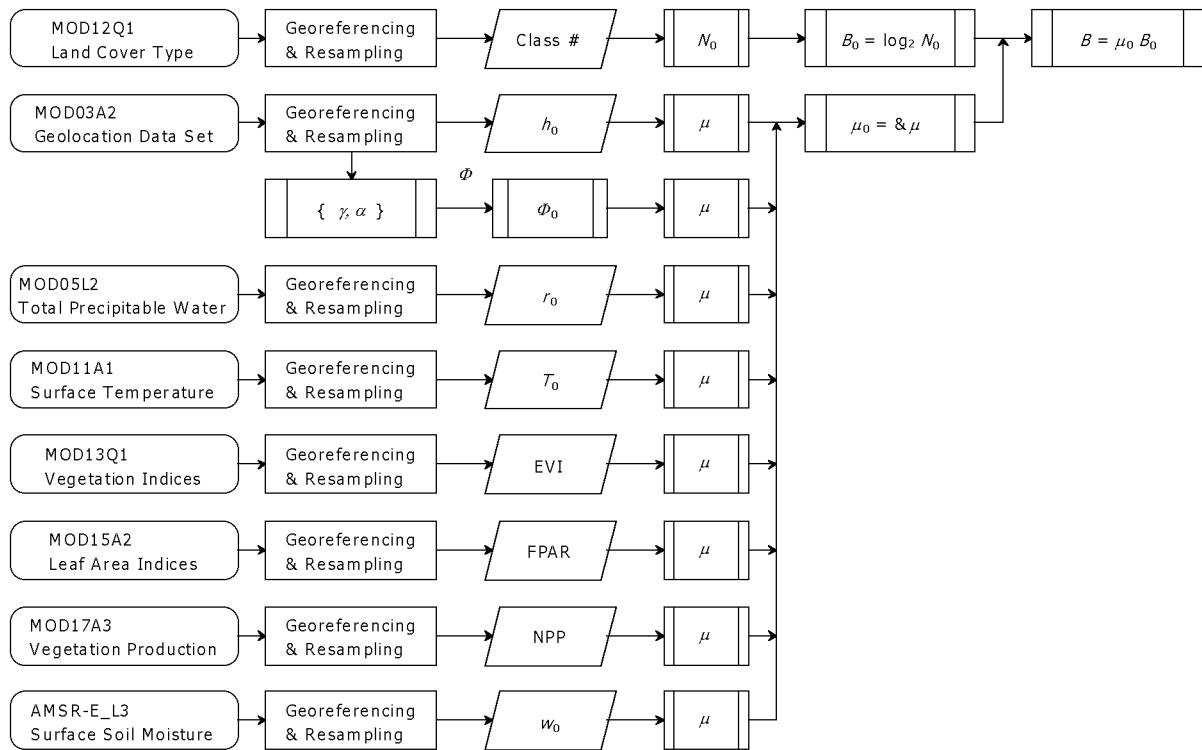


Рис. 1. Порядок оцінювання біорізноманіття за нечітко-логічною моделлю

Рис. 2. Класифікація земного покриву півострова Крим за даними багатоспектрального сенсора MODIS (а) та карта біорізноманіття, створена на основі нечітко-логічної моделі (б)

маніття (2) розраховується поточна оцінка біорізноманіття B :

$$B = \mu_0 B_0. \quad (4)$$

Операції (2)–(4) здійснюються для всіх елементів розрізнення космічних зображень, що містять значення F_i . Очевидно, що перед початком визначення біорізноманіття всі задіяні інформаційні шари повинні бути ресемплівовані та попіксельно суміщені між собою.

Порядок оцінювання біорізноманіття в рамках нечітко-логічної моделі з використанням інформаційних продуктів ДЗЗ EOS, перелічених в табл. 2, описується схемою рис. 1.

Схема враховує фактори, пов'язані з типом покриття ландшафту (інформаційний продукт MOD12Q1), рельєфом місцевості (продукт MOD03A2), абіотичні (продукти MOD05L2, MOD11A1, AMSRE_L3) та біологічні (MOD13Q1, MOD15A2, MOD17A3) фактори. Обчислення над вихідними даними здійснюються за формулами (2)–(4).

МОДЕЛЮВАННЯ

Проведено демонстраційне оцінювання біорізноманіття Кримського півострова з використанням інформаційних продуктів EOS — сенсори MODIS та AMSRE, одержаних в червні—липні 2006 р. (класифікація покрить ландшафту — за 2005 р.). Для всіх космічних знімків проведено геореференціювання, а всі інформаційні шари ресемплівовано до просторової розрізненості 1 км. Оскільки інформаційні продукти EOS не містять середньодобову сонячну опроміненність, її обчислювалося за кутами та азимутами схилу відповідних ділянок місцевості з урахуванням сезону, географічної широти та середньої хмарності. Кути та азимути схилу визначалося за геолокаційними даними продукту MOD03A2. Результати оцінювання біорізноманіття на прикладі півострова Крим ілюструються тематичними картами рис. 2.

При порівнянні карт біорізноманіття, створеної на основі розробленої моделі, з літературними та іншими картографічними даними щодо розповсюдження біорізноманіття Кримського півострова добре видно, що одержані результати відповідають дійсності. Деякі незначні неточності можна пояснити недостатньою якістю

оцінки вхідних параметрів, зокрема вологості ґрунту, а також значним узагальненням класів земного покриву, обумовленим низькою просторовою розрізненістю космічних знімків. Це дає підстави стверджувати, що розроблений алгоритм оцінювання біорізноманіття нечітко-логічною моделлю з цілком адекватним, хоча і потребує певних уточнень.

ВИСНОВКИ

Таким чином, дистанційні дані навіть низької просторової розрізненості є досить зручним та ефективним інструментом уточнення параметрів екосистемних моделей та картографування біорізноманіття великих регіонів. Спільне використання стандартних інформаційних продуктів ДЗЗ та наземних завіркових даних може стати основою інформаційного сервісу не тільки оцінювання біорізноманіття, а його моніторингу з періодом спостереження в роки та навіть сезони.

Поряд з тим запропонована нечітко-логічна модель є дуже примітивною, не враховує ряд сучасних досягнень в моделюванні гео- та екосистем і потребує суттєвих уточнень. Але, як свідчить досвід оброблення та інтерпретування даних ДЗЗ, дуже часто недосконалість застосованих моделей компенсується значним обсягом та якістю вихідних даних, зокрема точним знанням їхнього просторового розподілу. Особливо це стосується таких надскладних та малопридатних до моделювання систем, як екологічні. Тому запропонований підхід до оцінювання біорізноманіття з використанням дистанційних даних є актуальним і має широкі перспективи теоретичного розвитку та практичного застосування.

1. Боков В. А. Биологическое и ландшафтное разнообразие в Крыму: Итоги исследований за 1997–2000 годы // Записки общества геоэкологов.—2000.—Вып. 3.—http://www.cssu.crimea.ua/tmu/magazine/geoeology/index_3.html
2. География и мониторинг биоразнообразия. — М.: Изд-во науч. и учебно-метод. центра, 2002.—432 с.
3. Киселев А. Н. Оценка и картографирование биологического разнообразия (на примере Приморья) // Геоботаническое картографирование. — СПб, 2000.—Т. 3.—С. 3—15.
4. Кравцова В. И., Уваров И. А. Гиперспектральная система MODIS для глобального мониторинга Земли // Информ. бюл. ГИС-Ассоциации.—2001.—№ 2(29)—3(30).—С. 39—41.

5. Одум Ю. Экология: Пер. с англ. — М.: Мир, 1986.— Т. 2.—376 с.
6. Протасов А. А. Биоразнообразие и его оценка: Концептуальная диверсикология. — К.: Ин-т гидробиологии, 2002.—107 с.
7. EOS Data Products Handbook / Eds C. L. Parkinson, R. Greenstone. — Greenbelt: NASA Goddard Space Flight Center, 2004.—518 p.
8. Takeuchi W., Yasuoka Y. Development of MODIS compositing algorithms for MODIS data // J. Japanese Society of Photogrammetry and Remote Sensing.—2004.—P. 35—54.

BIODIVERSITY ESTIMATION AND MAPPING OF THE NORTHERN PRE-BLACK SEA REGION OF UKRAINE USING HYPERSPECTRAL SATELLITE IMAGERY AND GEOINFORMATIONAL TECHNOLOGIES

S. A. Stankevich, A. A. Kozlova

An algorithm for biodiversity estimation and mapping of the Northern Pre-Black sea region of Ukraine is proposed. It is based on hyperspectral satellite imagery of low spatial resolution. Some results of biodiversity estimation of the Crimean peninsula by fuzzy-logic model are presented.

УДК 528.852.5:519.615.7

С. А. Станкевич

Науковий центр аерокосмічних досліджень Землі Інституту геологічних наук НАН України, Київ

Оптимизация состава спектральных каналов гиперспектральных аэрокосмических изображений при решении тематических задач дистанционного зондирования Земли

Надійшла до редакції 26.10.06

Запропоновано підхід до оптимального вибору комбінації спектральних каналів гіперспектральних аерокосмічних зображень на основі критерію інформативності, який враховує розділивість спектральних характеристик об'єктів ДЗЗ як дивергенцію Кульбака — Лейблера, еквівалентну просторову розрізненість даної комбінації спектральних каналів для даних об'єктів ДЗЗ та еквівалентне відношення «сигнал-шум» при ідентифікації об'єктів ДЗЗ за їх багатовимірними оптичними сигналами. Визначено механізм оптимізації складу спектральних каналів гіперспектральних аерокосмічних зображень при вирішенні тематичних задач ДЗЗ на основі процедури псевдоградієнтного пошуку в просторі можливих комбінацій спектральних каналів. Наведено кількісні результати оптимізації складу спектральних каналів багато- і гіперспектральних аерокосмічних зображень при вирішенні деяких тематичних задач ДЗЗ.

Сегодня с использованием методов дистанционного зондирования Земли (ДЗЗ) успешно решаются тематические задачи в таких отраслях, как геология, землепользование, сельское хозяйство, экосистемы и лесное хозяйство, океанография и наблюдение побережья, контроль водных ресурсов, метеорология и климатология, мониторинг чрезвычайных ситуаций и других. Крайне важным является уточнение и унификация типовых задач для каждой отрасли в соответствии с особенностями соответствующих объектов и используемых технологических методик [2].

Гиперспектральные аэрокосмические изображения за счет регистрации тонких структур спектров объектов позволяют существенно повысить качество решения тематических задач ДЗЗ в ряде научных и народно-хозяйственных областей. Вместе с тем гиперспектральные аэрокосмические изображения имеют существенную информационную избыточность, которая в ряде случаев является не только бесполезной, но и

вредной — за счет «расторжения» полезной информации об объектах ДЗЗ в общем ее шумовом фоне. Кроме того, автоматизированная обработка гиперспектральных изображений сильно усложнена вследствие их высокой размерности и очень больших физических объемов, а визуальная — практически невозможна.

Поэтому обоснованный отбор информативных спектральных каналов при решении тематических задач ДЗЗ с использованием гиперспектральных аэрокосмических изображений позволяет существенно повысить информационную ценность и сократить вычислительные затраты на их интерпретацию. Информативность гиперспектрального аэрокосмического изображения относительно конкретной тематической задачи определяется количеством информации, полезной для правильного разделения объектов, характерных для этой задачи. Поскольку информация о разделимости объектов содержится в спектральных распределениях оптических сиг-

налов, ее количество описывается через взаимные статистико-информационные меры этих распределений. В данной работе используется критерий информативности $C(\lambda)$ [5]:

$$C(\lambda) = \frac{D(\lambda)}{4R^2(\lambda)} \cdot \log_2 [1 + \psi(\lambda)], \quad (1)$$

который учитывает разделимость спектральных характеристик объектов ДЗЗ как дивергенцию Кульбака — Лейблера $D(\lambda)$ — многомерный аналог контраста для одномерных панхроматических изображений, эквивалентное пространственное разрешение $R(\lambda)$ данной комбинации спектральных каналов для данных объектов ДЗЗ и эквивалентное отношение «сигнал-шум» $\psi(\lambda)$ при идентификации объектов ДЗЗ по их многомерным оптическим сигналам. Критерий $C(\lambda)$ является обобщением известного информационного критерия Кононова [4] на случай многомерных оптических сигналов, регистрируемых гиперспектральными аэрокосмическими сенсорами. При этом основой обобщения выбрана вероятность правильного разделения типовых объектов наблюдения, присущих каждой тематической задаче ДЗЗ. Именно в смысле вероятности правильного выявления объектов рассматриваются эквивалентности пространственного разрешения $R(\lambda)$ и отношения «сигнал-шум» $\psi(\lambda)$ комбинаций спектральных каналов гиперспектральных аэрокосмических изображений [6].

Целью оптимизации состава спектральных каналов гиперспектральных аэрокосмических изображений является получение максимума полезной в смысле (1) информации в выбранных спектральных диапазонах. Рассмотрим вектор выбора спектральных каналов $W = \{W(\lambda)\}^T$, $\lambda = 1, \dots, n$, элементы которого равны единице, если соответствующий спектральный канал выбран, или нулю — если нет. Информативность (1) будет зависеть от вектора выбора и составит

$$C(W) = \frac{D(W)}{4R^2(W)} \cdot \log_2 [1 + \psi(W)]. \quad (2)$$

Задача оптимизации состава спектральных каналов гиперспектрального аэрокосмического изображения состоит в определении такого вектора оптимального выбора W^* , который обеспечивает максимум целевой функции (2):

$$W^* = \operatorname{argmax} C(W). \quad (3)$$

Оптимизация выбора подмножества спектральных каналов — математическая задача нахождения лучшего в смысле критерия (2) набора спектральных диапазонов гиперспектрального сенсора. При известных спектральных характеристиках объектов наблюдения это — задача аналитической безусловной дискретной оптимизации [8]. Основными составляющими процедуры безусловной глобальной оптимизации являются локальные оптимизаторы, основанные на теореме о плотности информации, и глобальное решающее правило, выбирающее один из совокупности найденных локальных экстремумов [10]. В качестве механизмов локальной оптимизации могут выступать поисковые методы, метод возможных направлений, метод ветвей и границ и т. д. [12].

По степени гарантированности оптимального результата используемым алгоритмом глобальная оптимизация разделяется на неполную (строится на более-менее обоснованных эвристиках), асимптотически полную — оптимальность обеспечивается с известной точностью или вероятностью и строгую — оптимальность достигается с заданной точностью, толерантной к ошибкам вычислений [11].

Вычислительная сложность алгоритмов дискретной оптимизации состава спектральных каналов гиперспектральных сенсоров экспоненциально зависит от их общего их числа n и не может быть решена переборными методами. В такой ситуации особое значение приобретают гибридные методы оптимизации, обеспечивающие возможность сокращения времени решения задачи за счет объявления отдельных подмножеств переменных заведомо бесперспективными [1]. Пока не построена соответствующая общая теория, поскольку проблема нахождения решения, обеспечивающего заданную степень приближения к оптимуму, для большинства труднорешаемых задач оказывается также труднорешаемой [3]. В данной работе для оптимизации состава спектральных каналов используются множественный случайный старт псевдоградиентного поиска на регулярной решетке в пространстве переменных выбора бинарного вектора W размерности n :

$$W_0 = \{1\}^T,$$

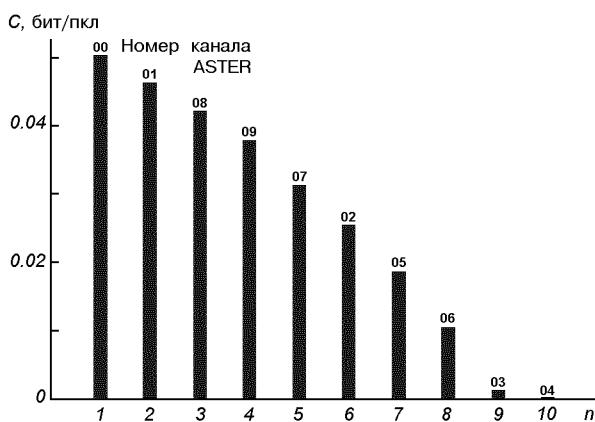


Рис. 1. Информативность комбинаций спектральных каналов спектрорадиометра ASTER при классификации видового состава растительного покрова

$$W_k = W_{k-1} + \mu \cdot \text{grad } C(W_{k-1}), \quad (4)$$

$$\text{grad } C(W^*) = 0,$$

где $\text{grad } C(W)$ — оценка градиента целевой функции $C(W)$, μ — скорость изменения координат в выбранном направлении [9].

Описанный механизм оптимизации позволяет определять оптимальные комбинации спектральных каналов аэрокосмических сенсоров при решении тематических задач ДЗЗ. Для многоспектральных изображений оптимальные комбинации зачастую включают все спектральные каналы, как, например, при классификации видового состава растительности по девятиканальным снимкам спутникового спектрорадиометра среднего пространственного разрешения ASTER (рис. 1).

Для переходных от многоспектральных к гиперспектральным изображений уже четко выделяются оптимальные комбинации спектральных каналов, включающие меньшинство из общего их числа, как, например, при оценке нефтегазоносной перспективности участков морского шельфа по тридцатиканальным снимкам спутникового спектрорадиометра низкого пространственного разрешения MODIS (рис. 2).

Для классических гиперспектральных изображений оптимальные комбинации спектральных каналов в десятки раз уступают по количеству общему их числу, во столько же превосходя по информативности, как, например, при выявлении загрязненных участков почвы в пределах

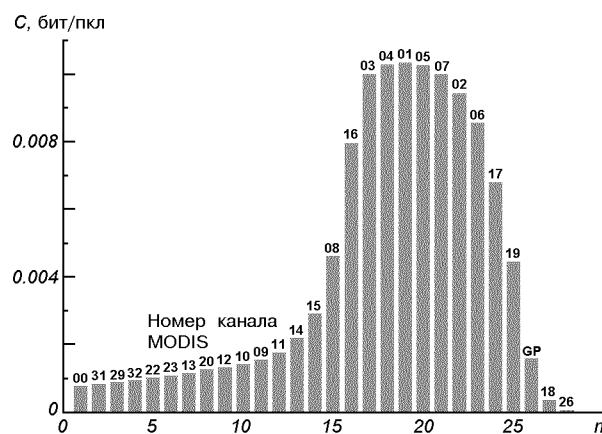


Рис. 2. Информативность комбинаций спектральных каналов спектрорадиометра MODIS при оценке нефтегазоносной перспективности участков морского шельфа

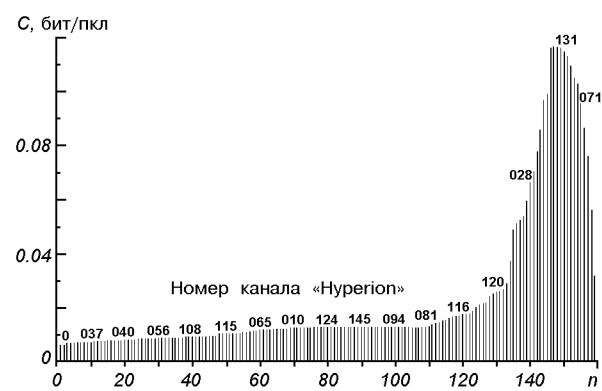


Рис. 3. Информативность комбинаций спектральных каналов гиперспектрального сенсора «Hyperion» при выявлении загрязненных участков почвы

урбанизованных территорий по двухсотканальным снимкам спутникового гиперспектрального сенсора среднего пространственного разрешения Hyperion (рис. 3).

На рис. 1—3 по оси абсцисс отложены номера итераций в ходе оптимизации (4) с указанием спектральных каналов, исключенных на данной итерации. Оптимальная комбинация, следовательно, содержит все спектральные каналы, находящиеся правее максимума информативности.

Оптимизация спектральных каналов гиперспектральных аэрокосмических изображений

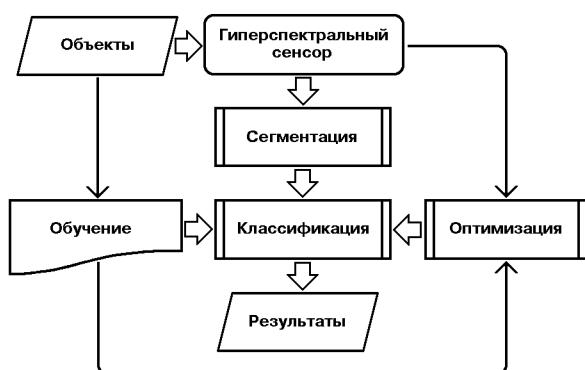


Рис. 4. Адаптивная классификация гиперспектральных аэрокосмических изображений

позволяет не только повысить качество и оперативность решения конкретных тематических задач ДЗЗ, но и открывает значительные перспективы в плане совершенствования технологий цифровой обработки гиперспектральных снимков. Например, выполнение оптимизации непосредственно в процессе обработки приводит к новому методу адаптивной классификации гиперспектральных аэрокосмических изображений, когда оптимальная комбинация спектральных каналов определяется индивидуально для каждой пары сегментов изображения. Порядок операций при адаптивной классификации поясняется схемой рис. 4.

В будущем процедура оптимизации состава спектральных каналов должна стать естественной неотъемлемой составляющей перспективных технологий и сервисов обработки гиперспектральных аэрокосмических изображений [7].

1. Алексеев О. Г. Комплексное применение методов дискретной оптимизации. — М.: Наука, 1987.—278 с.
2. Багатоспектральні методи дистанційного зондування Землі в задачах природокористування / За ред. В. І. Лялько, М. О. Попова. — Київ: Наук. думка, 2006.—360 с.
3. Глебов Н. И., Кочетов Ю. А., Плясунов А. В. Методы оптимизации. — Новосибирск: НГУ, 2003.—74 с.
4. Кононов В. И., Станкевич С. А. Сравнительная оценка

информационности цифровых аэрокосмических изображений высокого и низкого разрешения // Ученые записки Таврического нац. ун-та им. В. И. Вернадского.—2004.—17, № 2.—С. 88—95.

5. Станкевич С. А. Кількісне оцінювання інформативності гіперспектральних аерокосмічних знімків при вирішенні тематичних задач дистанційного зондування Землі // Доповіді НАН України.—2006.—№ 8.—С. 53—58.
6. Станкевич С. А. Імовірнісно-частотна оцінка еквівалентної просторової розрізненості багатоспектральних аерокосмічних знімків // Космічна наука і технологія.—2006.-12, № 2/3.—С. 79—82.
7. Станкевич С. А. Оценка оптических передаточных функций и восстановление цифровых аэрокосмических изображений методом инверсной фильтрации // Проблемы управления и информатики.—2006.—№ 3.—С. 116—123.
8. Jones D. R. A taxonomy of global optimization methods based on response surfaces // J. Global Optimization.—2001.—21.—P. 345—383.
9. Landgrebe D. A. Signal theory methods in multispectral remote sensing. — Hoboken: John Wiley, 2003.—512 p.
10. Local search in combinatorial optimization / Eds E. H. L. Aarts, J. K. Lenstra. — Chichester: John Wiley, 1997.—512 p.
11. Neumaier A. complete search in continuous global optimization and constraint satisfaction // Acta Numerica / Ed. by A. Iserles. — Cambridge: Univ. Press, 2004.—P. 1—99.
12. Nocedal J., Wright S. J. Numerical optimization. — Berlin: Springer Verlag, 1999.—656 p.

HYPERSPECTRAL AEROSPACE IMAGERY SPECTRAL BANDS OPTIMAL SELECTION IN SOLVING REMOTE SENSING THEMATIC TASKS

S. A. Stankevich

We offer an approach to hyperspectral aerospace imagery optimal spectral bands selection on the basis of informativity criterion which includes remote sensing objects spectra separability as the Kullback-Leibler divergence, the equivalent spatial resolution of the given spectral bands combination for given remote sensing objects and the equivalent signal-to-noise ratio during the detection of remote sensing objects by their multidimensional optical signals. The logic of hyperspectral aerospace imagery optimal spectral bands selection in solving remote sensing thematic tasks on the basis of pseudogradient search of possible combinations of spectral bands in space is specified. We present quantitative results of multi- and hyperspectral aerospace imagery optimal spectral bands selection in solving some thematic tasks of the remote sensing.

УДК 519.87+681.513

С. А. Смирнов, Р. П. Терлецький, І. С. Гонтаренко

Інститут космічних досліджень Національної академії наук та Національного космічного агентства України, Київ

Низькочастотна атмосферна корекція космічних знімків

Надійшла до редакції 26.10.06

Запропоновано аддативну процедуру для низькочастотної атмосферної корекції оптических космічних знімків. На попередньому етапі процедури для визначення параметрів атмосфери як оптичного фільтра використовуються отримані авторами формули коефіцієнтів послаблення і розсіяння та дані про відбивальні властивості підстильних поверхонь. Подальша практична реалізація полягає у попіксельному застосуванні оберненого фільтра для отримання відкоригованого зображення. Для перевірки процедури проведено атмосферну корекцію знімка на LANDSAT 7.

Радіометрична корекція знімків земної поверхні, отриманих за допомогою космічних засобів, здійснюється двома методами: *таблицяним* та *аддативним*. До першого типу відносяться процедури, в яких вся необхідна додаткова інформація знаходитьться в попередньо складених таблицях (таблиці коефіцієнтів поглинання атмосфери в залежності від трас поширення променів, розподілу аерозолів по висотах тощо). Ці дані вимірюються попередньо спеціальною апаратурою, а потім використовуються для корекції космічних знімків. В роботах [1, 2, 10] було складено таблиці поглинання та розсіяння різних типів аерозолів та молекулярних речовин (озон, азот) в залежності від азимута, кута на Сонце та космічний апарат, а також від вологості та пори року. Використовуючи супровідну інформацію (час зйомки, географічні координати апарату), завдяки таблицям можна отримати узагальнені характеристики стану атмосфери на момент зйомки і виконати відновлення знімка.

До другого типу алгоритмів належать методи, що використовують знімок як джерело додаткової інформації, необхідної у подальшій побудові фільтра для відновлення знімка. В роботах [4, 7] запропоновано використовувати пограничну

криву для досліджень, а її розмиття розглядати як характеристику впливу атмосфери на формування зображення. Саме за допомогою пограничної кривої встановлено параметри передатної функції атмосфери, яка використовується для побудови оберненого атмосферного фільтра. В роботі [9] авторами запропоновано спосіб, який дозволяє піти ще далі, а саме — одночасно встановлювати параметри атмосфери та підстильної поверхні, опираючись лише на знімок. Це дуже важливо, адже виключається зайвий крок, завдяки чому зменшується сумарна похибка обчислень.

Методика атмосферної корекції, що розвивається у даній роботі, належить до класу аддативних і спирається на встановлення фізичної природи та значень параметрів спотворення, внесених атмосферою у космічні знімки.

Радіометрична корекція передбачає усунення довільних спотворень яскравості у вихідному зображенні. Існує два головних фактори, що вносять такі спотворення: впливи апаратури та оптичний вплив атмосфери. Перший з указаних факторів у даній роботі залишається поза розглядом, похибки, пов'язані з недосконалістю апаратури, вважаються вже відкоригованими або

ігноруються. Основна увага приділяється усуненню впливів атмосфери:

- просторового розмиття сигналу, пов'язаного з дифракційними ефектами в атмосфері;
- послаблення сигналу, пов'язаного з ефектом поглинання та розсіяння;
- додаткового засвічування внаслідок розсіяння атмосферним серпанком світла, що не досягає Землі.

Врахування розмиття зображення є найбільш суттєвим у випадку, коли важливою є інформація, яку містять високочастотні просторові компоненти, наприклад якщо обробці підлягають оптичні знімки високого розрізnenня. Методи корекції розмиття космічних зображень, або «високочастотної корекції» були розроблені у роботах [7, 8]. Але оскільки застосування цих методів належить до точнішого аналізу зображень, то є сенс попередньо виконувати грубу, але універсальну обробку знімків. Тому процедуру усунення послаблення та додаткового засвічування сигналу, що розглядається в даній роботі, будемо називати попередньою корекцією. Крім того, з огляду на область застосування методу попередньої корекції, слід зауважити, що він є більш універсальним, тобто змістовним не тільки для знімків з високим, але й з середнім та низьким розділенням. Це пов'язано з тим, що ефект поглинання та розсіяння світла в атмосфері є причиною спотворення всіх знімків, а дифракційні ефекти спостерігаються лише на знімках високого розрізnenня.

Процедура корекції складається з двох частин:

- 1) встановлення параметрів атмосфери як оптичного фільтра;
- 2) попіксельного використання оберненого фільтра для отримання відкоригованого зображення, тобто практичної реалізації.

ВСТАНОВЛЕННЯ ПАРАМЕТРІВ АТМОСФЕРИ ЗА ДАНИМИ ЗНІМКА

Фізична модель впливу атмосфери на фотометричні характеристики природних утворень. Внаслідок впливу атмосфери істинні яскравості і контрасти об'єктів можна спостерігати без спотворень тільки у безпосередній близькості до земної поверхні. Якщо ж точка спостереження об'єкта розташована на значній висоті від

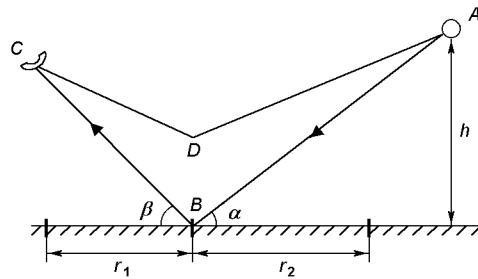


Рис. 1. Поширення сонячних променів в атмосфері

нього, то фотометричні характеристики образу не будуть ідентичними прообразу внаслідок наявності повітряної димки. Проявом повітряної, або атмосферного серпанку є ефект освітлення атмосферного шару, обумовлене розсіюванням частини світлових променів, що проходять через цей шар. У залежності від природи походження розсіювальних часток розрізняють:

- молекулярний чи релейський серпанок, що утворюється внаслідок розсіювання світлового потоку на молекулах газів атмосфери. Цей серпанок називають «голубим», тому що він відповідає за колір неба.
- аерозольний серпанок, що виникає внаслідок аерозольного розсіювання. За своєю природою може бути пиловим, водяним тощо. Цей серпанок в одинаковій мірі розсіює усі видимі промені [8], тому його називають «сірим».

Розглянемо процес поширення сонячних променів в атмосфері, зображений на рис. 1: точкою A позначено місце входу сонячного проміння в атмосферу, C — місцеположення космічної камери, яка знімає точку B на земній поверхні. Оскільки сонячний промінь проходить через атмосферу, то частина його розсіюється і попадає в камеру, не відбившись від Землі (шлях ADC). Та частина, що дійшла до Землі, не дістанеться до приймача також внаслідок розсіяння та поглинання. Отже, сигнал, який реєструється камерою, складається із світла, відбитого в точці B та послабленого в k разів на шляху ABC, та з продукту розсіяння a , отриманого на шляху ADC. Зафіксований сигнал буде визначатись лінійним законом

$$y = kx + a, \quad (1)$$

де y — яскравість, зареєстрована прибором на космічному апараті, x — вхідний сигнал, що попадає в атмосферу від поверхні (шукана яскравість земної поверхні), a — яскравість розсіянного сигналу (яскравість повітряного серпанку), k — коефіцієнт послаблення сигналу.

Обчислення невідомих коефіцієнтів атмосферного серпанку. Задача полягає у встановленні параметрів a і k , за допомогою яких виконується подальше відновлення відбитого від Землі сигналу x .

У процесі поширення сонячного проміння в атмосфері на шляху AB (рис. 1) відбувається послаблення його яскравості:

$$dE = -\sigma E dx, \quad (2)$$

де σ — коефіцієнт поглинання атмосфери, який залежить тільки від її локальної густини, а вона, в свою чергу, лише від висоти h , тобто $\sigma = \sigma(h)$. Тоді у точку B доходить послаблене випромінювання:

$$E = E_0 \exp \left[-\frac{\int \sigma(h) dh}{\sin \alpha} \right]. \quad (3)$$

Тут E_0 — універсальна константа сонячного випромінювання на верхній границі атмосфери. Позначивши так звану оптичну густину атмосфери $\int \sigma(h) dh = \tau$, отримаємо

$$E = E_0 \exp \left(-\frac{\tau}{\sin \alpha} \right). \quad (4)$$

Відбите у точці B випромінювання x є добутком падаючого випромінювання E і коефіцієнта r відбиття підстильної поверхні:

$$x = rE, \quad (5)$$

Згідно з формулою (1) отримаємо для сигналу y в точці C

$$y = kx + a = \exp \left(-\frac{\tau}{\sin \beta} \right) + a \quad (6)$$

(тут враховано, що поглинання на шляху BC і AB однакове).

Для двох близьких точок зображення, одна з яких належить до ділянки з коефіцієнтом відбиття r_1 , а друга — до ділянки з коефіцієнтом відбиття r_2 , з високою точністю виконується умова $\beta_1 = \beta_2$. Тоді різниця двох сусідніх зареєстрованих сигналів дорівнює

$$\begin{aligned} y_2 - y_1 &= \exp \left(-\frac{\tau}{\sin \beta} \right) (x_2 - x_1) = \\ &= \exp \left(-\frac{\tau}{\sin \beta} \right) (r_2 - r_1) \exp \left(-\frac{\tau}{\sin \alpha} \right). \end{aligned} \quad (7)$$

З виразу (7) обчислимо невідоме значення τ , і потім знаходимо k :

$$\tau = \frac{\sin \alpha \sin \beta}{\sin \alpha + \sin \beta} \ln \left[\frac{(r_2 - r_1) E_0}{y_2 - r_y} \right], \quad (8)$$

$$k = \exp \left(-\frac{\tau}{\sin \beta} \right) = \left[\frac{y_2 - y_1}{(r_2 - r_1) E_0} \right]^{\frac{\sin \alpha}{\sin \alpha + \sin \beta}}. \quad (9)$$

За відомим значенням k знаходимо

$$a = y_1 - kx_1 = \frac{y_1 r_2 - y_2 r_1}{r_2 - r_1}. \quad (10)$$

Отже, наведені розрахунки для двох точок зображення з різними відомими коефіцієнтами відбиття ($r_1 \neq r_2$) дозволяють встановити коефіцієнти послаблення та розсіяння сигналу за формулами (9) та (10) відповідно.

ВІДБИВАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРИРОДНИХ УТВОРЕНЬ

Практична реалізація запропонованої процедури вимагає використання табличних значень коефіцієнтів відбиття r_1 та r_2 природних утворень, які фігурують у виразах (9) та (10).

Фундаментальні дослідження відбивальних властивостей різних природних об'єктів виконані Е. Л. Криновим [9]. Розроблена ним спектрофотометрична класифікація природних утворень (рис. 2) знаходить широке застосування і в даний час.

Клас I. Оголення і ґрунти:

- тип 1 — чорнозем і субпіщані ґрунти, ґрунтові дороги й інші об'єкти;
- тип 2 — ґрунти підзолисті, глиняні й інші, шосейні дороги, деякі типи будівель;
- тип 3 — піски, різні оголення пустелі, деякі гірські породи;
- тип 4 — вапняк, глина й інші світлі об'єкти.

Клас II. Рослинні утворення:

- тип 1 — хвойні породи лісових насаджень у літній період, суходільні луги і трав'яні покриви з досить соковитою рослинністю;

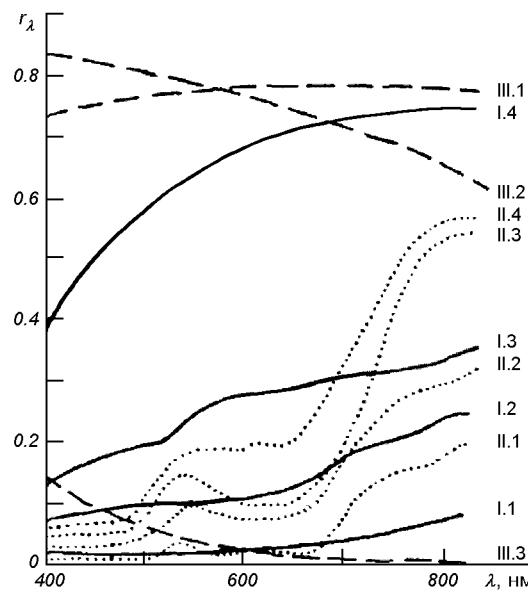


Рис. 2. Графіки спектральних коефіцієнтів відбиття природних утворень

тип 3 — лісові насадження листяних порід у літній період і всі трав'яні покриви з густою і соковитою рослинністю;

тип 4 — лісові насадження в період осіннього забарвлення і дозрілі (пожовтілі) польові культури.

Клас III. Водяні поверхні, водойми і сніговий покрив:

тип 1 — сніг, покритий крижаною кіркою;

тип 2 — свіжий сніг;

тип 3 — водяна поверхня, що відбиває блакитне небо під великим кутом до нормалі.

Дана класифікація застосовна як до окремих елементів, що утворять природний покрив даної місцевості, так і до цілих ландшафтів. Наприклад, при наявності снігового покриву весь ландшафт приймає властивості, властиві об'єктам третього класу. Пустелі, випалені степи, голі скелі й області помірного поясу ранньою весною чи пізньою осінню в силу жовто-бурого забарвлення можуть бути віднесені до першого класу, а області, покриті зеленою рослинністю, — до другого класу.

Фактичне значення коефіцієнта спектральної яскравості природних об'єктів залежить від геометричних умов освітлення і спостереження,

характеру відбивної поверхні, шорсткості, вологості, вегетаційного періоду рослинності, пори року, ступеня покриття рослинністю, типу ґрунтів і т. д. Але ця залежність є незначною, тому вище наведений графік може бути використаний для корекції космічних знімків [3, 5].

ПРИКЛАД ПРАКТИЧНОЇ РЕАЛІЗАЦІЇ ПРОЦЕДУРИ КОРЕКЦІЇ

У формулах фігурують кути нахилу КА та Сонця. Ці параметри повинні бути знайдені із просторово-часових характеристик, що супроводжують знімок.

Розглянемо знімок, зроблений 21 серпня 2000 р. апаратом ETM⁺ у каналі 62 з космічного супутника LANDSAT 7 над географічною точкою $\lambda = 44.6129^\circ$, $\varphi = 33.0989^\circ$. При цьому кут на Сонце складає 52.37° , азимут — 143.37° , кут зору — 90° .

З цих даних отримаємо значення $\alpha = 52.37^\circ$, $\beta = 90^\circ$.

Географічна прив'язка дозволяє встановити, що на знімку є вода та пісок біля неї (насікавлять дві сусідні ділянки). З рис. 2 знаходимо значення $r_1 = 0.2$ (пісок, належить до класу I.3); $r_2 = 0.05$ (вода, клас III.3).

Зі знімка знаходимо яскравості, що відповідають цим поверхням: $y_1 = 220$, $y_2 = 150$.

Далі за допомогою формул (9) та (10) обчислюємо необхідні параметри та виконуємо попікельне відновлення космічного знімка.

ВИСНОВКИ

В роботі запропоновано нову адаптивну процедуру для проведення низькочастотної атмосферної корекції оптичних космічних знімків. В її основу покладено формули коефіцієнтів послаблення та розсіяння, отримані авторами, та дані про відбивальні властивості підстильних поверхонь. Низькочастотна корекція космічних знімків є досить легкою для кінцевого виконання. Але основна складність полягає у визначенні коефіцієнтів відбивання піддослідних поверхонь. Задача значно спрощується при наявності на знімку так званих тестових полігонів, про які вся потрібна інформація відома.

Рис. 3. Космічний знімок LANDSAT (*а*) та відкоригований знімок (*б*)

1. Белан Б. Д. Пространственная изменчивость характеристик атмосферного аэрозоля. — Новосибирск: Сиб. Отд-ние АН СССР, 1989.—145 с.
2. Зуев В. Е., Креков Г. М. Оптические модели атмосферы. — Л.: Гидрометеоиздат, 1986.—256 с.
3. Кондратьев К. Я., Биненко В. И., Дьяченко Л. Н. Альbedo и угловые характеристики отражения подстилающей поверхности и облаков. — Л.: Гидрометеоиздат, 1981.—232 с.
4. Кононов В. И., Федоровский А. Д., Дубинский Г. П. Оптические системы построения изображений. — Киев: Техника, 1981.—206 с.
5. Кринов Е. Л. Спектральная отражательная способность природных образований. — М-Л.: Наука, 1947.—241 с.
6. Савиных В. П., Кучко А. С., Стеценко А. Ф. Аэрокосмическая фотосъемка: Учебник. — М.: Картогеоцентр —Геоиздат, 1997.—378 с.
7. Смирнов С. А., Москічов Д. В., Терлецький Р. П. Методика оцінювання параметрів оптичної передаточної функції атмосфери // Космічна наука та технологія.—2004.—10, № 2/3.—С. 51—58.
8. Смирнов С. А., Терлецький Р. П. Математична модель оптичних передатних характеристик земної атмосфери // Космічна наука і технологія.—2002.—8, № 4.—С. 64—72.
9. Stamnes K., Wei Li. Challenges in atmospheric correction of satellite imagery // J. Photo-Opt. Instrumentation.—2005.—N 1.—P. 1—9.
10. Vermote E., Vermeulen A. Atmospheric correction algorithm: spectral reflectance. — NASA, 2004.—107 р.—(Contract NAS5-96062).

LOW-FREQUENCY ATMOSPHERIC CORRECTION OF SPACE IMAGES

S. A. Smirnov, R. P. Terletsky, I. S. Gontarenko

An adaptive procedure for low-frequency space image correction is proposed. The formulas obtained for reduction and dispersion coefficients are used at the preliminary stage of the procedure. The following practical realization of the procedure lies in the pixel-by-pixel inverse transformation to obtain a corrected image. To test the adaptive procedure, atmospheric correction of LANDSAT 7 image was successfully carried out.

Е. И. Капустин¹, А. И. Кириллов¹, Е. И. Махонин², К. Ф. Волох²

¹Державне підприємство «Дніпрокосмос», Дніпропетровськ

²Національне космічне агентство України, Київ

Динамическое управление памятью бортового запоминающего устройства космического аппарата

Надійшла до редакції 26.10.06

Пропонується ефективний спосіб планування роботи корисного навантаження й керування пам'яттю бортового запам'ятовувального пристрою космічного апарату для дистанційного зондування Землі.

Космические аппараты являются инструментами глобального наблюдения Земли, и их эффективное использование возможно только в случае, когда они используются в интересах многих стран. Сейчас все больше пользователей хотят получать информацию дистанционного зондирования Земли (ДЗЗ) на свои приемные станции. Во-первых, так она дешевле, а во-вторых, она поступает более оперативно. Число приемных станций различных космических систем, размещенных у потребителей, постоянно возрастает.

Так, Россия в апреле 2006 г. установила две наземные приемные станции (одну в пос. Ивантеевка под Москвой, другую в Иркутске) для приема информации от космического аппарата (КА) SPOT. В настоящее время в мире имеется 27 наземных станций, принимающих информацию от КА этого типа. Расположение наземных приемных станций представлено на рис. 1.

На рис. 2 показано расположение наземных приемных станций, обеспечивавших возможность принятия информации от КА «Січ-1»,



Рис. 1. Расположение приемных станций КА SPOT-5 (квадратики), SPOT-2,-3 (кружки); треугольники — основные станции

Рис. 2. Пункты приема информации КА «Сич-1М»

«Січ-1М», «Океан-О», и их зоны радиовидимости.

В бортовых информационных комплексах КА «Січ-1», «Січ-1М», «Океан-О», «МС-1-ТК» для хранения информации от приборов полезной нагрузки использовались два основных типа команд работы с бортовым запоминающим устройством: запись (воспроизведение) с нулевого адреса, дозапись (довоиспроизведение) с текущего адреса. Фактически такой набор команд из-за отсутствия в составе бортового измерительного комплекса КА бортовой цифровой вычислительной машины (БЦВМ) и памяти прямого доступа ориентирован на работу с магнитофонами, которыми были оснащены КА «Січ-1», «Січ-1М», «Океан-О». После заполнения памяти бортового запоминающего устройства необходимо сбросить всю накопленную информацию на наземные приемные станции. И только после этого можно выполнять другие съемки с записью в запоминающее устройство бортового измерительного комплекса КА [4, 5].

Районы земной поверхности, интересующие потребителя, как и зоны радиовидимости наземных приемных станций, расположены случайным образом вдоль трассы полета КА [3].

Неэффективность выполнения съемок с таким набором команд можно проиллюстрировать на следующем примере. На рис. 3 представлены схематически районы съемки и зоны радиовидимости приемных станций (ПС), на которые необходимо сбросить информацию по этим районам [1]. План работы КА в этом случае будет содержать следующую последовательность операций:

- съемка первого района (команда «запись»),
- съемка второго района (команда «дозапись»),
- сброс информации по обоим районам на ПС1 (команда «воспроизведение»), хотя ему нужна информация только по первому району,
- сброс информации по обоим районам на ПС2 (команда «воспроизведение»), хотя ему нужна информация только по второму району.

Произвести съемку третьего района невозможно, так как память на этот момент полностью занята информацией, полученной при съемке первых двух районов. Поскольку каждая приемная станция, расположенная в средних широтах ($30-50^{\circ}$), может принимать от КА ДЗЗ, находящихся на приполярных орбитах, информацию

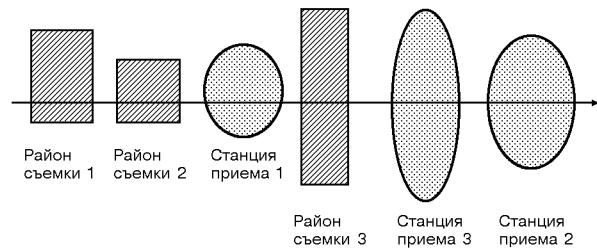


Рис. 3. Последовательность прохождения районов съемки и зон радиовидимости приемных станций

два раза в сутки (обычно на двух витках утром и на двух витках вечером), когда КА находится в зоне радиовидимости, время от момента съемки до сброса может достигать до 10 ч. В это время возможна работа только в режиме непосредственной передачи без записи в память запоминающего устройства.

Однако уже в состав бортового информационного комплекса КА «МС-1-ТК» были включены БЦВМ и выполненное на микросхемах запоминающее устройство, обеспечивающее прямой доступ к любой ячейке памяти. В разрабатываемых перспективных КА, таких как «Січ-2», «Січ-3», запоминающие устройства также выполнены на микросхемах, и также предполагается использование БЦВМ в составе бортовых информационных комплексов [2].

В отличие от запоминающих устройств с использованием магнитофонов, которые обеспечивали только последовательный доступ к информации, запоминающие устройства на микросхемах обеспечивают прямой доступ к любой ячейке памяти для записи или воспроизведения информации. Таким образом, появляется возможность записывать в запоминающее устройство и передавать на приемные станции пользователей только ту информацию, которую они заказали. Освободившаяся после передачи на приемную станцию часть памяти бортового запоминающего устройства может быть использована для выполнения заявок других пользователей.

Предлагается следующий способ планирования работы полезной нагрузки и управления памятью бортового запоминающего устройства. Весь объем памяти, предназначенный для записи и хранения информации ДЗЗ в бортовом запоминающем устройстве, делится на блоки одинакового объема. Так как на борту КА ко-

манды выдаются на исполнение с интервалом 1 с, целесообразно разместить блоки выбрать равным объему информации, поступающей в запоминающее устройство за это время с минимальной скоростью. Для КА МС-2-8 количество поступающей информации за 1 с составит

$$V_n = V_{1k} = 5.7 \text{ Мбайт},$$

где $V_{1k} = 5836800$ байт — количество информации, поступающей в запоминающее устройство за одну секунду при съемке одним каналом МСУ [6].

Размер блока выбираем кратным одному мегабайту: $V_b = 6.0$ Мбайт. При общем объеме памяти запоминающего устройства 3 Гбайта получится 333 блока.

В командах, передаваемых на борт КА, указывается номер блока памяти, с которого начинается запись или воспроизведение информации. Количество блоков рассчитывается исходя из скорости поступления/выборки информации и длительности запланированной съемки/сброса.

Теперь видно, что в ситуации, показанной на рис. 3, можно запланировать съемку третьего района и сброс информации на ПСЗ, используя освободившуюся память после сброса информации по первому району на ПС1. Кроме того, на каждую приемную станцию сбрасывается только та информация, которая необходима. Тем самым сокращается время сброса данных ДЗЗ, что важно для КА МС-2-8, у которого скорость воспроизведения ниже максимальной скорости записи в память запоминающего устройства в 5.9 раза.

Возможность реализации такого способа управления запоминающим устройством при планировании работы полезной нагрузки появляется уже для КА МС-2-8. Дело в том, что алгоритм выполнения команд «дозапись» («довоиспроизведение») в случае выхода из строя первой микросхемы памяти предусматривает возможность передачи значений счетчиков для установки адреса памяти запоминающего устройства в закладываемой на борт программе в полях КУ3, КУ4 (команд 40 и 41 для записи и команд 42 и 43 для воспроизведения), с которого будет осуществляться запись или воспроизведение информации [6].

В случае, если КА является аппаратом двойного назначения, а современные КА ДЗЗ высокого разрешения таковыми и являются, актуаль-

ность сброса потребителям только заказанной ими информации резко возрастает.

Кроме того, за счет выполнения большего количества заявок пользователей повышается эффективность целевого использования космического аппарата.

При планировании работы полезной нагрузки предлагаемый способ управления запоминающим устройством целесообразно использовать уже при количестве приемных станций больше двух. Чем больше будет приемных станций, тем выше эффективность использования КА.

1. Волошин В. И., Капустин Е. И., Кириллов А. И. и др. Информационные технологии в управлении работой полезной нагрузки космических аппаратов по дистанционному зондированию Земли // Космічна наука и технология.—2005.—11, № 3/4.—С. 88—91.
2. Волошин В. И., Капустин Е. И., Кириллов А. И. и др. Принципы построения алгоритмов планирования работы полезной нагрузки КА высокого разрешения для съемки районов поверхности Земли большой площади // Пятая Укр. конф. по комическим исследованиям: Сб. тез. (4—11 сентября 2005 г., НЦУИКС, Евпатория). — Киев: Ин-т космических исследований НАНУ-НКАУ, 2005.—С. 163.
3. Волошин В. И., Капустин Е. И., Кириллов А. И. и др. Определение длительности зон радиовидимости с учетом углов закрытия для проведения сеансов связи с КА // Пятая Укр. конф. по комическим исследованиям: Сб. тез. (4—11 сентября 2005 г., НЦУИКС, Евпатория). — Киев: Ин-т космических исследований НАНУ-НКАУ, 2005.—С. 162.
4. Капустин Е. И., Кириллов А. И., Махонин Е. И., Волох К. Ф. Создание структуры архива данных дистанционного зондирования Земли Национального космического агентства Украины // Космічна наука и технология.—2004.—10, № 5/6.—С. 181—184.
5. Кириллов А. И., Кириллова Н. А., Махонин Е. И. Формирование и отображение планов работы полезной нагрузки космических аппаратов и полученных данных дистанционного зондирования Земли с применением программных пакетов ГИС-технологий // Космічна наука и технология.—2005.—11, № 3/4.—С. 85—87.
6. Спутник «EgyptSat-1». Исходные данные для планирования работы приборов полезной нагрузки. — Днепропетровск: ГКБ «Южное», 2006.—Вып. 2.

DYNAMIC MANAGEMENT OF THE ONBOARD MEMORY DEVICE OF A SPACE VEHICLE

Ye. I. Kapustin, A. I. Kirillov, Ye. I. Mahonin, K. F. Voloh

An effective way of payload scheduling and onboard memory management of a space vehicle for the Earth remote sensing is offered.

УДК 528.8

А. И. Кириллов¹, Е. И. Капустин¹, Н. А. Кириллова¹,
Е. И. Махонин², К. Ф. Волох²

¹Державне підприємство «Дніпрокосмос», Дніпропетровськ

²Національне космічне агентство України, Київ

Алгоритм планирования реализации тематических программ дистанционного зондирования Земли

Надійшла до редакції 26.10.06

Розглянуто принципи планування реалізації тематичних програм дистанційного зондування Землі з побудовою матриці відповідності даних ДЗЗ класифікатору тематичних завдань.

Данные дистанционного зондирования Земли (ДЗЗ) из космоса нашли широкое применение практически во всех сферах государственной, хозяйственной, экономической и социальной жизнедеятельности государства. На околоземной орбите в настоящее время находятся приблизительно 50 космических аппаратов (КА) ДЗЗ, которые позволяют зондировать поверхность всего земного шара, непрерывно обновляя данные ДЗЗ.

Мониторинг земной поверхности осуществляется в соответствии с тематическими программами ДЗЗ, которые могут носить предметную или комплексную ориентацию использования данных ДЗЗ.

К предметным тематическим программам ДЗЗ можно отнести решение задач для:

- агропромышленного комплекса;
- геологоразведки и поиска полезных ископаемых;
- исследования водных ресурсов;
- наблюдения за лесными покровами;
- наблюдения за снежным покровом и прогнозирования паводков;
- кризисного мониторинга и многих других.

К комплексным тематическим программам ДЗЗ можно отнести решение задач для:

- управления административно-хозяйственной деятельностью регионов;
- научных программ исследования Земли из космоса;
- стратегического планирования хозяйственного, экономического и социального развития регионов.

Для эффективного целевого использования космических изображений при реализации тематических программ ДЗЗ необходимы данные ДЗЗ, полученные с применением приборов полезной нагрузки КА с различными характеристиками (разрешение, спектральные каналы, полосы обзора/захвата и т. п.), которые могут быть установлены на различных КА ДЗЗ. Возможны случаи, когда для решения одной тематической задачи необходимы данные ДЗЗ, полученные от нескольких приборов полезной нагрузки КА ДЗЗ.

Таким образом, на первый план для выполнения тематических программ ДЗЗ выступает проблема составления плана получения необходимых данных ДЗЗ.

В условиях многокритериальности поставленной задачи (необходимая/допустимая периодичность наблюдения за районом съемки, степень и глубина использования архивных данных ДЗЗ,

Таблица 1. Систематизация тематических задач

Раздел	Тема	Наименование задачи (тематическая карта)
Лесные ресурсы	Запасы леса	Определение границ лесов Оценка породного состава древесины Оценка...
	Лесные пожары и послепожарная инвентаризация леса	Оценка пожароопасности леса Выделение гарей, определение возраста пожара Оценка...

Таблица 2. Построение матрицы соответствия тематических задач

Тематическое определение задачи			Картографический результат решения		Требуемые характеристики данных ДЗЗ			
раздел	тема	наименование задачи	тематическая карта	картируемый слой	разрешение, м	спектральный диапазон, мкм	прибор съемки	сезон съемки
Лесные ресурсы	Запасы леса	Определение границ лесов	Лесов, геоботаническая, лесистости	Лесистость	250—1000 170 30	0.4—1.1	MODIS МСУЭ ETM + LISSIII	беснежный

оперативность получения результатов обработки, ограничение средств на приобретение снимков у операторов зарубежных космических систем и др.) и многовариантности (получение данных ДЗЗ от различных КА, из архива и т. п.) ее решения, проблему планирования реализации тематических программ ДЗЗ целесообразно решать с применением информационных технологий.

Инструментом для планирования и координации работ по реализации программ ДЗЗ является классификатор тематических задач оценки природных ресурсов и окружающей среды с применением данных ДЗЗ, в котором тематические задачи (тематические карты местности) систематизированы по темам и разделам мониторинга поверхности Земли (табл. 1).

В основу алгоритма планирования реализации тематических программ ДЗЗ положено построение матрицы соответствия технических характеристик получаемых снимков (пространственное разрешение, спектральный диапазон съемки и т. п.) решаемым тематическим задачам (табл. 2).

Алгоритм планирования реализации тематических программ ДЗЗ приведен на рис. 1.

Тематическая программа ДЗЗ вводится в базу данных программного комплекса в виде заданий на получение тематических карт. Задания описываются следующими основными параметрами:

- тематическая программа;
- период действия программы;
- период наблюдения по заданию;
- координаты района наблюдения;
- требуемое время полного покрытия районов большой площади [1];
- периодичность наблюдения;
- требования к выходным тематическим картам.

Ввод данных производится по специальному шаблону (интерфейс оператора).

Далее производится анализ заданий и определение вариантов получения данных ДЗЗ для реализации задания. Алгоритм анализа базируется на матрице соответствия, критериях по заказам (съемка только украинскими КА, ограничения по стоимости снимков, применение архивных данных и т. п.) и нормативно-справочной информации (характеристики КА и приборов съемки, методики решения тематических задач, стоимости проведения съемки зарубежными операторами и т. п.), программно реализованных набором и структурой таблиц базы данных программного комплекса. Информация данных таблиц базы данных может корректироваться и добавляться по мере развития классификатора тематических задач и появления возможностей получения данных ДЗЗ от новых КА.

В результате анализа оператору представляются варианты получения данных ДЗЗ, содержащие

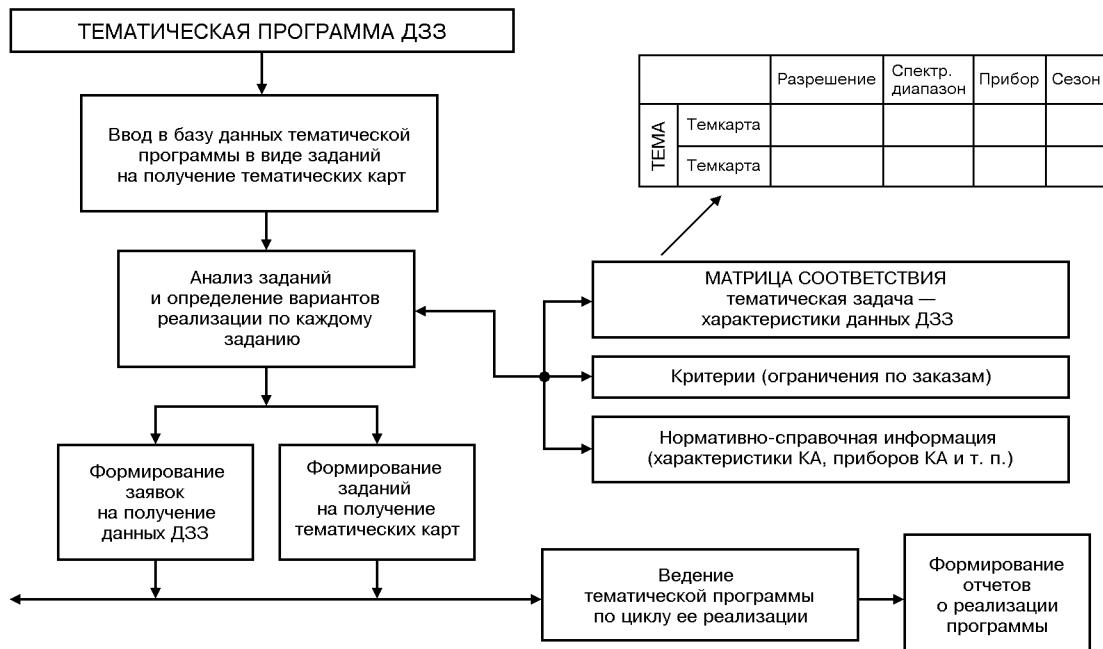


Рис. 1. Алгоритм планирования реализации тематических программ ДЗЗ

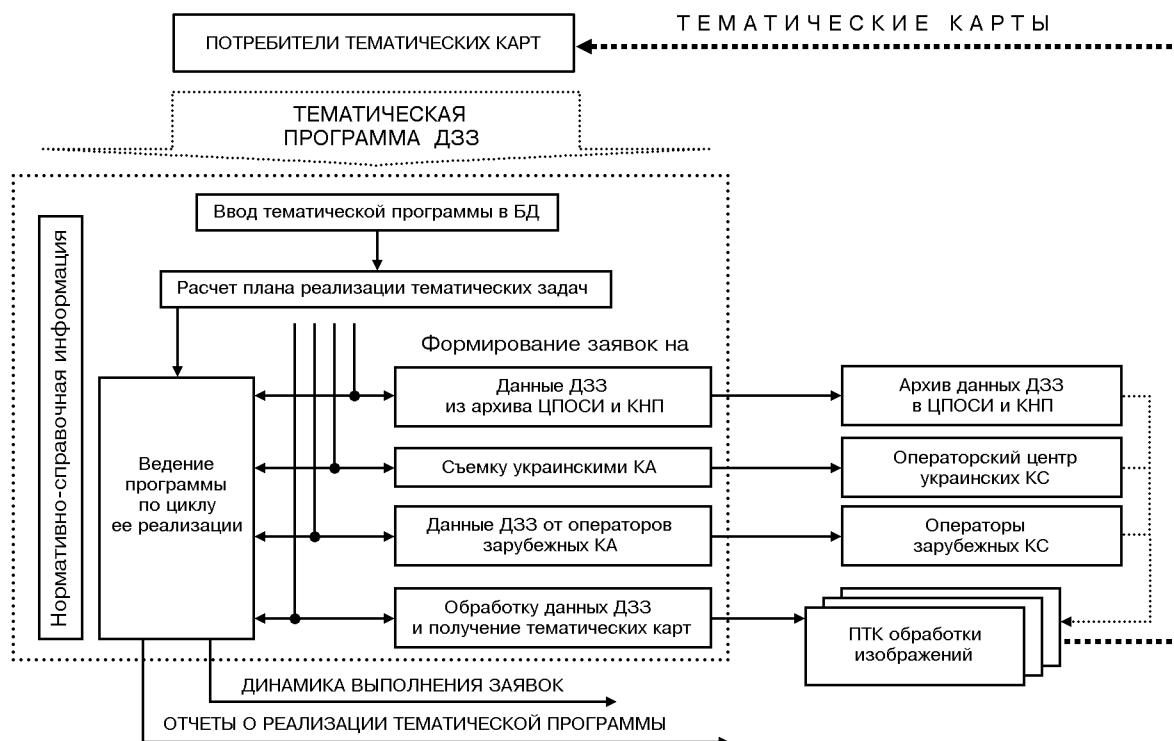


Рис. 2. Технология реализации тематических программ ДЗЗ с применением информационных технологий

жащие в себе следующую информацию:

- КА и прибор съемки;
- периодичность наблюдения за районом съемки;
- оперативность получения данных ДЗЗ;
- наличие данных ДЗЗ по данному КА и прибору в архиве данных ДЗЗ в Центре приема и обработки специальной информации и контроля навигационного поля (ЦПОСИ и КНП) [3] (для случая применения архивных данных ДЗЗ);
- стоимость получения данных ДЗЗ;
- адреса украинских и зарубежных операторов космических систем ДЗЗ.

Оператор, исходя из заданных критериев и ограничений, определяет основной вариант получения данных ДЗЗ для реализации данной задачи в тематической программе ДЗЗ.

После выбора вариантов решения тематических задач формируется план реализации тематической программы ДЗЗ, включающий в себя формирование:

- заявок на получение данных ДЗЗ от украинских КА;
- заявок на получение данных ДЗЗ от зарубежных КА;
- заявок на получение данных ДЗЗ из архива ЦПОСИ и КНП;
- заданий на обработку данных ДЗЗ для получения тематических карт.

Заявки на съемку украинскими КА формируются в виде файлов обмена в согласованной для наземного информационного комплекса (НИК) данной космической системы (КС) структуре и передаются в операторский центр НИК КС [2].

Заявки на съемку и задания на обработку данных ДЗЗ заносятся в базу данных программного комплекса.

Заключительным этапом функционирования алгоритма планирования реализации тематических программ ДЗЗ является ведение заявок (на получение данных ДЗЗ) и заданий (на обработ-

ку данных ДЗЗ) по циклу их реализации, отслеживании динамики их выполнения и формировании отчетов о реализации программы.

На рис. 2 приводится технология реализации тематических программ ДЗЗ с применением приведенного выше алгоритма и информационных технологий.

Предлагаемый алгоритм планирования реализации тематических программ ДЗЗ был опробован в разработанном ГП «Днепрокосмос» макете программного модуля АРМ подсистемы управления информационно-аналитической системы (ИАС) НКАУ для планирования выполнения заказов абонентов ИАС на получение тематических карт.

1. Волошин В. И., Капустин Е. И., Кириллов А. И. и др. Принципы построения алгоритмов планирования работы полезной нагрузки КА высокого разрешения для съемки районов поверхности Земли большой площади // Пятая Укр. конф. по комическим исследованиям: Сб. тез. (4–11 сентября 2005 г., НЦУИКС, Евпатория). — Киев: Ин-т космических исследований НАНУ-НКАУ, 2005.—С. 163.
2. Волошин В. И., Капустин Е. И., Кириллов А. И. и др. Информационные технологии в управлении работой полезной нагрузки космических аппаратов по дистанционному зондированию Земли // Космічна наука и технологія.—2005.—11, № 3/4.—С. 88—91.
3. Капустин Е. И., Кириллов А. И., Махонин Е. И., Волох К. Ф. Создание структуры архива данных дистанционного зондирования Земли Национального космического агентства Украины // Космічна наука и технологія.—2004.—10, № 5/6.—С. 181—184.

ALGORITHM FOR PLANNING OF REALIZATION OF THEMATIC PROGRAMS OF THE EARTH REMOTE SENSING

*A. I. Kirillov, Ye. I. Kapustin, N. A. Kirillova,
Ye. I. Mahonin, K. F. Voloh*

Some principles for planning of realization of thematic programs of the Earth remote sensing with the construction of conformity matrixes of thematic tasks of the qualifier are considered.

УДК 576.36:577.218

О. А. Артеменко

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, Київ

Вплив зміненої гравітації на проліферативну систему дводобових проростків гороху

Надійшла до редакції 26.10.06

Встановлення впливу клиностатування на чутливість проліферативної системи рослин має велике значення для розуміння та подальшого дослідження особливості їхнього розвитку та вивчення молекулярних механізмів регуляції клітинного циклу в умовах зміненої сили тяжіння. Визначення мітотичної активності клітин кореневої меристеми дводобових проростків гороху, співвідношення фаз мітозу та розподіл за вмістом ДНК вказують на зменшення цих параметрів за умов клиностатування протягом перших 12 годин дії фактора. Стабілізація подій клітинного циклу після 12 годин експерименту свідчить про високу адаптаційну здатність проліферативної системи рослин.

ВСТУП

Дані про рівень проліферативної активності меристематичних клітин в умовах мікрогравітації мають суперечливий характер. Так, у більшості космічних експериментів мітотична активність клітин кореневої меристеми (проростки кукурудзи) зменшувалася на 15—30 %, що пов’язується зі зниженням проліферативного пулу, або відбувається з прискоренням мітозу [1]. В той же час наведені дані про збільшення мітотичного індексу у порівнянні з наземним контролем в клітинах кореневої меристеми проростків кукурудзи та сочевиці [9, 11]. Припускається, що збільшення мітотичної активності пов’язане з подовженням мітозу або зі скороченням тривалості клітинного циклу. Однак також є дані про відсутність статистично вірогідної відмінності за мітотичною активністю клітин кореневої меристеми крес-салату між контрольним і польотним варіантами [4]. Така неоднозначність результатів, описаних в літературних джерелах, пов’язана з дією різних чинників, а

також з різними строками дослідження мітотичної активності. Тому метою даної роботи було визначення чутливості проліферативної системи дводобових проростків гороху на дію клиностатування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Аналіз літературних даних показав, що більшість робіт з вивчення проліферації клітин, зокрема механізмів проходження клітиною мітотичного циклу, проводилися на меристемі коренів проростків різних рослин [1, 2, 5, 9, 11]. Однак ми обрали горох не випадково, бо саме зародкова меристема кореня проростаючого насіння гороху, за даними [5], є зручним експериментальним об’єктом із синхронним просуванням клітин по циклу для вивчення фізіологобіохімічних та молекулярних механізмів регуляції проліферації рослинних клітин.

В наземних дослідженнях впливу зміненої гравітації на рослини широко використовують

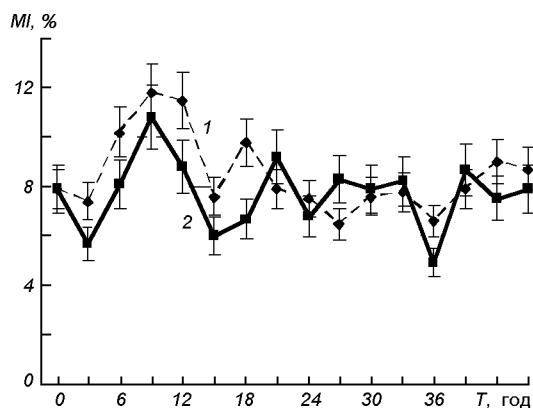


Рис. 1. Значення мітотичного індексу MI клітин меристеми коренів дводобових проростків гороху: 1 — у контролі, 2 — у умовах клиностатування

клиностати, що частково відтворюють біологічні ефекти мікログравітації. За умов клиностатування рослина позбавлена можливості сприймати гравітаційний стимул. Об'єкт постійно дезорієнтується в полі земного тяжіння, таким чином створюється один з наслідків невагомості — відсутність постійності орієнтуючої дії вектору гравітації.

Клиностат складається з механічної платформи, що крутиться під кутом з рівномірною швидкістю навколо горизонтальної осі та обладнана скобами для фіксації контейнерів з дослідними організмами. Зазвичай використовують два типи клиностатів: повільний (зі швидкістю 1—5 об/хв), та швидкий (зі швидкістю 50—120 об/хв).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Середня тривалість фази мітозу в клітинах меристеми гороху складає 3 год, тому через кожні три години дії повільного горизонтального клиностатування відбирали фракції контрольного та дослідного варіантів. За вихідну точку вважали час початку досліду (48 год). Результати підрахунку мітотичного індексу представлені на рис. 1. На час початку досліду значення MI у вихідній точці дорівнювало 7.9 %. В контролі через 3 год після початку досліду мітотичний індекс зменшився у порівнянні з вихідною точ-

Співвідношення фаз мітозу клітинного циклу в клітинах кореня дводобових проростків гороху

T, год	ІНТЕРФАЗА : ПРОФАЗА : МЕТАФАЗА : АНАФАЗА : ТЕЛОФАЗА	
	Контроль	Клиностатування
0	91.99:3.64:2.07:0.8 :1.3	91.99:3.64:2.07:0.8 :1.3
3	92.60:3.80:1.75:0.76:1.09	94.24:2.16:1.30:1.20:1.10
6	89.81:4.80:1.98:1.61:1.80	91.90:3.72:1.75:0.75:1.88
9	88.16:5.68:2.26:2.32:1.57	89.14:4.82:2.15:1.85:2.04
12	89.45:5.96:2.60:1.19:1.80	91.23:4.75:1.75:1.10:1.17

кою, але не суттєво. Далі спостерігається поступове зростання мітотичної активності, і через 9 год MI складає $11.8 \pm 2.54\%$, а потім зменшується до $11.5 \pm 1.0\%$. В досліді через 3 год клиностатування відбувається помітне зменшення мітотичного індексу у порівнянні з вихідною точкою, MI в дослідному варіанті складає 5.7 %. Протягом всього експерименту за умов повільногоризонтального клиностатування спостерігається зменшення мітотичного індексу у порівнянні з контролем, хоча до 9 годин дії чинника включно ця різниця не є статистично вірогідною. Статистично вірогідна відмінність MI між контрольним та дослідним варіантами дводобових проростків гороху спостерігається лише через 12 годин після дії зміненої сили тяжіння. На цю годину MI в клиностатному варіанті становить 8.7 %, що майже на 3 % нижче ніж в контролі. Динаміка мітотичної активності за умов клиностатування подібна до такої в контролі. Крива мітозів повторює всі піки та зниження контрольного варіанту, але з нижчими показниками.

Для визначення співвідношення фаз мітозу в клітинах (таблиця) за 100 % вважали загальну кількість досліджуваних клітин в кожному з варіантів. Подальші розрахунки співвідношення фаз проводили відносно цієї величини. Значне зниження кількості клітин майже на всіх фазах мітозу через 3 години після початку клиностатування вказує на чутливість проліферативної системи до відсутності сприйняття гравітаційного стимулу. Подальша стабілізація співвідношення профаз та метафаз і підвищення кількості клітин в цих фазах може свідчити про початок адаптаційних процесів, які відбуваються в клітині у відповідь на дію несприятливих чинників.

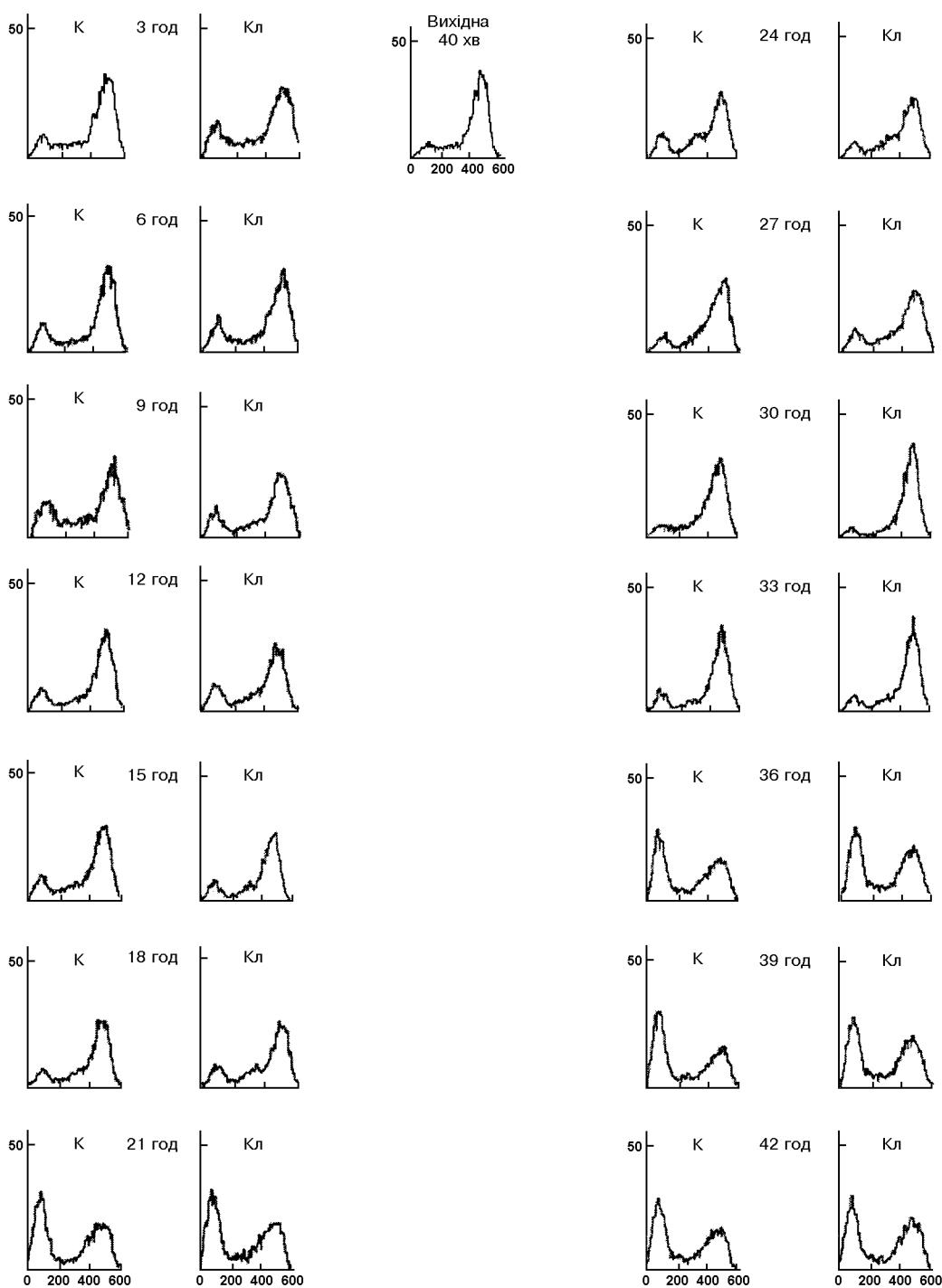


Рис. 2. Розподіл ядер клітин кореневої меристеми гороху за інтенсивністю флуоресценції йодистого пропідію (К — контроль, Кл — клиностатування)

Як в контролльному, так і в дослідному варіантах на 12-ту годину після початку клиностатування відмічено значну подібність параметрів розподілу клітин на різних фазах мітозу до параметрів вихідної точки, що вказує на значні адаптаційні можливості проліферативної системи.

Результати цитофлуорометричного аналізу зв'язування йодистого пропідію ядрами клітин меристем наведено на рис. 2 у вигляді гістограм, що відображають розподіл ядер за інтенсивністю флюoresценції. У меристемах дводобових проростків переважна кількість клітин, майже 75 %, зосереджена у другому піку і має середній рівень флюoresценції близько 400 умовних одиниць (у. о.), що відповідає клітинам з чотирикратним (4С) вмістом ДНК. Такий розподіл вказує на перехід до мітозу основної популяції клітин меристеми гороху, що характерне для зрілого насіння багатьох видів рослин. Окрім того, у першому, меншому піку, представлена популяція клітин з рівнем інтенсивності флюoresценції до 200 у. о., тобто 2С-клітин, що свідчить про несинхронність переходу клітин з однієї фази до іншої. Протягом експерименту, до 24-ї год включно, в умовах клиностатування спостерігалося зменшення кількості ядер з 4С-вмістом ДНК, а з 27-ї год і до кінця експерименту, навпаки, — її збільшення у порівнянні з контролльним варіантом. Проте починаючи з 33-ї год відбуваються зміни в розподілі клітин за вмістом ДНК як в контролі, так і в умовах клиностатування. Кількість клітин з 2С- та 4С-вмістом ДНК стає майже однаковою в обох варіантах, але у порівнянні з контролем кількість клітин з 4С-ДНК в умовах клиностатування більша. Така асинхронність популяції може свідчити про закінчення періоду високої мітотичної активності перших клітинних циклів і перехід до латентного стану з вмістом клітин у стані спокою та тих, які активно діляться.

Отримані нами дані про мітотичну активність дводобових проростків гороху виявили її зменшення, що збігається з даними для інших рослин. У роботах [1, 10, 12] вважається, що таке зниження мітотичного індексу пов'язане зі зниженням клітинної проліферації та/або зі змінами співвідношення клітин, які діляться, та інтерфазних клітин, що може призвести до

зменшення тривалості мітозу.

Як правило, зменшення МІ у клітинах меристеми коренів різних рослин в умовах мікровергівії та клиностатування спостерігається протягом перших діб експерименту, і збільшується після 5 діб [8], що пов'язувалось зі збільшенням вмісту гормонів (ІОК, АБК, зеатину) в коренях дослідних рослин після 5, 15 та 20 діб росту. Відсутність динаміки мітотичної активності в цих літературних даних також ускладнює аналіз та узагальнення цих результатів. Отже, зниження мітотичної активності може відбуватися за рахунок прискорення мітозу або пов'язане зі зниженням проліферативного пулу, яке відбувається завдяки збільшенню тривалості пресинтетичної фази. Зменшення кількості метафазних клітин також вважають однією з можливих причин зменшення мітотичного індексу в умовах клиностатування. Тут ми вважаємо, що зниження проліферативної активності клітин кореневої меристеми дводобових проростків гороху пов'язане з виявленням нижчих показників МІ. Виявлені нами зменшення мітотичної активності в умовах клиностатування є наслідком затримки переходу клітин з пресинтетичної фази циклу до фази синтезу ДНК, зумовленого подовженням G_1 -фази. Ці дані повністю збігаються з літературними даними про збільшення тривалості цієї фази у відповідь на будь-які фізичні та хімічні фактори [2, 3, 6, 7]. Отриманий висновок про стабілізацію подій мітотичного циклу після 12 год експерименту вказує на високу адаптаційну здатність проліферативної системи рослин.

1. Бармичева Е. М., Гриф В. Г., Таирбеков М. Г. Рост и структура клеток алекса корня кукурудзы под влиянием космического полета // Цитология.—1989.—31.— С. 1324—1328.
2. Гриф В. Г., Иванов В. Б. Параметры митотического цикла у цветковых растений // Цитология.—1995.—37, № 8.—С. 723—743.
3. Гудков И. Н. Регуляция клеточного цикла растений. — Киев: Наук. думка, 1985.—180 с.
4. Таирбеков М. Г., Парфенов Г. П., Платанова Р. Н., Жваликовская В. П. Биологические исследования на биоспутниках «Космос». — М.: Наука, 1979.—160 с.
5. Троян В. М. Клітинний цикл рослин та його регуляція. — Київ: Наук. думка, 1998.—171 с.
6. Удовенко Г. В., Драгавцев В. А., Волкова А. М. Реакция разных генотипов яровой мягкой пшеницы на засуху при различных температурных режимах вегетации // С.-х. биология.—1998.—Вып. 3.—С. 60—68.

7. Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. — Уфа: Гилем, 2001.—160 с.
8. Aarrouf J., Schoevaert D., Maldiney R., Perbal G. Changes in hormonal balance and meristematic activity in primary root tips on the slowly rotating clinostat and their effect on the development of the rapeseed root system // *Physiol. Plant.*—1999.—105.—P. 708—718.
9. Darbelly N. Effects de la stimulation gravitropique et de la microgravité sur la différenciation cellulaires dans les racines primaires // *Bull. Soc. Bot. Fr.*—1988.—N 135.—P. 229—250.
10. Driss-Ecole D., Perbal G. Importance of the l_g controls in interpreting the results of an experiment on plant gravitropism. — Malaga, 1989.—334 p.—(Preprint of the 40th Congress of IAF).
11. Driss-Ecole D., Shoevaert D., Now M., Perbal G. Densitometric analysis of nuclear DNA content in lentil roots grown in space // *Biol. Cell.*—1994.—N 81.—P. 59—64.
12. Krikorian A. D., O'Connor S. A. Karyological observation // *Ann. Bot.*—1984.—54, Suppl. 3.—P. 49—63.

THE ALTERED GRAVITY EFFECT ON PROLIFERATIVE SYSTEM OF TWO-DAY PEA GERMS**O. A. Artemenko**

The study of clinorotation effect on proliferative system sensitivity of plants is very important for understanding and future investigations of their development characteristics and for examination of cell cycle regulation molecular mechanisms. Determination of two-day pea germ mitotic activity of cells, correlation of mitosis phase and DNA content point to decrease of these parameters under clinorotation during the first 12 hours of the factor influence. Cell cycle stabilization after 12 hours of the experiment show high adaptation capacity of plant proliferative system.

УДК 581.43(582.794.1+581.522.5)

Г. В. Шевченко, Е. Л. Кордюм

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, Київ
e-mail: galina-shevchenko@yandex.ru

Влияние клиностатирования на рост корневых волосков проростков *Beta vulgaris L.*

Надійшла до редакції 26.10.06

Приведено дані про вплив клиностатування на послідовні стадії розвитку кореневих волосків *Beta vulgaris L.* Вважається, що перебудова актинового цитоскелету та зміна концентрації іонів кальцію сприяють відновленню плахиотропності росту кореневих волосків в умовах клиностатування.

ВВЕДЕНИЕ

Корневые волоски представляют удобную и информативную одноклеточную модель для изучения гравизависимости клеточного роста. Волоски образуются из клеток эпидермиса и растут плахиотропно — под углом 85—95° к продольной оси корня, т. е. почти параллельно поверхности земли. Рост волоска происходит в области верхушки и, как у всех клеток с верхушечным ростом (пыльцевые трубки, апикальные клетки протонемы мхов и папоротников и т. д.) осуществляется при наличии апикально-базального градиента ионов кальция, образованного разницей концентраций данного иона в области верхушки и основания волоска [4, 5]. Кальций регулирует полимеризацию актина и активность актин-связывающих белков, стабилизирующих сеть микрофиламентов и закрепляющих их на цитоплазматической мемbrane. Микрофиламенты в апикальной мемbrane волосков локализованы вблизи кальциевых каналов, что предполагает их взаимосвязь [10]. Такое взаимодействие чрезвычайно важно для регуляции верхушечного роста, так как цитоплазматическая мембра является первичной мишенью для внешних стимулов и местом запуска сигнальных реакций с участием ионов кальция и актинового цитоскелета. Несмотря на довольно интенсивное изуче-

ние верхушечного роста, механизм регуляции его направленности до сих пор не установлен. Поскольку плахиотропизм постоянно осуществляется в гравитационном поле Земли, представляет интерес, каким образом отсутствие ориентирующего действия вектора силы тяжести может влиять на направленность роста волосков. Для выяснения этого вопроса мы исследовали образование и рост корневых волосков в условиях клиностатирования, т. е. постоянного изменения положения растения относительно направления гравитационного вектора. Основное внимание уделяли изучению организации актиновых микрофиламентов и распределению ионов Ca^{2+} в корневых волосках на последовательных стадиях их роста.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Соплодия столовой свеклы (*Beta vulgaris L.*) прорашивали в темноте на фильтровальной бумаге, увлажненной дистиллированной H_2O в условиях стационарного контроля и горизонтального клиностатирования (2 об/мин). Апексы корней 3-суточных проростков отрезали и фиксировали в 3.7 % формальдегиде непосредственно после снятия с клиностата. Образцы заключали в спирторастворимый парафин, срезы тол-

шиной 10 мкм получали на микротоме. Для визуализации актина применяли антитела на актин (chicken gizzard actin, ICN Biochemicals, разбавление 1:200 в фосфатном буфере, pH 6.7). После промывания в фосфатном буфере образцы инкубировали с вторичными антителами (anti-mouse IgG raised in goat), конъюгированными с флуоресцирующей меткой флуоресцин-изотиоцианатом (FITC) (Sigma Chemical Co., разбавление 1 : 20) [3]. Цитохалазин D, соли кальция (CaCl_2) и гадолиния (GdCl_3) добавляли за 6 ч до фиксации в среду роста (смачивали фильтровальную бумагу) в концентрациях 10 мкМ, 10 мМ и 10 мкМ соответственно. Для определения концентрации цитозольного кальция использовали флуоресцентный индикатор indo-1 (Sigma Chemical Co., 50 мкМ в 10 мМ фосфатного буфера, pH 6.7) в течение 40—120 мин. Концентрацию кальция измеряли в апикальной и базальной частях корневого волоска на стадии инициации и у растущего волоска длиной 0.2—0.35 мм. Измерения проводили в люминисцентном микроскопе ЛЮМАМ-ИУФ1 с количественной насадкой ФМЭЛ-1. Калибровочную кривую строили по смеси растворов 50 мкМ indo-1 и 50—500 нМ CaCl_2 [6]. Абсолютную концентрацию внутриклеточного кальция вычисляли по методу Gryniewicz (1985) с помощью программы статистической обработки данных BIO [1]. Для визуализации корневых волосков использовали метод сканирующей электронной микроскопии с высушиванием в критической точке [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе формирования корневого волоска выделяют три стадии: 1) инициация волоска из клеток эпидермиса (трихобласти), 2) образование волоскового выступа длиной 20—40 мкм (рис. 1), и 3) активный полярный рост (рис. 2, а). Инициация волоска и формирование волоскового выступа у проростков *Beta vulgaris L.* в контроле происходили под углом 85—95° к продольной оси корня (рис. 1, а). В этом же направлении осуществлялся и рост зрелых волосков.

В условиях клиностатирования в большинстве случаев ($\approx 80\%$) выступ волоска формировался

под углом 40—60° к продольной оси главного корня с наклоном к апексу корня (рис. 1, б). Однако в процессе дальнейшего роста угол наклона волоска восстанавливался до 85—95°, из-за чего растущий волосок принимал дугообразную форму (рис. 2, а).

Показано, что скопление актина на внешней стороне трихобласта предшествует инициации волоска [2]. Как и в контроле, так и при клиностатировании, актин скапливается в области апикальной цитоплазматической мембранны при инициации волосков и формировании волоскового выступа. В субапикальной части волоска наблюдались отдельные пучки продольных микрофилааментов (рис. 3, а, б).

В растущих волосках уплотненная сеть актина наблюдалась в апексах клеток, в субапикальной части микрофилааменты располагались в виде продольных пучков различной толщины (рис. 2, б). Считается, что актин скапливается в местах доставки везикул Гольджи к цитоплазматической мемbrane и состоит из сети микрофилааментов, образующих треки для экзоцитозных везикул [11, 12].

Измерения содержания ионов кальция в трихобластах не выявили каких-либо изменений его концентрации перед инициацией волосков, что согласуется с наблюдениями [15]. Не наблюдались также колебания концентрации кальция на стадии инициации волосков ни в контроле, ни при клиностатировании. Напротив, у растущих корневых волосков в контроле отмечалась разница между концентрацией ионов кальция в основании волоска (96.5 ± 6.3 нМ) и его верхушечной части (240.8 ± 12.6 нМ), что и составляло апикально-базальный градиент ионов кальция. При клиностатировании концентрация Ca^{2+} в верхушке растущих волосков увеличивалась до 461.8 ± 31.4 нМ по сравнению с 145.1 ± 11.4 нМ в основании волоска. Эксперименты со специфическим блокатором механочувствительных кальциевых каналов — ионами гадолиния, показали незначительную разницу в концентрации кальция между волосками в контроле (апекс 286.1 ± 42.7 нМ, основание 156.7 ± 27.6 нМ) и при клиностатировании (апекс 300.4 ± 55.2 нМ, основание 145.3 ± 38.01 нМ), что говорит о том, что при данных условиях поступление Ca^{2+} извне происходит вследствие активации механочувствительных Ca^{2+} -каналов. Из-

Рис. 1. Выступы корневых волосков *B. vulgaris L.* в контроле (а) и при клиностатировании (б). Масштаб 15 мкм

Рис. 2. Общий вид (а), и организация актинового цитоскелета (б) растущего корневого волоска *B. vulgaris* при клиностатировании. Масштаб 15 мкм

Рис. 3. Организация актинового цитоскелета в выступах корневых волосков *B. vulgaris L.* в контроле (а) и при клиностатировании (б). Масштаб 10 мкм

вестно, что повышенная концентрация кальция в верхушке волоска обусловлена скоплением большого количества кальциевых каналов в цитоплазматической мембране [9]. Поскольку активность белков, закрепляющих микрофиламенты и локализирующих экзоцитоз в определенной точке цитоплазматической мембранны апекса [11], это определяет рост клетки строго по градиенту кальция. Так, при искусственно вызванном повышении концентрации Ca^{2+} в точке апекса, удаленной от точки роста, удлинение волоска начинает осуществляться в области повышенной концентрации Ca^{2+} , изменяя при этом общее направление роста [4, 5]. Мы предполагаем, что отсутствие градиента кальция в трихобластах и на стадии инициации волоска означает отсутствие фиксированного направления роста волоска. Вероятно, на данной стадии в апикальной мембране корневого волоска отсутствуют каналы ионов кальция или они не активированы. Известно, что каждая стадия развития волоска характеризуется определенными физиологическими процессами, в результате которых диффузный рост трихобластов эпидермиса меняется на полярный рост корневых волосков [15]. Так, при переходе волоскового выступа к активному росту темпы удлинения клеток значительно замедляются из-за перестроек цитоскелета, регулирующих поступление экзоцитозных везикул в точку роста [4]. Логично предположить, что доставка и встраивание белков кальциевых каналов в апикальную цитоплазматическую мембрану происходит с содержимым первых экзоцитозных везикул на стадии инициации. Отсутствие активных кальциевых каналов в апексе волоска означает отсутствие четкого направления роста, что делает стадию инициации наиболее уязвимой к внешним воздействиям, и такой стимул как дезориентация растения относительно вектора гравитации приводит к изменению направления роста корневых волосков. Начало функционирования каналов кальция и установление градиента ионов характеризует переход от волоскового выступа к активному полярному росту.

Установлено, что такие механические воздействия, как касание и ранение, также увеличивают концентрацию кальция в апексах корневых волосков [11], а повышение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} изменяет направление

их роста [5]. Мы предполагаем, что активация механочувствительных кальциевых каналов и последующее повышение концентрации ионов кальция меняют направление роста волосков, что в конечном счете приводит к восстановлению их пластиности. Повышение концентрации ионов Ca^{2+} в апексе волоска частично разрушает сеть апикальных микрофиламентов [14], нарушая тем самым слияние экзоцитозных везикул с мембраной в точке роста. Поскольку система поддержания кальциевого градиента у клеток с верхушечным ростом является самовосстанавливающейся и саморегулирующейся [4], градиент ионов кальция восстанавливается, что приводит к восстановлению сети микрофиламентов и возобновлению экзоцитоза. В свою очередь, самовоспроизведение кальциевого градиента может быть частично обусловлено генетически детерминированной регуляцией де/полимеризации микрофиламентов [13], которые контролируют доставку белков каналов кальция на апикальную мембрану. Возможно, что кальций, как сигнальная молекула, активирует в мемbrane каскад реакций, ведущих к синтезу новых микрофиламентов. Не исключено, что передача сигнала при этом осуществляется по фосфатидил-инозитольному пути, так как профилин, белок, регулирующий полимеризацию актина, имеет сайт связывания с кальцием и фосфоинозитолами [14]. Появление сети новых микрофиламентов возобновляет экзоцитоз в новой точке цитоплазматической мембранны, определяя тем самым новое направление роста. К сожалению, имеющаяся на сегодняшний день микроскопическая техника не позволяет выявить тонкие перестройки актинового цитоскелета в апексах клеток с верхушечным ростом. Предположительно, через регулируемый микрофиламентами, последовательный сдвиг точки выхода экзоцитозных везикул на апикальную цитоплазматическую мембрану, угол роста волосков с $40\text{--}60^\circ$ снова изменяется на $85\text{--}95^\circ$. Наши наблюдения согласуются с результатами других исследователей, отмечавших способность корневых волосков восстанавливать угол роста после механической ориентации параллельно оси корня [4]. Таким образом, полученные данные показывают, что градиент ионов кальция и актиновый цитоскелет являются определяющими элементами генетически детерминированного механизма ре-

гуляции направленности роста корневых волосков.

1. Кордюм Е., Даневич Л. Влияние клиностатирования на концентрацию ионов кальция в корневых волосках кress-салата // Цитология.—1996.—38.—С. 765—769.
2. Шевченко Г. Функціонування епідермісу кореня *Beta vulgaris* в умовах зміненої гравітації // Доп. Нац. академії наук України.—2001.—№ 6.—С. 50—54.
3. Baluska F., Samaj J., Kendrick-Jones J., et al. Tissue- and domain-specific distribution and redistribution of actin filaments, myosins, and profilin isoforms in cells of root apices // Cell Biology Intern.—1997.—21.—P. 852—854.
4. Bibikova T., Gilroy S. Root hair development // J. Plant Growth Regul.—2003.—21.—P. 383—415.
5. Bibikova T., Zhigilei A., Gilroy S. Root hair growth in *Arabidopsis thaliana* is directed by calcium and an endogenous polarity // Planta.—1997.—203.—P. 495—505.
6. Felle H., Hepler P. The cytosolic Ca^{2+} concentration gradient of *Sinapis alba* root hairs as revealed by Ca^{2+} -selective microelectrode tests and fura-dextran ratio imaging // Plant Physiology.—1997.—114.—P. 39—45.
7. Grynkiewicz G., Poenie M., Tsien R. A new generation of calcium indicators with greatly improved fluorescence properties // J. Biol. Chem.—1985.—260.—P. 3400—3450.
8. Harris N., Oparka K. J. Plant Cell Biology. A practical approach. — Oxford: Univ. Press, 1994.—329 p.
9. Levina N., Lew R., Heath I. Cytoskeletal regulation of ion channel distribution in the tip-growing organism *Saprolegnia ferax* // J. Cell Sci.—1994.—107.—P. 127—134.
10. Malho R., Read N. D., Pais M. S., Trewavas A. J. Role of

cytosolic free calcium in the reorientation of pollen tube growth // Plant J.—1994.—5.—P. 331—341.

11. Miller D., de Ruijter N., Emons A. From signal to form: aspects of the cytoskeleton-plasma membrane-cell wall continuum in root hair tips // J. Exp. Bot.—1997.—48.—P. 1881—1896.
12. Ryan E., Steer M., Dolan L. Cell biology and genetics of root hair formation in *Arabidopsis thaliana* // Protoplasma.—2001.—215.—P. 140—149.
13. Schmidt A., Hall M. Signaling to the actin cytoskeleton // Annu. Rev. Cell Dev. Biol.—1998.—14.—P. 305—338.
14. Staiger C. Signaling to the actin cytoskeleton in plants // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.—2000.—51.—P. 257—288.
15. Wymer C., Bibikova T., Gilroy S. Cytoplasmic free calcium distributions during the development of root hairs of *Arabidopsis thaliana* // Plant J.—1997.—12.—P. 427—437.

CLINOROTATION INFLUENCE ON THE GROWTH OF ROOT HAIRS IN *BETA VULGARIS L.* SEEDLINGS

G. V. Shevchenko, E. L. Kordyum

It is shown that clinorotation affects the angle of *Beta vulgaris L.* root hair growth and changes it from 85—95° to 40—60° at the stage of hair initiation. Our investigations of actin cytoskeleton arrangement and tip-based gradient of calcium ions proved the involvement of above components in the maintenance of the directed growth in simulated microgravity (clinorotation).

УДК 577:122:58.036.2

О. С. Талалаєв

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, Київ
e-mail: atalalaev@yahoo.com

Вплив умов повільного клиностатування на експресію низькомолекулярних білків теплового шоку *Pisum sativum* L.

Надійшла до редакції 26.10.06

Представлено результати вивчення експресії генів білків теплового шоку *Pisum sativum* за умов повільного клиностатування та температурного шоку. Досліджували двох представників класу цитозольних низькомолекулярних білків теплового шоку (small heat shock proteins, sHsp) sHsp 17.7 та sHsp 18.1. Обидва протеїни здатні підвищувати рефолдинг хімічно денатурованих білків за АТФ-незалежною схемою, тобто функціонувати як молекулярні шаперони. Для визначення змін експресії sHsp етильованих проростків гороху ми використовували методи імуноблотінгу. Використовуючи RT-PCR, ми визначали наявність мРНК відповідних генів. Експериментальні дані впливу температурного стресу на зміни зазначених параметрів використовували як контрольні. Експресія одного з так званих «генів домашнього господарства», актину 2, досліджувалася за тією ж схемою та використовувалася як контроль. Зроблено припущення, що клиностатування як засіб моделювання умов мікрогравітації, не змінює експресії sHsp.

ВСТУП

Велика кількість біотичних та абіотичних стресових факторів впливає на рослинний організм протягом його онтогенезу та викликають специфічні фізіологічні зміни. Основним значенням цих змін у більшості випадках є підвищення толерантності до несприятливих впливів через запобігання та/або відновлення пошкоджень викликаних стресором. Відповідь на стрес є загальною для всіх організмів та характеризується синтезом певних білків, що звуться білками теплового шоку, що також беруть участь у важливих ростових процесах та функціонують як молекулярні шаперони — зв'язують частково денатуровані субстрати, таким чином запобігаючи їхній незворотній агрегації або сприяють їхньому коректному фолдингу.

На клітинному рівні космічний політ асоційований з пошкодженнями самоорганізації мікро-

трубочок [4] певних метаболічних процесів [2, 4] та змінами у розподілі іонів кальцію [4, 5]. На рівні організму рослини відповідають на космічний політ різноманітними змінами базових фізіологічних процесів, таких як інтенсивність транспорту електронів, фотосинтетична активність [9], синтез певних стресових метаболітів, характерних для гіпоксидного стресу [7]. Беручи до уваги ці зміни, ми припустили, що всі вони є наслідком впливу умов мікрогравітації, що як стресор здатна змінювати експресію генів цитозольних білків теплового шоку. З метою перевірки цього припущення ми використали клиностатний експеримент.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В основі експерименту було пророщування проростків гороху за умов повільного горизонталь-

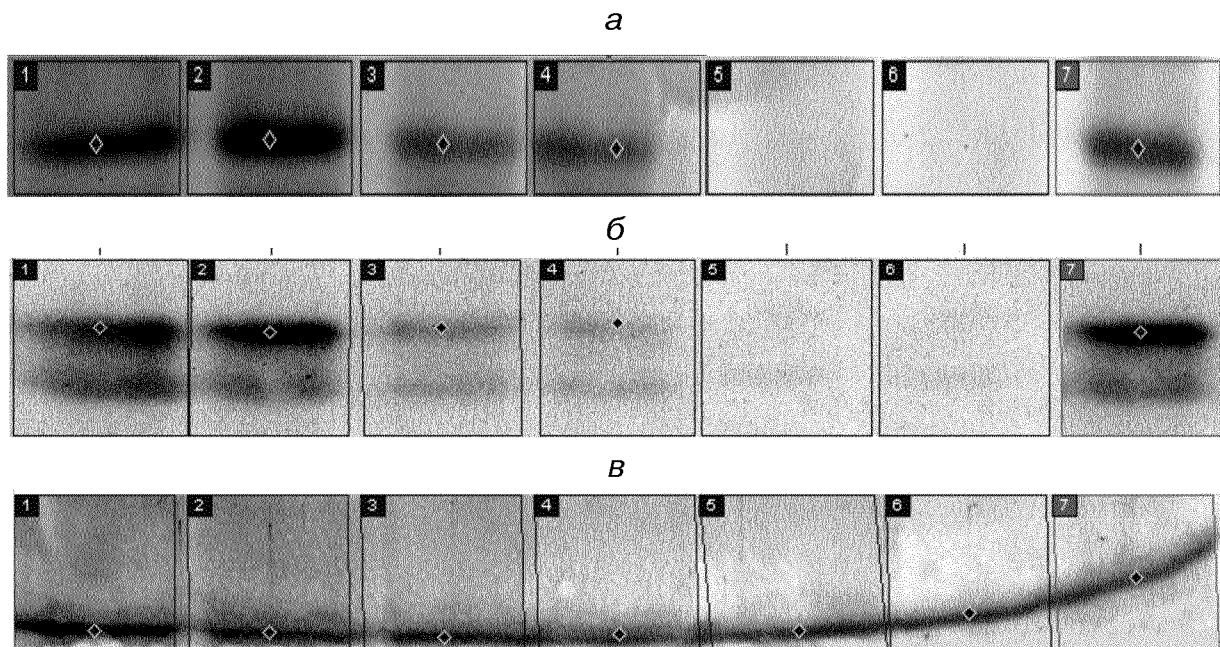


Рис. 1. Накопичення sHsp 17.7 (а), детектоване за допомогою специфічних поліклональних антитіл. Блоти 40 мкг сумарного білка, виділеного з контрольних (Con.), експериментальних (Clin.) проростків (22 °C) та температурного експерименту (HS). 1 — 24-та година, контроль; 2 — 24-та година клиностат; 3 — 48-ма година, контроль; 4 — 48-ма година, клиностат; 5 — 72-га година, контроль; 6 — 72-га година, клиностат; 7 — тепловий шок; б — те ж для sHsp 18.1; в — те ж для актину 2

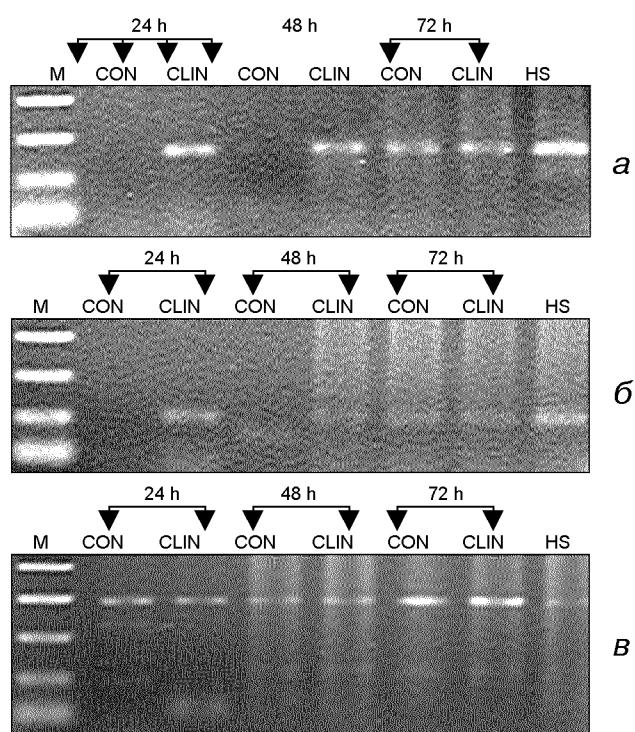


Рис. 2. Експресія мРнк sHsp 17.7 (а), sHsp 18.1 (б) та актину 2 (в). Агарозний гель-електрофорез продуктів реакції зворотної транскрибції та ПЦР. Ампіліфікони розміром 144 bp. М-50 bp ПЦР-маркер бенди від 200 до 50 bp

ногого клиностатування (2 об/хв) протягом трьох діб у темряві. Як контроль стресового впливу трьохдобові паростки піддавали впливу температурному стресу (42 °C) протягом чотирьох годин згідно із методом [1], підвищуючи температуру до максимуму поступово (4 °C/г). Виділення сумарних білків та денатуруючий гель-електрофорез проводили за методикою [3].

Після електрофорезу білки переносили на ніtroцелюлозну мембрانу для використання у реакціях імунодетекції. Мембрани блокували протягом 30 хв у розчині фосфатного буферу (5.8 mM Na₂HPO₄, pH 7.4, 145 mM NaCl, 0.1 % [v/v] Tween 20), доповненого 5 % знежиреного сухого молока, інкубували протягом 2 год у тому ж розчині, що містив антитіла до відповідних sHsp (отримані від лабораторії проф. Vierling Університету Аризони, Тусон, США) у розведенні 1 : 500. Після потрійного відмивання фосфатним буфером мембрани інкубували протягом 3 год у фосфатному буфері з розведеннями у співвідношенні 1 : 1000 пероксидаза-кон'югованими вторинними антитілами вівці. Відмивали тричі у фосфатному буфері та візуалізували у розчині 3,3'-дiamінобензидину тетрагідрохлориду дигідрату (Fluka) та 9 mM H₂O₂.

Сумарну РНК виділяли з стильтованих простоків гороху з використанням TRI REAGENTT (Sigma) за відповідним виробничим протоколом. Реакцію зворотної транскрипції проводили да допомогою oligo-dT¹⁸ праймерів (Sigma). Полімеразну ланцюгову реакцію проводили використовуючи праймери, специфічні до відповідних послідовностей генів sHsp та актину 2 (Gene Bank). Відбір праймерів проводили за допомогою Vector NTI Oligo DesignTM. Використовували для PsHsp 17.7 sense, 5'-ATC AAA ACG TGC GAC AAA CA, anti-sense, 5'-GCA TGT CCA CCA TAA ACA CG, PsHsp sense, 5'-GAC GTC TGG GAT CCT TTG AA, anti-sense, 5'-TTT CAG CCC AGG AAG ATC AG; PsActin 2 sense, 5'-GCT GAG GCT GAT GAT ATT CAA CCA A, anti-sense, 5'-ATA CCG GTA CCA TTG CAC ACG A. Продукти RT-PCR розділяли у 2 %-му агарозному гелі, візуалізували в ультрафіолетовому свіtlі та фотографували за допомогою системи візуалізації гелів (Bio-Vision). Для оцінки кількості продуктів використовували програмне забезпечення Image Mater Total LabTM.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати імунологічних досліджень експресії низькомолекулярних білків теплового шоку клиностатуваних паростків гороху при різних ростових періодах (2—4 доби) були подібні до контрольних. На рис. 1 та в таблиці відображені результати імунодетекції sHsp 17.7, sHsp 18.1 та актину 2 на першу, другу та третю добу росту. Максимальну кількість накопичення PsHsp 17.7 та sHsp 18.1 спостерігали у температурному експерименті.

Кількість білку приблизно однакова при різних варіантах експериментів.

Наявність відповідних інформаційних РНК була визначена для двох генів цитозольних низькомолекулярних білків теплового шоку, представників різних класів цитозольних білків теплового шоку гороху. Максимальний рівень сигналу стресових генів спостерігали у варіантах впливу високої температури, що підтверджує роль sHsp як стресових білків. Результати для обох досліджуваних генів на 24-ту годину експерименту характеризувалися відсутністю сигналу в контролі та наявністю сигналу у експериментах з клиностатування. На 48 год експерименту отримали подібні результати — відсутність сигналу у контролі та наявність сигналу у клиностатних зразках. На третю добу росту (72 год) фіксували сигнал у контролі та експерименті (рис. 2, а, б).

Також аналізували експресію гену актину 2 — наявність сигналу фіксували у всіх варіантах (рис. 2, в).

Описаний експеримент був проведений для визначення можливого впливу частково змо-

Накопичення sHsp 17.7, sHsp 18.1 та актину 2. Результати у відсотках від кількості температурного експерименту, які брали за 100 % та використовували як контроль

Експеримент		sHsp 17.7	sHsp 18.1	актин 2
24 год	Con.	97.2	83.1	99.5
	Clin.	85	98.2	99.7
48 год	Con.	29.7	70.6	97.4
	Clin.	22.1	65.9	98.2
72 год	Con.	0	0	98.7
	Clin.	0	0	99
	HS	100	100	100

дульованих умов мікрогравітації на експресію низькомолекулярних білків теплового шоку. Термін експерименту (3 доби) обрали виходячи з літературних даних, що свідчили про поступове зменшення кількості стресових білків, накопичених під час висихання насінин, у різних видів рослин на перших етапах проростання [8]. Передбачали можливість порівняння темпів гідролізу досліджуваних білків при різних гравітаційних впливах та рівень експресії відповідних мРНК. Дані, отримані за результатами імуноблотінгу, дозволяють зробити припущення, що клиностатування як стресова умова не спричиняє відчутного впливу на експресію низькомолекулярних стресових білків. Проте збільшення термінів експерименту, наприклад до 5 діб, та використання чутливіших методів детекції (ELC-методика) може відкрити більш детальну картину та дати можливість зробити точніші висновки.

Подібні висновки можна зробити і щодо дослідження експресії мРНК. Хоча клиностатні експерименти продемонстрували певний вплив на рівень експресії відповідних генів, чітких висновків без використання чутливіших методів (ПЦР у реальному часі) та накопичення статистичних даних зробити не можна. Проте порівняння експресії на рівні білків та їхніх мРНК дозволяє зробити припущення про відмінність регуляції експресії sHsp-генів при нормальніх умовах та при умовах альтернативної гравітації (клиностатування).

- Chen Q., Lauzon L. M., DeRocher A. E., Vierling E. Accumulation, stability and localization of a major chloroplast heat shock protein // *J. Cell. Biol.*—1990.—110.—P. 1873—1883.
- Hamp R., Hoffmann E., Schonherr K., et al. Fusion and metabolism of plant cells as affected by microgravity // *Planta*.—1997.—P. 42—53.

- Hernandez L. D., Vierling E. Expression of low molecular weight heat-proteins under field conditions // *Plant Physiol.*—1993.—101.—P. 1209—1216.
- Kordyum E. L. Biology of plant cell in microgravity and under clinorotation // *Int. Rev. Cytology*.—1997.—171.—P. 1—78.
- Merkys A., Darginaviciene J. Plant gravitropic response // *Adv Space Biol. Med.*—1997.—6.—P. 213—230.
- Papaseit C., Pochon N., Tabony J. Microtubule self-organization is gravity-dependent // *Proc Natl Acad Sci USA*; 97:8364-8368, 2000.
- Porterfield D. M., Matthews S. W., Daugherty C. J., Musgrave M. E. Spaceflight exposure effects on transcription, activity, and localization of alcohol dehydrogenase in the roots of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol.*—1997.—113.—P. 685—693.
- Sun W., Van Montagu M., Verbruggen N. Small heat shock proteins and stress tolerance in plants // *Biochem. Biophys. Acta*.—2002.—1577.—P. 1—9.
- Tripathy B. C., Brown C. S., Levine H. G., Krikorian A. D. Growth and photosynthetic responses of wheat plants grown in space // *Plant Physiol.*—1996.—110.—P. 801—806.

THE INFLUENCE OF SLOW CLINOROTATION ON THE EXPRESSION OF SMALL HEAT SHOCK PROTEINS IN *PISUM SATIVUM L.*

O. S. Talalaiev

The stress gene expression in *Pisum sativum L.* seedlings exposed to altered gravity and temperature elevation is evaluated. We investigate message for two inducible forms of cytosolic small heat shock proteins (sHsp), sHsp 17.7 and sHsp 18.1. Both proteins are able to enhance the refolding of chemically denatured proteins in ATP-independent manner, i.e., they can function as molecular chaperones. The sHsp expression in pea seedling cells is studied by Western blotting. Applying the RT-PCR, we explore sHsp mRNA. Temperature elevation, as the positive control, significantly increased the PsHsp 17.7 and PsHsp 18.1 expression. The expression of the housekeeping protein, actin, was constant and comparable to unstressed controls for all of the treatments. We can conclude that gravitational perturbations incurred by clinorotation do not change the sHsp gene expression.

УДК 581.134:581.142+581.84

Л. Е. Козеко

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, Київ

Влияние реальной и моделированной микрогравитации на генную экспрессию белков теплового шока

Надійшла до редакції 26.10.06

Розглядається можливість участі білків теплового шоку в адаптації живих систем до мікрогравітації. Аналізуються літературні дані про зміни генної експресії білків теплового шоку у клітинах під впливом реальної та модельованої мікрогравітації. Робиться висновок про необхідність системних досліджень.

ВВЕДЕНИЕ

Осуществление пилотируемых полетов требует создания контролируемых экологических систем жизнеобеспечения космонавтов, необходимым компонентом которых является автотрофное звено — зеленые растения. В условиях космического полета растения способны расти и развиваться, проходить полный жизненный цикл, давая потомство [20]. Вместе с тем имеются многочисленные данные о различных отклонениях от нормы: активации или торможении процессов роста и развития, изменении пространственной ориентации органов растений, ультраструктуре клеток, перестройках метаболизма [3, 5, 10, 19]. Показано, что одним из основных факторов космического полета, негативно действующих на живые объекты, является микрогравитация [1, 4]. Выявленные в космических экспериментах изменения ультраструктуры, генной экспрессии и активности различных метаболических путей, как специализированных к восприятию гравитационного сигнала клеток, так и неспециализированных, позволили сделать вывод о гравичувствительности растительной клетки [3]. Это фундаментальное открытие поставило перед биологами новую задачу поиска путей

адаптации клетки к невесомости. На это направлены биологические эксперименты в условиях космического полета, а также наземные эксперименты, позволяющие моделировать отдельные биологические эффекты микрогравитации (параболические полеты, свободное падение в шахтах, различного рода клиностатирование).

К изменениям внешних факторов растение адаптируется путем перестроек физиологических и биохимических процессов, необходимых для установления клеточного гомеостаза, совместимого с новыми условиями. Согласно унифицированной концепции стресса в ответ на внешние изменения в растении в первую очередь развивается быстрая неспецифическая стрессовая реакция, в то время как для полной адаптации требуется более продолжительное действие фактора [14]. Генетический контроль стресс-реакции достаточно сложный, начиная с восприятия и передачи внешнего сигнала до запуска генов, участвующих как в неспецифической, так и в специфической для данного фактора стрессовой реакции. Известно, что скорость адаптации к любым внешним воздействиям тем выше, чем выше уровень неспецифических защитных клеточных механизмов [13]. Неспецифическая стрессовая реакция включает в себя

активацию экспрессии групп генов, кодирующих белки и ферменты, которые играют непосредственную роль в защите клеточных и молекулярных структур. Это в первую очередь:

- белки теплового шока (БТШ), обеспечивающие защиту белков;
- антиоксидантные ферменты, участвующие в детоксикации активных форм кислорода;
- белки, участвующие в регуляции стабильности мембран через изменение их липидного состава;
- ферменты биосинтеза клеточных протекторов (таких как сахара, многоатомные спирты, бетаины, пролин и т. д.).

Протеомный анализ каллусных клеток *Arabidopsis*, подвергнутых клиностатированию, показал статистически достоверные изменения содержания ряда белков, среди которых наряду с ключевыми ферментами энергетического, жирнокислотного, углеводного метаболизма, называются стрессовые белки [29]. В данной статье обсуждаются возможные пути участия БТШ в адаптации растений к изменению гравитационного воздействия как один из путей поиска стратегий повышения их продуктивности в условиях космического полета.

БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА

К белкам теплового шока относится ряд высоко консервативных семейств белков: БТШ110, БТШ100, БТШ90, БТШ70, БТШ60, БТШ40, низкомолекулярные БТШ и убиквитин [13, 26]. Эти белки найдены в значительном количестве в клетках большинства видов ныне живущих организмов. БТШ делят на индуцильные, генная экспрессия которых инициируется при стрессе, и конститутивные (гомологи БТШ), синтез которых присущ клеткам при нормальных физиологических условиях [26]. БТШ участвуют в регуляции белкового гомеостаза клетки в качестве молекулярных шаперонов и протеолитических факторов [18]. Молекулярные шапероны принимают участие в различных стадиях биогенеза белков, регуляции их структуры и функций, включая фолдинг белков, сборку и разборку олигомерных белков, транспорт белков через мембранные, регуляцию их функциональной активности. Предполагают также, что БТШ вза-

имодействуют со специфическими мембранными доменами, изменяя такие важные для клеточной адаптации физические свойства мембран, как текучесть, стабильность бислоя, проницаемость [13]. Результаты исследования низкомолекулярных БТШ и БТШ90 у животных позволили говорить об участии этих белков в стабилизации структур цитоскелета [24, 27]. В качестве протеолитического фактора функционирует убиквитин. Белки, связанные с убиквитином, подвергаются деградации с помощью протеасом (мультикаталитических протеазных комплексов).

При действии стрессовых факторов, таких как высокая температура, гипоксия, озон, этанол, радиация, тяжелые металлы и др., молекулярные шапероны связывают и стабилизируют белки с частично или полностью нарушенной конформационной структурой, предотвращая нежелательные внутри- и межмолекулярные взаимодействия, агрегацию белков и обеспечивая восстановление нативного состояния, если это возможно [13, 26]. Те белки, которые не подлежат восстановлению, подвергаются протеолизу. При этом работа шаперонов и убиквитин-протеасомной протеолитической системы тесно связана между собой и координируется общими путями генетической регуляции [18].

БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА В УСЛОВИЯХ РЕАЛЬНОЙ И МОДЕЛИРОВАННОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Эксперименты по изучению влияния микрогравитации на генную экспрессию БТШ в условиях космического полета до настоящего времени единичны. В большей мере этот вопрос изучался в наземных экспериментах и преимущественно на животных клетках. Поскольку функции БТШ у разных видов организмов схожи, то, очевидно, представляет интерес анализ данных по их генной экспрессии в условиях микрогравитации у всех типов клеток. Доступные нам данные представлены в таблице. Их анализ не дает однозначного ответа на поставленный вопрос. Так, в космических экспериментах в большинстве случаев показано снижение содержания БТШ в клетках, тогда как в наземных экспериментах наблюдали либо повышение содержания этих белков, либо отсутствие изменений. Харак-

Изменения генной экспрессии БТШ под влиянием микрогравитации в условиях космического полета и в наземных экспериментах

БТШ	Объект	Воздействие, продолжительность	Метод	Изменение экспрессии	Ссылки
БТШ70	Культура остеобластов крысы	1 сут, полет	RT-PCR	Снижение	[11]
БТШ70, БТШ47	Культура остеобластов крысы	4 и 5 сут, полет	RT-PCR	Подавление	[12]
БТШ и убиквитин	Куколка дрозофилы	3.5 сут, полет; 3.5 сут, 3D-клиностат	Mycroarray	Снижение	[9]
БТШ70, БТШ27	Скелетные мышцы крысы: — передняя большеберцовая — икроножная	17 сут, полет + 1 сут после приземления	Mycroarray	Повышение в 2.2 и в 2 раза соответственно Снижение в 5 и в 4 раза	[25]
БТШ70	Культура лимфобластных Т-клеток (Jurkat) человека	4 ч, биореактор RWV (8 или 53 об/мин)	RT-PCR	Нет изменений	[15]
БТШ70	Культура клеток эндотелия пупочной вены человека	24 ч, биореактор RWV	Вестерн-блот	Повышение (обратимое)	[7]
БТШ70, БТШ40	Культура Т-клеток человека	24 ч, биореактор RWV	Mycroarray	Повышение	[21]
БТШ70	Культура лимфоцитов периферической крови человека	24 и 72 ч, биореактор RWV	Mycroarray	Повышение более чем в 2 раза	[24]
БТШ90				Снижение более чем в 2 раза	
БТШ70	Культура эндотелиальных клеток быка: — аорты — капилляров	96 ч, биореактор RWV	Вестерн-блот		[8]
				Повышение Без изменений	
БТШ70, БТШ60	Культуры клеток VSNC мыши и MCF-7 человека	3D-клиностат	Вестерн-блот	Повышение	[6]
БТШ70, БТШ60	Xenopus laevis	3 и 6 сут, 3D-клиностат	Вестерн-блот	Без изменений Повышение через 3 сут, через 6 сут — нет различий	[22]
БТШ70	Желудочек сердца мыши	28 сут, суспендирование	Нозерн- и Вестерн-блоты	Без изменений	[17]
GrpE, UspA	Бактерия <i>Cupriavidus metallidurans</i> CH43	ПОлет на ISS, биореактор RWV	Вестерн-блот	Повышение	[16]
БТШ70, БТШ90	Проростки <i>Pisum sativum</i>	1—3 сут, клиностатирование	Вестерн-блот, иммуно-ферментный анализ	Более высокий уровень	[2]
Убиквитин	<i>Vicia faba</i>	15 и 24 ч, клиностатирование	Вестерн-блот	Снижение содержания свободного убиквитина и повышение содержания убиквитиновых коньюгатов в хлоропластах	[28]
Убиквитин	Протопласти мезофилла <i>Vicia faba</i>	75—400 с, параболический полет; 2—60 мин, клиностатирование (60 об/мин)	Вестерн-блот	Резкие колебания в содержании свободного убиквитина, повышение содержания убиквитиновых коньюгатов	[23]

тер изменений уровня БТШ зависит от типа клеток [8, 25], от вида БТШ [22, 24] и, очевидно, отражает соответствующие изменения в интенсивности процессов, в которых эти белки участвуют. Так, считают, что БТШ70 является цитопротектором и играет важную роль в предотвращении индуцированного стрессом апоптоза [8, 11, 12, 24]. Эндотелиальные клетки, активно экспрессирующие БТШ70, способны к активной пролиферации, дифференциации и не подвержены апоптозу [8]. Высокий уровень содержания БТШ70 в лейкоцитах коррелирует с высокой активностью иммунной системы [24]. Поэтому ослабление генной экспрессии БТШ70 в клетках, наблюдаемое в космических экспериментах, может быть связано с повышением числа клеток, подверженных апоптозу [12] (вследствие действия других неблагоприятных факторов космического полета). БТШ90 взаимодействует с актиновыми филаментами, поэтому более низкий уровень его в условиях моделированной микрогравитации связывают со снижением подвижности лейкоцитов [24]. Следует учитывать, что экспрессия генов БТШ регулируется в процессе развития организма [26] и изменения вследствие действия внешнего фактора могут накладываться на генетически запограммированные события [2].

К возможным причинам расхождения приведенных результатов можно отнести не только видо- и тканеспецифичность генной экспрессии БТШ, но и различия в условиях экспериментов, в том числе в продолжительности действия фактора. В большинстве работ оценивается эффект микрогравитации определенной длительности. Однако экспрессия генов БТШ, индуцированная стрессовым фактором, имеет, по-видимому, свою динамику. Наиболее быстрые изменения наблюдали при анализе убиквитинового пула в протопластах, где усиление убиквитинирования определенных белков наблюдалось немедленно после начала действия микрогравитации [23]. При этом резкие колебания в количестве свободного убиквитина указывают на активизацию убиквитиновой системы: связывание свободного убиквитина с субстратными белками и высвобождение его из убиквитиновых коньюгатов с помощью протеасомных комплексов.

Нами на проростках гороха было показано, что уже через 2 ч от начала клиностатирования

содержание БТШ70 и БТШ90 возрастало, достигало максимума через 4 и 6 ч соответственно, после чего постепенно снижалось до контрольного уровня к 24 ч. Пяти- и семисуточные проростки, росшие в условиях клиностатирования, по содержанию БТШ70 и БТШ90 не отличались от проростков, росших в стационарных условиях.

В большинстве работ, к сожалению, анализируются изменения только в содержании БТШ или их мРНК. В то же время при неизменном суммарном количестве БТШ может происходить экспрессия различных изоформ, изменение уровня их фосфорилирования, внутриклеточной локализации, перемена белков-субстратов. Выяснение особенностей генной экспрессии этих белков и их функциональной нагрузки в условиях микрогравитации будет способствовать развитию теоретических представлений о функционировании БТШ и познанию механизмов действия измененной гравитации на живые системы.

- Газенко О. Г., Ильин Е. А., Парфенов Г. П. Космическая биология: (Некоторые итоги и перспективы) // Изв. АН СССР. Сер. бiol.—1974.—4.—С. 461—475.
- Козеко Л. Е. Изменения в спектре растворимых белков и в содержании стрессовых белков БТШ90 и БТШ70 в проростках гороха в ответ на клиностатирование // Біополімери і клітина.—2006.—22, № 2.—С. 136—142.
- Кордюм Е. Л., Сытник К. М., Белявская Н. А. и др. Современные проблемы космической клеточной фитобиологии. — М.: Наука, 1994.—293 с.
- Сытник К. М., Кордюм Е. Л., Недуха Е. М. и др. Растительная клетка при изменении геофизических факторов. — Киев: Наук. думка, 1984.—136 с.
- Claasen D. E., Spooner B. S. The impact of alterations in gravity on aspects of cell biology // Intl. Rev. Cytol.—1994.—156.—P. 301—373.
- Coinu R., Chiavello A., Covelli B., et al. Modeled gravity alters the cell metabolism «rate» and not the cell metabolism // J. Gravit. Physiol.—2005.—12, N 1.—P. 255—256.
- Cotrupi S., Maier J. The adaptive response of endothelial cells to gravitational unloading // Annu. Int. Gravit. Physiol. Meeting, 6—11 June, 2004, Moscow, Russia: Abstr. — Moscow, 2004.—P. 103.
- Cotrupi S., Maier J. Is HSP70 upregulation crucial for cellular proliferative response in simulated microgravity? // J. Gravit. Physiol.—2004.—11, N 2.—P. 173—174.
- Herranz R., Benguria A., Medina J., et al. Gene expression variations during *Drosophila* metamorphosis in space. The gene experiment in the Spanish Cervantes mission to the ISS // J. Gravit. Physiol.—2005.—12, N 1.—P. 253—254.
- Kordyuk E. Biology of plant cells in microgravity and under clinostating // Intl. Rev. Cytol.—1997.—171.—P. 1—78.

11. Kumei Y., Morita S., Nakamura H., et al. Does microgravity induce apoptotic signal in rat osteoblasts via cJun-N-terminal kinase? // *J. Gravit. Physiol.*—2002.—9, N 1.—P. 263—264.
12. Kumei Y., Shimokawa H., Morita S., et al. Apoptotic and anti-apoptotic signals of rat osteoblasts during spaceflight // *ELGRA news.*—2005.—24.—P. 265.
13. Leone A., Perrotta C., Maresca B. Plant tolerance to heat stress: current strategies and new emergent insights // *Abiotic stresses in plants /* Eds L. Sanita di Toppi, B. Pawlik-Skowronska. — Kluwer, 2003.—P. 1—22.
14. Leshem Y. Y., Kuiper P. J. C., Erdei L., et al. Do Selye's mammalian GAS concept and «co-stress» response exist in plants? // *Stress of life from molecules to man /* Ed. by P. Csermely. — Annals of the New York Academy of Sciences, 1998.—P. 199—208.
15. Lewis M., Hughis-Fulford M. Regulation of heat shock protein message in Jurkat cells cultured under serum-starved and gravity-altered conditions // *J. Cellular Biochem.*—2000.—77.—P. 127—134.
16. Leys N., Wattiez R., Rosier C., et al. Response of the bacterium *Cupriavidus metallidurans* CH34 to space flight conditions // *36th COSPAR Scientific Assembly, 16–23 July 2006, Beijing, China.* — Beijing, 2006.—Abstr. A-01347.
17. Liu C., Yu Z.-B., Zhang L.-F., Ni H.-Y. Heat shock protein 70 expression in myocardium is blunted with simulated weightlessness // *J. Gravit. Physiol.*—2000.—7, N 2.—P. 149—150.
18. Mathew A., Morimoto R. A. Role of the heat-shock response in the life and death of proteins // *Stress of life from molecules to man /* Ed. P. Csermely. — Annals of the New York Academy of Sciences, 1998.—P. 99—111.
19. Merkys A. J. Plant growth under microgravity conditions: Experiments and problems // *Proc. of the 4th European Symposium on Life Sciences Research in Space, Trieste, Italy, 28 May–1 June.* — Noordwijk, The Netherlands, 1990.—P. 509—515.
20. Musgrave M. E., Kuang A., Xiao Y., et al. Gravity-independence of seed-to-seed cycling // *Planta.*—2000.—210.—P. 400—406.
21. Risin D., Ward N. E., Risin S. A., Pellis N. R. Gene expression in activated human T-cells induced by modeled microgravity // *ELGRA news.*—2005.—24.—P. 289.
22. Rizzo A. M., Rossi F., Guerra A., et al. Effects of microgravity and hypergravity on early developmental stages of *Xenopus laevis* // *J. Gravit. Physiol.*—2002.—9, N 1.—P. 207—208.
23. Schnabl H., Hunte C., Schulz M., et al. Effects of fast clinostat treatment and microgravity of *Vicia faba* L. mesophyll cell protoplast ubiquitin pools and actin isoforms // *Microgravity Sci. Technol.*—1996.—9/4.—P. 275—280.
24. Sundaresan A., Pellis N. R. Human adaptation genetic response suites: toward new interventions and countermeasures for spaceflight // *J. Gravit. Physiol.*—2005.—12, N 1.—P. 229—231.
25. Taylor W. E., Bhasin Sh., Lalani R., et al. Alteration of gene expression profiles in skeletal muscle of rats exposed to microgravity during a spaceflight // *J. Gravit. Physiol.*—2002.—9, N 2.—P. 61—70.
26. Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol.*—1991.—42.—P. 579—620.
27. Welsh M. J., Gaestel M. Small heat-shock protein family: Function in health and disease // *Stress of life from molecules to man /* Ed. P. Csermely. — Annals of the New York Academy of Sciences, 1998.—P. 28—35.
28. Wolf D., Schulz M., Schnabl H. Influence of horizontal clinostat rotation on plant proteins: 1. Effects on ubiquitinated polypeptides in the stroma and thylakoid membranes of *Vicia faba* L. chloroplasts // *J. Plant Physiol.*—1993.—141.—P. 304—308.
29. Zheng H., Wang H. Proteomic alterations in root tips of *Arabidopsis thaliana* seedling under altered gravity conditions // *36th COSPAR Scientific Assembly, 16–23 July 2006, Beijing, China.* — Beijing, 2006.—Abstr. A-00514.

INFLUENCE OF THE REAL AND SIMULATED MICROGRAVITY ON GENE EXPRESSION OF HEAT-SHOCK PROTEINS

L. Ye. Kozeko

The possibility of heat-shock proteins' (HSP) participation in adaptation of living systems to microgravity is considered. The published information on HSP gene expression in cells under real and simulated microgravity is analysed. We suppose the necessity of detailed investigation on this problem.

УДК 576.6.043; 547.454

О. М. Недуха, Є. Л. Кордюм, Є. І. Шнюкова

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, Київ

Вплив імітованої мікрогравітації на структуру амілопластів, склад та характеристики крохмалю міні-бульб картоплі

Надійшла до редакції 26.10.06

Вивчалась дія тривалої імітованої мікрогравітації (клиностатування, 2 об/хв.) на структурно-функціональну організацію клітин міні-бульб *Solanum tuberosum L.* (сорту Адрета) в культурі. Встановлено суттєвий вплив на розмір 45-добових міні-бульб, вміст та склад запасного крохмалю, водорозчинні властивості крохмалю та структуру амілопластів клітин запасальної паренхіми міні-бульб картоплі. Для досліджень структури крохмаль-запасальних клітин використовувалась модельна система — міні-бульби в стерильній культурі, методи світлової та сканувальної електронної мікроскопії, а також біохімічні методи для вивчення запасних полісахаридів. При тривалому горизонтальному клиностатуванні спостерігали появу фракції «гіганських» амілопластів у крохмаль-запасальних клітинах паренхіми. Встановлено кореляцію зниження вмісту амілози з пригніченням розчинності крохмалю у воді при тривалому клиностатуванні. Одержані результати вказують на зміни вуглеводного метаболізму запасальних органів картоплі під впливом імітації мікрогравітації.

ВСТУП

Картопля входить до числа с/г культур, запропонованих для використання у контролюваних екологічних системах життєзабезпечення космонавтів в тривалих космічних польотах [13, 28]. Бульби картоплі, як відомо, є джерелом ісітівного крохмалю — запасного полісахариду, який в залежності від сорту містить різний вміст амілози, що визначає його смакові характеристики. До складу бульб входять також білок (< 0.5 %) та залишки фосфоліпідів [2, 11]. Тому визначення складу та динаміки накопичення запасного крохмалю у бульбах, вирощених в умовах реального космічного польоту, має як теоретичне, так і прикладне значення для розуміння впливу мікрогравітації на вуглеводний метаболізм, вегетативне розмноження вищих

рослин та смакові якості бульб. Зручною моделлю для таких досліджень в космічному польоті є міні-рослини картоплі, які утворюють міні-бульби в умовах культури. Ця модельна система застосовується з 1992 р., коли вперше було показано можливе утворення міні-бульб картоплі в умовах реального космічного польоту [13]. Проте виявлені певні зміни у структурі клітин крохмаль-запасальної паренхіми [7, 8, 17]. Більш тривала дія імітованої мікрогравітації до 30 діб викликала прискорений ріст органів картоплі, який корелював із збільшенням активності одного із ферментів синтезу крохмалю — фосфорилази [5, 23]. Тому метою нашої роботи було вивчення тривалого клиностатування на формування міні-бульб картоплі, амілопластів, які запасають крохмаль, вміст та склад крохмалю у порівнянні із стаціонарним контролем.

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Міні-рослини *Solanum tuberosum* L. (сорт Адрета) вирощували протягом шести тижнів у стерильній культурі на середовищі Мурасіге та Скуга при 16-год освітленні на добу ($110 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^2/\text{с}$) та температурі $t = 24 \pm 1^\circ\text{C}$. Для формування міні-бульб рослини розрізали на сегменти, які складались із стебла висотою до 2 см, пазушної бруньки та одного листочка. Сегменти рослин переносили на модифіковане агаризоване середовище Мурасіге та Скуга із додаванням вітамінів [23], та вирощували до 55 діб при температурі $24/18^\circ\text{C}$ (день/ніч) та 8-годинному освітленні лампами денного світла ($75 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^2/\text{с}$; лампи OSRAM L 36 W/D, Recyclabe, Німеччина).

У дослідах використовували 45-добові міні-бульби, які були зібрани з клиностатованих та контрольних рослин. Для дослідження анатомічної структури брали по 5 міні-бульб середньо статистичного розміру ($8.5 \times 6.0 \text{ мм}$ — для контрольних бульб та $11.0 \times 6.0 \text{ мм}$ — для клиностатованих міні-бульб) і фіксували за стандарт-

ною методикою 3.7 % параформальдегідом на 0.5 M фосфатному буфері (pH 7.2) [4]. Зрізи міні-бульб товщиною 10 мкм фарбували реактивом Шиффа, та вивчали у мікроскопі Axioskop (Carl Zeiss, Jena). Для вивчення структури амілопластів застосовували електронну мікроскопію [29]. Дослідження проводили у сканувальному електронному мікроскопі JSM-35. Вміст крохмалю, моно- та дисахаридів визначали анtronовим методом за Гілбертом [10] у модифікації Болотової [1]; вміст амілози та амілопектину — за методом Ховенкамп-Гермелінк [14]. Визначення вмісту крохмалю, моно- та дицукрів, амілози та амілопектину проводили на спектрофотометрі СФ-2000. Розбухальну силу крохмалю та розчинність крохмалю у гарячій воді — за методом Ріхтера із співробітниками [6]. Як контрольні зразки використовувались хімічно чиста амілоза та амілопектин (Sigma). Одержані цитологічні та біохімічні дані обробляли із використанням програми BIO.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Стационарний контроль. 45-добові міні-бульби картоплі жовто-зеленого чи жовтого кольору мали сферичну або яйцевидну форму, середній розмір яких дорівнював $8.71 \pm 0.8 \times 6.43 \pm 0.25 \text{ мм}$. Світлооптичний аналіз поперечних серединних зрізів міні-бульб показав, що клітини зовнішніх шарів шкірки (перидерми) не містили амілопластів, клітини запасальної паренхіми були заповнені амілопластами (рис. 1, а). Запасальна паренхіма в середньому складалася з 68.0 ± 5.7 шарів клітин. Середній розмір крохмаль-запасальних клітин, майже повністю заповнених амілопластами, становив по довгій осі $70.0 \pm 5.4 \text{ мкм}$, по короткій — $58 \pm 4.8 \text{ мкм}$ (таблиця). Кількість амілопластів на зріз клітини змінювалася від 12 до 15. Амілопласти при фарбуванні реактивом Шиффа мали темний фіолетово-блакитний колір. Форма амілопластів варіювала від сферичної до видовжено-овальної (рис. 1, б). За розміром ми поділили амілопласти на три групи: 1) — кулясті, діаметром $10 \pm 2 \text{ мкм}$; 2) — овальні, по довгій осі $15 \pm 2 \text{ мкм}$, по короткій — $7 \pm 1 \text{ мкм}$ та 3) — овальні, довга вісь яких становила $21 \pm 2 \text{ мкм}$,

Структурні та біохімічні показники 45-добових міні-бульб картоплі, вирощених в контролі та в умовах клиностатування

Показник	Стационарний контроль	Клиностатування
Розмір міні-бульб, мм		
довга вісь	8.71 ± 0.18	$10.90 \pm 0.54^*$
коротка вісь	6.43 ± 0.25	6.19 ± 0.22
Кількість клітинних шарів шкірки на поперечних зрізах	13 ± 2	15 ± 3
Кількість клітинних шарів запасальної паренхіми (на поперечних зрізах міні-бульби)	68.0 ± 5.7	$88.0 \pm 6.7^*$
Розмір клітин центральних шарів запасальної паренхіми, мкм		
довга вісь	70.0 ± 5.4	$103.0 \pm 15.6^*$
коротка вісь	58.0 ± 4.8	$77.8 \pm 5.8^*$
Кількість амілопластів у паренхімній клітині	20 ± 4	25 ± 3
Вміст вуглеводів, мг/г сирої маси:		
крохмаль	198.5 ± 5.4	$261.0 \pm 7.9^*$
моно- та дисахариди	15.8 ± 0.5	$12.0 \pm 0.7^*$
Вміст амілози у крохмалі, %	25.8 ± 2.7	$5.8 \pm 0.9^*$
Відношення амілоза/амілопектин	1:3	1:16*

* $P = 0.05$

Рис. 1. Багатошарова перидерма та прилеглі шари крохмаль-запасальної паренхіми міні-бульб картоплі: *a, b* — в контролі, *c* — в умовах клиностатування. На фрагментах *a, c* (світлова мікроскопія) розміри реперних міток складають 50 мкм, на фрагментах *b, c* (електронна мікроскопія) — 10 мкм. Стрілками вказані амілопласти

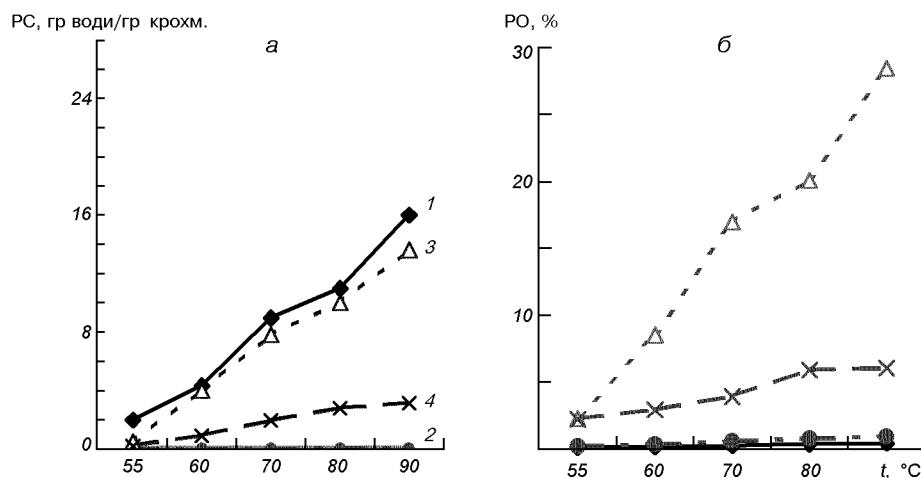


Рис. 2. Розбухальна сила (РС) (а) та розчинність у воді (РО) (б) крохмалю контрольних та клиностатованих міні-бульб картоплі 1 — амілоза, 2 — амілопектин, 3 — крохмаль контрольних міні-бульб, 4 — крохмаль клиностатованих міні-бульб

коротка — 12 ± 1.4 мкм. Процентний вміст у клітині трьох груп амілопластів становив 54.5, 36.5 та 9 % відповідно.

За допомогою біохімічних методів визначено, що вміст крохмалю у бульбах становив 198.5 ± 5.4 мг/г сирої маси, вміст моно- та дисахаридів був значно нижчим (15.8 ± 0.5 мг/г сирої маси). Крохмаль бульб містив 25.8 % амілози та біля 74.0 % амілопектину (на сиру масу крохмалю). Відомо, що смакові якості крохмалю запасальних органів залежать від розчинності крохмалю у гарячій воді та його розбухальної сили у воді [27]. Тому ми вивчили ці показники у міні-бульбах картоплі. Розбухальна сила крохмалю при температурі 90°C міні-бульб досягала 13.6 г води/1 г сухої маси крохмалю, тоді як розбухальна сила чистої амілози булавищою (16.41 г води/1 г амілози), а чистого амілопектину — досить низькою (0.02 г води/1 г амілопектину) (рис. 2, а). Розчинність крохмалю міні-бульб у гарячій воді (при 90°C) дорівнювала 28 г води/1 г сухої маси крохмалю, тоді як розчинність амілози та амілопектину становила 0.4 та 0.9 г води/1 г сухої речовини відповідно (рис. 2, б).

Клиностатування (2 об/хв) В умовах клиностатування утворення міні-бульб картоплі відбувалося ідентично контролю з пазушних бруньок. 45-добові міні-бульби за формою та ана-

томічною структурою (рис. 1, в) не відрізнялися від контрольних, проте спостерігалися певні відмінності: за кольором шкірки, розміром клітин та амілопластів, вмістом та складом крохмалю (таблиця). Клиностатовані міні-бульби, на відміну від контрольних, мали жовтий чи буруватий колір та більші розміри за рахунок зростання кількості шарів крохмаль-запасальної паренхіми (див. таблицю) та збільшення розмірів клітин. Поряд з амілопластами за розміром та формою ідентичними таким у контрольних клітинах, відмічена наявність «гігантських» амілопластів яйцевидної форми (рис. 1, г, стрілки), розмір яких досягав 45.9 ± 4.8 мкм по довгій осі та 19.79 ± 2.8 мкм — по короткій. Процентний вміст різних за розміром груп амілопластів на клітину в центральних шарах крохмаль-запасальної паренхіми був таким: 19 % — малих кулястих амілопластів; 23 % — середніх овальних; 28 % — великих овальних, та 30 % — «гігантських» амілопластів відповідно.

У порівнянні з контролем (табл. 1) встановлено збільшення вмісту крохмалю у міні-бульбах у 1.4 рази в умовах клиностатування та незначне зниження вмісту моно- та дицукрів. Вміст амілози у крохмалі значно зменшився до 5 %, що відбилося на водорозчинності крохмалю у гарячій воді та його розбухальної сили у воді (рис. 2). Розбухальна сила крохмалю зменшила-

ся у 4.6 разів; розчинність його у гарячій воді — у 4.5 рази у порівнянні з крохмалем контрольних міні-бульб.

Одержані дані показують, що збільшення розміру міні-бульб в умовах тривалого клиностатування відбувається за рахунок збільшення кількості шарів крохмаль-запасальної паренхіми. Крім того, збільшення розмірів міні бульб корелювало із збільшенням вмісту крохмалю та розміру крохмальних гранул у клітинах клиностатованих міні-бульб. Клітинні механізми прискореного росту крохмаль-запасальної паренхіми та амілопластів у клиностатованих міні-бульбах поки не досліджені.

Феномен наявності у одній клітині різних за розміром амілопластів поки важко пояснити. Можна лише припустити наявність певної регуляції функціонування крохмаль-сінтетаз у різних амілопластах однієї клітини. До того ж наше припущення підтверджується попередніми даними про одночасну наявність фосфорилази у одних амілопластів та відсутність її у інших амілопластів однієї клітині у 10- та 30-добових міні-бульбах картоплі [23].

В ряді лабораторій ведуться дослідження механізмів, які контролюють розміри крохмальних зерен [9, 26]. За допомогою генетично-інженерних методів показано, що диференціальне інгібування однієї із двох форм крохмаль-сінтетази призводило до суттєвого зниження (у два-три рази) розміру крохмальних зерен у бульбах картоплі [21]. Проте дія фітогормонів, зокрема індоліл-оцтової кислоти (1 мг/л), спричиняла збільшення розміру крохмальних зерен у бульбах картоплі [3].

Збільшення вмісту крохмалю у клиностатованих міні-бульбах можна пояснити так. У крохмалі клиностатованих міні-бульб збільшився вміст амілопектину порівняно з контрольними. Відомо, що в синтезі амілопектину беруть участь чотири класи ферментів: розчинна крохмаль-сінтетаза I, II та III (soluble starch synthase — SS), крохмаль-розгалужуючий фермент (starch branching enzyme — BE), крохмаль-дерозгалужуючий фермент (starch debranching enzyme — DBE) та глюкан-фосфорилаза [15, 20, 26]. Активність останнього ферменту підвищувалася у 10- та 30-добових клиностатованих міні-бульбах картоплі у порівнянні з контролем [5, 23]. Враховуючи відмічені вище дані

та результати наших експериментів, можна припустити підвищення активності SS, BE та ферменту DBE у клиностатованих міні-бульбах.

Ми встановили, що крохмаль клиностатованих міні-бульб відрізняється за фізичними ознаками (розчинність у воді та розбухальна сила) від крохмалю в контролі. Певні зміни складу та фізичних властивостей крохмалю проростків сої та бульб картоплі виявлені після короткочасного (до 16 діб) впливу мікрогравітації [12, 18]. Зокрема, відношення Δ_x/Δ_p (Δ_x — магнітна чутливість крохмалю, Δ_p — різниця щільності крохмалю та води) було вищим для крохмалю сім'ядолей сої та бульб картоплі досліджуваних космічних рослин [19]. Ми не виключаємо, що тривала дія мікрогравітації на протязі всього вегетативного періоду росту картоплі буде спричиняти ще більший біологічний ефект на крохмальні зерна запасальних органів рослини.

Відомо, що крохмаль — це складний напівкристалічний полісахарид, складається в основному (99 % сухої маси) із двох α -глюканових полімерів: амілози та амілопектину, які відрізняються за кількістю α -(1-4)- та α -(1-6)-зв'язків та залишків глюкози у молекулі [20, 26]. Розрізняють три типи крохмалю: восковий крохмаль (менше 15 % амілози), нормальній (16—35 % амілози) та амілокрохмаль, в якому більше ніж 36 % амілози [22, 26, 27]. Нешодівно встановлено, що розбухальна сила та розчинність крохмалю у гарячій воді корелювали з кількістю амілози в крохмалі [16, 25]. Так було встановлено, що крохмаль кількох сортів кукурудзи, батата та маніоки, які містили восковий крохмаль (з пониженим вмістом амілози) характеризувався низьким ступенем желатинізації та розчинності у воді [16, 25]. Таким чином, одержані нами дані корелюють з даними інших дослідників про взаємозв'язок зниження вмісту амілози з пригніченням розчинності крохмалю у воді. Які ж механізми такої кореляції? Відомо, що при нагріванні у воді природного крохмалю відбувається його структурна реорганізація, яка залежить від виду рослини та органу. При цьому крохмаль розбухає і трансформується у аморфну форму із втратою молекулярної структури, гранула крохмалю повністю руйнується і утворюється тонка паста чи гель. На молекулярному рівні при підвищенні температури (починаючи з 45 °C) відбувається гідратація зовнішніх частин

молекули крохмалю за рахунок руйнування водневих зв'язків у молекулах амілопектину та амілози [27]. Нещодавно при дослідженні крохмалю зернівок індійських та японських сортів рису (*Oryza sativa L.*) встановлено, що гени SSPa (крохмаль синтетази) відповідають та контролюють залежність швидкості желатинізації крохмалю від зміни температури, бо зміни структури амілопектину наступали при зв'язуванні SSPa з поверхнею гранул крохмалю [24]. Ці дослідники ідентифікували ген *alk2(t)*, який відповідав за желатинізацію крохмалю рису при зміні температури. Було показано, що крохмаль, який містив більше амілопектину, відрізнявся від інших видів алелями SSPa. На основі термальних властивостей та довжини ланцюгів молекул амілопектину було зроблено висновок, що ген фермента SSPa має три різні алелі: одна — у японського рису, дві — у індійських видів рису, тоді як ген *alk2(t)* має тільки дві алелі для низько- та високотемпературної желатинізації крохмалю. Таким чином, зроблено висновок, що різноманітність розчинності у гарячій воді крохмалю була результатом дії комбінації різних алелей [25]. Враховуючи це та результати наших експериментальних даних, можна допустити, що зміни розчинності крохмалю у воді та розбухальної сили крохмалю є наслідком посиленого синтезу амілопектину, змін активності ферментів синтезу амілози та амілопектину, а також генетичної модифікації генів SSPa, що відбуває адаптаційний процес до дії тривалого клиностатування.

- Болотова В., Саканьян В. Е., Лезиновская Е., Пастишников Л. Спектрофотометрический метод определения содержания полисахаридов в листьях *Tilia cordata* Mill. // Растительные ресурсы.—2001.—37.—С. 109—112.
- Гончарик М. Н. Физиология семян и клубней картофеля // Физиология сельскохозяйственных растений / Под ред. В. Рубин, С. Андриенко. — М.: МГУ, 1971.—Т. 12.—С. 18—31.
- Гукасян И. А., Голяновская С. А., Гришунова Е. В. и др. Влияние гол-трансгенов, ИУК и кинетина на содержание крахмала и размер крахмальных гранул в клубнях картофеля, культивируемого *in vitro* // Физиол. раст.—2005.—52, № 6.—С. 913—918.
- Дженсен У. Ботаническая гистохимия. — М.: Мир, 1965.
- Недуха О. М., Шнокова Е. Л., Кордом Е. Л. Вплив клиностатування на активність та локалізацію фосфорилази в крохмалезапасальних клітинах міні-бульб *Solanum tuberosum L.* // Доп. НАНУ.—2004.—№ 8.—

- С. 174—178.
- Рихтер М. С., Августат С., Ширбаум Ф. Избранные труды исследования крахмала / Под ред. Н. Козьмина, В. Гринер. — М.: Пищевая пром-сть, 1975.—137 с.
 - Cook M., Croxdale J. G. Ultrastructure of potato tubers formed in microgravity under controlled environment condition // J. Exp. Bot.—2003.—54.—P. 2157—2164.
 - Croxdale J., Cook M., Tibbitts T., et al. Structure of potato tubers formed during spaceflight // J. Exp. Bot.—1997.—48.—P. 2037—2043.
 - Fernie A., Willmitzer L., Trethewey R. Sucrose to starch: transmission in molecular plant physiology // Trends Plant Sci.—2002.—7.—P. 35—41.
 - Gilbert L. N., Gilbert G. A., Sprey S. The methods of carbohydrates chemistry / Ed. A. Khorlin. — Moscow: Mir, 1967.
 - Glaring M. A., Koch C., Bienov A. Genotype-specific spatial distribution of starch molecules in the starch granule: A combined CLSM and SEM approach // Biomacromolecules.—2006.—7, N 8.—P. 2310—2320.
 - Hasenstein K. H., Kuznetsov O., Brown C., et al. Composition and physical properties of starch in microgravity grown plants. // Abstracts of 16th ASGSB 2000 Annual Meeting, October 25—28 2000, Montreal, Canada. — Montreal, 2000.—P. 111.—(ASGSB-CSA-ELGRA).
 - Hill W. F., Mortley D., MacKoiak C., et al. Growing root, tuber and nut crops hydroponically for CELLS. // Adv. Space Res.—1992.—12, N 5.—P. 125—131.
 - Hovenkamp-Hermelink J. H. M., Devries J., Adamse P., et al. Rapid estimation of the amylose/amyllopectin ratio in small amounts of tuber and leaf tissue of the potato. // Potato Res.—1988.—31.—P. 241—246.
 - Hung P. V., Maeda N., Morita N. Waxy and high-amylase wheat starches and flours—characteristics, functionality and application // Trends in Food Science and Technology.—2006.—17, N 8.—P. 448—456.
 - Karam L., Ferrero C., Martino M., et al. Thermal, microstructure; and textural characterization of gelatinized corn cassava and yam starch islands // Int. J. Food Sci. and Technology.—2006.—41, N 7.—P. 805—812.
 - Kordyum E. L., Baranenko V., Nedukha O., Samoylov V. Development of potato minitubers in microgravity // Plant Cell Physiol.—1997.—38, N 10.—P. 1111—1117.
 - Kuznetsov O., Brown C. S., Levine H. G., et al. Space-grown plants show modified starch structure // COSPAR 2000, Warsaw, 16—28 July. — Warsaw, 2000.—P. 631.
 - Kuznetsov O., Brown C., Levine H., et al. Composition and physical properties of starch in microgravity-grown plants // Adv. Space Res.-2001.—28.—P. 651—658.
 - Lawal O., Adebawale K., Oderinde R. Functional properties of amylopectin and amylose fractions isolated from *Bambarragroundnut* (*Voandzeia subterranea*) starch // African. J. Biotechnol.—2004.—3.—P. 399—404.
 - Lloyd J., Springer F., Buleon A., et al. The influence of alterations in ADP-glucose pyrophosphorylase activities on starch structure and composition of potato tubers // Plantae.—1999.—209.—P. 230—238.
 - Nakamura Y. Towards a better understanding of the metabolic system for amylopectin biosynthesis in plants: rice endosperm as a model tissue // Plant Cell Physiol.—2002.—43, N 7.—P. 718—725.

23. Nedukha O., Schnyukova E., Leach J. High phosphorylase activity is correlated with increased potato minituber formation and starch content during extended clinorotation // Adv. Space Res.—2003.—31.—P. 2245—2251.
24. Shu X. L., Shen S., Bao J., et al. Molecular and biochemical analysis of the gelatinization temperature characteristics of rice (*Oryza sativa* L.) starch granules // J. Cereal Sci.—2006.—44, N 1.—P. 40—48.
25. Singh N., Inouchi N., Nishinari K. Structural and viscoelastic characteristics of starches separated from normal, sugary and waxy maize // Food Hydrocolloids.—2006.—20, N 6.—P. 923—935.
26. Smith A., Denyer K., Martin C. The synthesis of starch granule // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.—1997.—48.—P. 67—87.
27. Tester R., Karkalas J., Qi X. Starch structure and digestibility enzyme-substrate relationship // World's Poultry Sci. J.—2004.—60.—P. 186—195.
28. Tibbits T., Croxdale J. G., Brown C., Wheeler R. Potato tuber formation and starch accumulation in space // Grav. and Space Biology Bull.—1996.—10.—P. 28.
29. Weakley B. A Beginner's handbook in biological electron microscopy / Ed. by V. Poljakov. — Moscow: Mir, 1975.

THE INFLUENCE OF IMITATED MICROGRAVITY ON THE AMYLOPLAST STRUCTURE, THE COMPOSITION AND CHARACTERISTICS OF POTATO MINITUBER

O. M. Nedukha, Ye. L. Kordyum, Ye. I. Schnyukova

The influence of imitated microgravity (clinorotation, 2 rev/min) of long-term duration on the structural-functional organization of *Solanum tuberosum* L. (cv Adreta) minituber cells is studied. An essential influence on 45-day minituber size, on the content and composition of starch, on the solubility of starch in water and on the structure of amyloplasts in the storage parenchyma of potato minitubers is detected. The following procedures are used: the model system of potato minitubers in sterial culture, the light microscopy, scanning electron microscopy, and biochemical methods for the study of storage polysaccharides. The appearance of a fraction of «gigantic» amyloplasts in starch-storage parenchyma is observed during horizontal clinorotation of long-term duration. The correlation between the decrease of content amylose and the inhibition of starch solubility in water is detected under long-term clinorotation. Our results point to some changes of the carbohydrate metabolism of potato storage organs under the effect of microgravity imitation.

УДК 577.245+612.112

Л. І. Остапченко, І. В. Михайлик, К. В. Прокопова

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Активність інтерферон-залежної 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах щурів в умовах трансформованого середовища

Надійшла до редакції 26.10.06

Виявлено, що інтерферон-залежна 2',5'-олігоаденілат-синтетаза є чутливим показником функціонального стану імунокомпетентних клітин в умовах трансформованого середовища. Мікрографізація та іонізуюче випромінювання спричиняють підвищення активності досліджуваного ферменту в лімфоцитах щурів, що може бути результатом запуску компенсаторних механізмів лімфоїдних клітин у відповідь на дію стресових факторів. Введення індукторів інтерферону дозволяє стимулювати 2',5'-олігоаденілат-синтетазу, що уможливлює корекцію патологічних змін у клітинах та посилення адаптаційних реакцій імунної системи.

ВСТУП

Перебування у трансформованому середовищі спричиняє порушення важливих фізіологічних функцій в організмі людини. В першу чергу ураження зазнає імунна система, найчутливіша до будь-яких стресових факторів — іонізуючої радіації, змін температури, гравітації та ін. Проте біохімічні процеси, що протикають в імунокомпетентних клітинах при даних порушеннях імунної системи, на сьогодні залишаються мало вивченими. Тому дослідження цих механізмів є необхідним для пошуку засобів корекції функціонування імунної системи людини під час космічного польоту з профілактичними та терапевтичними цілями.

Зручною моделлю для вивчення впливу космічних факторів на імунну систему тваринного організму є лімфоцити [1, 8, 9]. Сьогодні експериментально доведено, що дія чинників космічного польоту призводить до змін у клітинних системах трансдукції сигналу [10]. Разом з тим залишається мало вивченою месенджерна систе-

ма інтерферону, що контролює такі важливі функції, як противірусний та протипухлинний захист, імунну активацію тощо [15]. Тому цікавим є вивчення ключових компонентів каскаду інтерферону за умов впливу факторів трансформованого середовища — мікрографізації та іонізуючого випромінювання, а також аналіз впливу на досліджувану систему біологічно активних речовин.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідах використовували білих нелінійних щурів обох статей масою 130 ± 10 г. Тварин піддавали горизонтальному клиностатуванню на клиностаті «Цикл-2» протягом 1, 2 та 3 год (модель *in vivo*) за методом [12]. Лімфоцити, виділені з тимусу щурів, клиностатували протягом 15, 30, 45 та 60 хв (модель *in vitro*). Іншу групу тварин опромінювали на установці РУМ-17 в дозах 0.25—1.0 Гр за умов: потужність дози — 17 сГр/хв, фільтри 0.5 мм Cu + 1 мм Al,

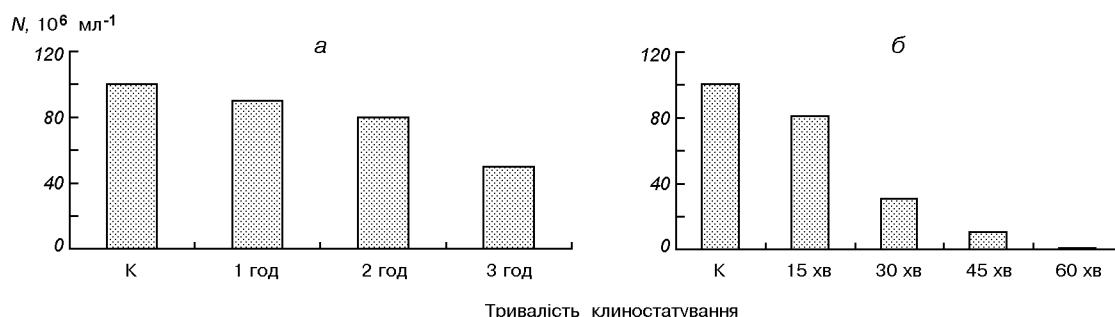


Рис. 1. Вплив тривалості клиностатування на виживання лімфоцитів тимусу щурів: *a* — *in vivo*, *б* — *in vitro*

напруга на трубці 200 кВ, сила струму 5 мА, відстань до поверхні шкіри тварин — 50 см. Дослідження проводили через 12 год після опромінення, що є терміном найбільш виражених порушень основних ланок метаболізму лімфоїдних клітин [3]. Тимоцити із суспензії клітин тимусу виділяли за методом [5, 7]. Кількість клітин підраховували, використовуючи камеру Горяєва. Контроль числа лімфоїдних клітин, що загинули, проводили після фарбування суспензії клітин трипановим синім. Індукцію інтерферону здійснювали *in vitro* на моделі лімфоцитів тимусу контрольних та опромінених щурів з використанням препаратів «Циклоферон» («Полісан», Росія), полі(I) · полі(Ц) («Sigma», США), галогенпохідних сполук серії «Тилороні» (експериментальні розробки Одеського ФХІ ім. О. В. Богатського) згідно з рекомендаціями [2, 6, 13, 14].

Активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази визначали спектрофотометричним методом і вираховували в наномолях неорганічного пірофосфату за 1 хв на 1 мг білка [11]. Статистичну обробку результатів і побудову графіків проводили на ЕОМ із застосуванням стандартних пакетів прикладних програм.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Нами було проведено дослідження впливу факторів трансформованого середовища, зокрема мікрогравітації та іонізуючого випромінювання, на лімфоїдні клітини щурів.

На базі створених експериментальних систем було розроблено дві моделі: *in vitro* (коли лімфо-

цити, виділені з тимусу щурів, підлягали клиностатуванню протягом різних проміжків часу) та *in vivo* (коли щурів піддавали клиностатуванню, після чого виділяли з тимусу лімфоїдні клітини). Було виявлено, що за умов модельованої мікрагравітації із збільшенням часу впливу даного фактора відбувається поступове зниження кількості життєздатних лімфоїдних клітин тимусу. В умовах клиностатування щурів (*in vivo*) через 1 год кількість життєздатних тимоцитів зменшилась на 10 % (тут і далі рівень значимості $p = 0.05$), через 2 год — на 20 %, а через 3 год вона складала половину контрольного рівня (рис. 1, *a*). Дослідження на моделі *in vitro* показали більш істотне зменшення кількості живих клітин при менших термінах впливу (рис. 1, *б*). Через 15 хв кількість лімфоцитів знижувалася на 20 %, через 30 хв — на 70 %, через 45 хв становила лише 10 % контрольного рівня, а через 1 год спостерігалася практично повна загибель.

Таким чином, вплив модельованої мікрагравітації проявляється у виснаженні популяції імунокомпетентних клітин тимусу щурів, що може відобразитися на стані імунної системи. Загибель клітин більш виражена при клиностатуванні клітин *in vitro* порівняно з дією мікрагравітації на цілісний організм *in vivo*, що можна пояснити високою чутливістю ізольованих лімфоцитів до зовнішніх впливів.

В якості другого стресового фактору було застосовано тотальне рентгенівське опромінення тварин у сублетальних дозах 0.25—1.0 Гр, яке, як відомо з наших попередніх досліджень, призводить до падіння функціональної активності лімфоїдних клітин [4]. Було виявлено, що при

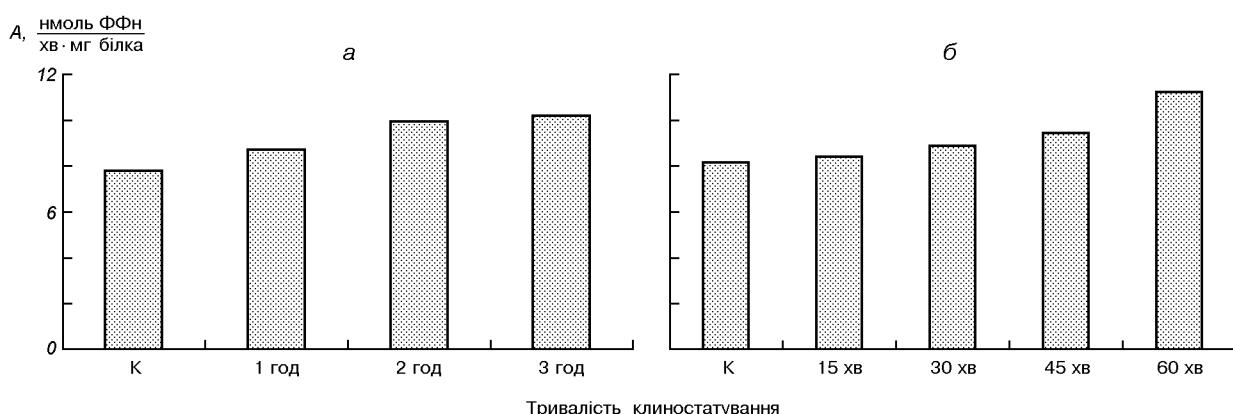


Рис. 2. Вплив клиностатування на активність 2',5'-олігоаденілат-сінтетази у лімфоцитах тимусу щурів: *a* — *in vivo*, *б* — *in vitro*

опроміненні щурів у дозі 0.5 Гр кількість тимоцитів зменшується, а при дозі 1.0 Гр це зниження їхньої кількості є найбільш вираженим. Ймовірно, це пов'язано з виникненням все глибших постпроменевих порушень із збільшенням дози опромінення.

Отже, ми встановили, що стресові фактори космічного польоту, такі як мікрогравітація та випромінювання, призводять до загибелі лімфоїдних клітин тварин. Слід передбачити можливість виникнення порушень у біохімічних процесах лімфоцитів при дії даних чинників. Сигнальна система 2',5'-олігоаденілату, індукована інтерфероном, є одним з ключових метаболічних шляхів, що визначають стан лімфоїдних клітин. Тому для з'ясування впливу стресових факторів космічного середовища на імуно-компетентні клітини тварин важливо не тільки дослідити функціонування цієї системи, а й провести пошук нових біологічно активних речовин на основі індукторів інтерферону, які могли б використовуватися з профілактичною та лікувальною метою, що дозволить скоригувати наслідки шкідливої дії на імунітет радіації та невагомості, а також підвищити стійкість організму до інших несприятливих факторів.

Нами була визначена активність ключового ферменту системи інтерферону — 2',5'-олігоаденілат-сінтетази у лімфоїдних клітинах щурів під дією мікрогравітації та опромінення, на двох біологічних моделях *in vivo* та *in vitro*, а також на фоні введення різних індукторів інтерферону.

Показано, що вплив модельованої мікрогравітації призводить до зростання олігоаденілат-сінтетазої активності в лімфоцитах тимусу щурів із збільшенням терміну дослідження у системах як *in vivo*, так і *in vitro*. При клиностатуванні щурів (*in vivo*) активність ферменту збільшувалась через 1 год на 11 %, через 2 год — на 13 %, а через 3 год зростання було максимальним — 30 % (рис. 2, *a*). При клиностатуванні ізольованих лімфоцитів *in vitro* досліджуваний показник також збільшується: через 15 хв приріст активності становив 3 %, через 30 хв — 9 %, через 45 хв активність зросла на 16 %, а через 1 год — на 38 % (рис. 2, *б*).

Можна припустити, що посилення активності 2',5'-олігоаденілат-сінтетази під впливом мікрогравітації є адаптаційною реакцією лімфоїдних клітин на дію цього стресового фактору. Це корелює з даними про загибель лімфоцитів при клиностатуванні: при зменшенні кількості клітин стимулюються біохімічні регуляторні системи, зокрема підвищується активність інтерферон-індукованого ферменту 2',5'-олігоаденілат-сінтетази у клітинах, що зберегли свою функціональність.

Для з'ясування механізмів функціонування інтерферон-залежного каскаду в умовах космічного польоту ми також вивчали вплив іонізуючого випромінювання на активність 2',5'-олігоаденілат-сінтетази. В ході досліджень було виявлено підвищення активності ферменту в лімфоцитах тимусу щурів при опроміненні в усіх

обраних дозах. При дії радіації у дозі 0.25 Гр досліджуваний показник перевищував контроль у 2.4 рази, в дозі 0.5—1.0 Гр він був в п'ять разів більший (рис. 3).

Післяпроменеву активацію 2',5'-олігоаденілат-сінтетази можна оцінити як виявлення компенсаторних механізмів імунокомпетентних клітин на вплив радіації.

З метою з'ясування можливих шляхів корекції післяпроменевих змін функціонування інтерферон-залежної системи 2',5'-олігоаденілату було здійснено дослідження впливу радіації на вищезазначену систему на фоні застосування різних індукторів інтерферону (циклоферон, полі(I) · полі(C), тилорон-тригідрохлорид 223 та тилорон-дигідрохлорид 334) у моделі *in vitro*.

Вибір даних препаратів пов'язаний з тим, що усі вони володіють потужною інтерфероногенною дією, проте діють за різними механізмами. Циклоферон — N-(1-дезокси-а-глюцитол-1-4)N-метиламоній-10-метилкарбоксилат акриданону

— низькомолекулярний індуктор інтерферону з широким спектромластивостей (противірусна, імуномодуляторна, протизапальна дія). Препарат індукує високі рівні інтерферону- α на рівні транскрипції і не впливає на посттранскрипційні процеси. Нечутливість генів фактора некрозу пухлин та інтерлейкіну-2 до впливу циклоферону свідчить про селективність даного препарату [14]. Циклоферон широко використовується у клініці з метою корекції імунної системи при імунодефіцитах та автоімунних станах, крім того цей препарат характеризується радіопротекторною дією, механізм якої поки що не з'ясований. Тилорон (2,7-біс[2-(діетиламіно)етокси]флуоренон-9) — індуктор інтерферону, що характеризується антивірусною, інтерферон-індукторною, імуномодуляторною, протипухлинною, протизапальною, радіопротекторною активністю та цілою низкою інших біологічно цінних властивостей [6]. Дію тилорону пов'язують з його здатністю взаємодіяти з нуклеїновими кислотами, подібно циклоферону, однак відсутність прямої кореляції між рівнем інтерферону та ступенем захисту свідчить про зауваження інших механізмів, окрім індукції даного цитокіну. Серед аналогів аміксину найбільш ефективними є галоген-заміщені похідні, які і були нами використані у роботі (тилорон-дигідрохлорид 334 та тилорон-тригідрохлорид 223, синтезовані на базі Одеського ФХІ ім. А. В. Богатського). Препарат Полі(I) · полі(C) (синтетична двоспіральна РНК) характеризується здатністю індукувати синтез ендогенного інтерферону, а також виступає активатором 2',5'-олігоаденілат-сінтетази [13]. У зв'язку з цим цікавим було розглянути вплив полі(I) · полі(C) на систему олігоаденілату в умовах дії променевого фактора.

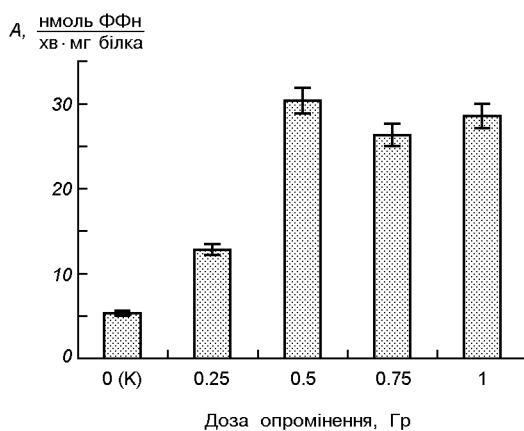


Рис. 3. Активність 2',5'-олігоаденілат-сінтетази в лімфоцитах тимусу щурів після опромінення тварин у різних дозах

Активність 2',5'-олігоаденілат-сінтетази в лімфоцитах тимусу щурів за умов опромінення тварин та преінкубації клітин з індукторами інтерферону *in vitro* (нмоль ФФ_n/хв·мг білка), $M \pm m$, $n = 5$

Індуктор інтерферону	Дози опромінення тварин				
	Контроль	0.25 Гр	0.5 Гр	0.75 Гр	1.0 Гр
Без індуктора	5.37±0.26	12.85±0.64*	30.40±1.51*	26.37±1.31*	28.63±1.43*
Тилорон-тригідрохлорид 223	19.15±0.95*	32.37±1.61*	44.69±2.23*	33.58±1.67*	23.61±1.18*
Тилорон-дигідрохлорид 334	10.65±0.53*	33.63±1.68*	25.11±1.26	74.19±3.70*	53.59±2.67*
Полі(I) · полі(ІІ)	17.42±0.87*	24.40±1.21*	61.52±3.07*	69.10±3.45*	28.26±1.42
Циклоферон	10.49±0.52*	28.80±1.44*	34.28±1.71*	61.51±3.07*	40.86±2.04*

* — $p < 0.05$ по відношенню до контролю

Преінкубація лімфоїдних клітин з вищезазначеними індукторами інтерферону *in vitro* спричиняла збільшення активності 2',5'-олігоаденілат-сінтетази порівняно з її значеннями в клітинах, які не підлягали обробці досліджуваними речовинами (таблиця).

Оцінка приросту активності 2',5'-олігоаденілат-сінтетази під впливом індукторів, використовуваних при опроміненні, показала, що тилюрон-334, полі(I) · полі(Ц) і циклоферон викликали найбільш виражене підвищення активності даного ферменту в тимоцитах при дозі 0.75 Гр. Тилорон-тригідрохлорид223 виявився значно менш ефективним щодо стимуляції 2',5'-олігоаденілат-сінтетази, а найбільший приріст активності ферменту виявлений при дозі 0.25 Гр. Виявлені відмінності можуть бути пов'язані з різними механізмами дії використаних індукторів інтерферону, у зв'язку з чим їхні властивості потребують подальшого детального дослідження.

Встановлений для розглянутих індукторів ефект істотного підвищення активності 2',5'-олігоаденілат-сінтетази в лімфоїдних клітинах при опроміненні тварин у вищих дозах має особливо важливе значення в контексті доцільноті практичного застосування даних препаратів як радіозахисних засобів.

ВИСНОВКИ

Базуючись на отриманих даних, можна стверджувати, що активність інтерферон-залежного ферменту 2',5'-олігоаденілат-сінтетази є чутливим показником функціонального стану імуно-компетентних клітин в умовах трансформованого середовища (зокрема, мікрогравітації та іонізуючого випромінювання). Вплив модельованої мікрогравітації призводить до загибелі лімфоїдних клітин тимусу щурів; даний ефект посилюється із збільшенням тривалості дії фактору та є більш вираженим у системі *in vitro*, коли кінностатуванню підлягали ізольовані лімфоцити, порівняно з дією мікрогравітації на цілісний організм *in vivo*. Фактори трансформованого середовища — мікрогравітація та іонізуюче випромінення — спричиняють підвищення активності інтерферон-індукованого ферменту 2',5'-олігоаденілат-сінтетази в лімфоцитах тимусу

щурів, що інтенсифікується із збільшенням часу та дози стресового чинника. Спостережуване збільшення активності 2',5'-олігоаденілат-сінтетази може бути результатом запуску компенсаторних механізмів лімфоїдних клітин у відповідь на дію стресових факторів, які реалізуються через систему трансдукції сигналу інтерферону. Введення біологічно активних речовин на базі індукторів інтерферону дозволяє стимулювати активність 2',5'-олігоаденілат-сінтетази, що уможливлює корекцію патологічних змін в клітинах та посилення компенсаторних реакцій імунної системи.

Отримані результати сприятимуть з'ясуванню молекулярних механізмів функціонування клітинних регуляторних систем, зокрема системи інтерферону, яка відповідає за нормальнє функціонування імунної системи, під впливом чинників трансформованого середовища (наприклад, в умовах космічного польоту). Подальший науково-обґрунтований пошук та розробка біологічно активних препаратів на основі індукторів інтерферону дозволить створити ефективні засоби, які б могли застосовуватися з профілактичною та лікувальною метою під час перевування людини в космосі.

- Гамалея Н. Ф., Шишко Е. Д., Горобец О. Б. Клеточная модель для изучения влияния измененной гравитации на циркадную ритмику человека // Космічна наука і технологія.—2004.—10, № 5/6.—С. 204—207.
- Ершов Ф. И., Глазулахова Э. Б. Индукторы интерферона — Новое поколение иммуномодуляторов // Вестник Российской Академии Наук.—1999.—№ 4.—С. 75—79.
- Кучеренко Н. Е., Матышевская О. П., Остапченко Л. И. и др. Содержание циклических нуклеотидов, свободного Са²⁺ и малонового диальдегіда в лімфоцитах кріс при дії невисоких доз радіації // Радіобіологія.—1991.—31, № 5.—С. 739—742.
- Михайлік І. В., Прокопова К. В., Остапченко Л. І., Кучеренко М. Є. Вивчення інтерферон-індукованої системи 2',5'-олігоаденілату в лімфоїдних клітинах щурів за дії іонізуючого випромінення // Укр. біохім. журн.—2004.—76, № 3.—С. 126—130.
- Морозов В. Г., Хавінсон В. Х. Иммунологическая функция тимуса // Успехи совр. біол.—1985.—97, № 1.—С. 36—37.
- Шмелев Ю. А., Григорян С. С., Чижов Н. П. и др. Результаты клинического изучения амиксина // II Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». — М., 1995.—С. 193—194.
- Boyum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow // Scand. J. Clin. Lab. Invest.—1968.—21.—

- P. 28—30.
8. Cogoli A. The effect of hypogravity and hypergravity on cells of the immune system // J. Leukoc. Biol.—1993.—44, N 3.—P. 259—268.
 9. Cogoli A., Cogoli-Greuter M. Activation and proliferation of lymphocytes and other mammalian cells in micro-gravity // Adv. Space Biol. Med.—1997.—6.—P. 33—79.
 10. Hashemi B. B., Penkala J. E., Venus C., et al. T cell activation responses are differentially regulated during clinorotation and space flight // FASEB J.—1999.—13.—P. 2071—2082.
 11. Justensen J., Kjeldgaard N. O. Spectrophotometric pyrophosphate assay of 2',5'-oligoadenylate synthetase // Anal. Biochem.—1992.—207, N 1.—P. 90—93.
 12. Mishchenko L. T., Silayeva A. M., Boyko A. L. Effect of simulated microgravity on the virus-infected wheat plants // Abstracts 31-st Scientific Assembly of COSPAR (14—21 July, 1996). — The Univ. of Birmingham, England, 1996.—P. 385.
 13. Offermann M. K., Zimring J., Mellits K. H., Mathews M. B. Activation of the double-stranded-RNA-activated protein kinase and induction of vascular cell adhesion molecule-1 by poly(I).poly(C) in endothelial cells // Eur. J. Biochem.—1995.—232.—P. 28—36.
 14. Popovich I. G., Zabeyhinski M. A., Kovalenko A. L., et al. Inhibitory effect of synthetic interferon Cycloferone on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats // Cancer. Lett.—2000.—148, N 2.—P. 215—219.
 15. Stark G. R., Kerr I. M., Williams B. R. G., et al. How cells respond to interferons // Annu. Rev. Biochem.—1998.—67.—P. 2227—2264.
-

**ACTIVITY OF INTERFERON-DEPENDENT
2',5'-OLIGOADENYLATE SYNTHETASE IN RAT
LYMPHOID CELLS UNDER TRANSFORMED
ENVIRONMENT CONDITIONS**

L. I. Ostapchenko, I. V. Mikhailik, K. V. Prokopova

It is detected that interferon-dependent 2',5'-oligoadenylate synthetase is a sensitive index of immunocompetent cells functional state under transformed environment conditions. Microgravitation and ionising radiation induce increase of investigated enzyme activity in rat lymphocytes, which can be a result of lymphoid cells compensatory mechanisms starting in response to stress factors action. Administration of interferon inducers permits one to stimulate the 2',5'-oligoadenylate synthetase, which enables one to correct pathological changes in the cells and to intensify adaptative reactions of immune system.

УДК 54.024;66.094.1

В. В. Бараненко

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, Київ

Активация пероксидного окисления липидов как один из механизмов перестроек в функционировании клеток и тканей растений в условиях микрогравитации

Надійшла до редакції 26.10.06

Активация пероксидного окисления липидов (ПОЛ) — это универсальным механизмом пошкоджения клеткових мембран. Предполагается, что в условиях микрогравитации этот процесс будет действовать под час перебудовы тканей растений. Выводится перебор ПОЛ у листьев и хлоропластов гороха, а также утворення активных форм кисню, инициаторов ПОЛ, в условиях 7- и 14-дневового клиностатирования (2 об/хв). При этом отмечено усиление утворення АФК и увеличение интенсивности ПОЛ, особенно при 14-дневовому клиностатированию. Выявлено увеличение в составе ненасыщенных жирных кислот на 7-му дню и незначительное снижение ($\approx 7\%$) — на 14-й. Швидкость транспорта электронов в хлоропластах уменьшилась в обоих фотосистемах, особенно у первых на 14-й день.

ВВЕДЕНИЕ

Пероксидное окисление липидов (ПОЛ) является важной составляющей метаболизма растений. В обычных условиях функционирования уровень ПОЛ незначительный, однако при действии разнообразных неблагоприятных факторов происходит интенсификация ПОЛ [4, 10]. Анализ литературных данных свидетельствует, что активация ПОЛ является универсальным механизмом повреждения мембранных структур клетки в условиях стресса и во время старения растений [2, 6]. Установлено, что интенсификация ПОЛ сопровождается изменениями липидного и жирнокислотного состава клеточных мембран, их вязкости и проницаемости, активности мембранных связанных ферментов [2, 4]. В связи с тем, что активация ПОЛ является неспецифической реакцией организма растений, возникло предположение, что данные процессы определенным

образом вовлечены в перестройки клеточного метаболизма в условиях измененной силы тяжести. В условиях микрогравитации и клиностатирования отмечено широкий спектр перестроек как на уровне клеток, так и всего организма, причины которых полностью не установлены [9]. Целью данной работы было изучение проекции ПОЛ в листьях и хлоропластах гороха в связи с возможным участием в перестройках метаболизма клеток и тканей растений в условиях измененной силы тяжести. Изучено образование АФК, которые являются инициаторами ПОЛ, а также содержание малонового диальдегида, одного из конечных продуктов процесса окисления липидов. Поскольку ненасыщенные жирные кислоты являются субстратом ПОЛ, их состав также определен в условиях клиностатирования. Ненасыщенными жирными кислотами особенно богаты мембранные тилакоиды [5], и интенсификация ПОЛ в хлоропластах может

быть определенным образом задействована в изменении функционирования хлоропластов. Поэтому скорость транспорта электронов на уровне обеих фотосистем (ФСI и ФСII) также изучена.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследованиях были использованы листья и хлоропласти гороха (*Pisum sativum L.*, сорт Интенсивный). Растения выращивали на протяжении 7 и 14 сут при 16-часовом световом режиме, температуре 25 °C/20 °C (день/ночь), освещении 7 000 люкс.

Условия микрогравитации в лабораторных условиях моделировали при помощи медленно вращающих горизонтальных клиностатов (2 об/мин, $2.7 \cdot 10^{-4}$ g).

Образование АФК изучали путем регистрации интенсивности люминолзависимой хемилюминесценции ($I_{\text{ЛЗХЛ}}$) с использованием ингибиторов: супероксиддисмутаза и OsO₄ — как уборщики супероксидных радикалов, бензоат натрия и маннитол — как дезактиваторы гидроксильных радикалов, гистидин и гидрохинон — как ингибиторы синглетного кислорода, каталаза — пероксида водорода. Образование малонового диальдегида, одного из конечных продуктов ПОЛ, изучали при помощи цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБКАП) и дальнейшей регистрации продуктов реакции на спектрофотометре СФ-2000.

Содержание жирных кислот в хлоропластах изучали при помощи газовой хроматографии.

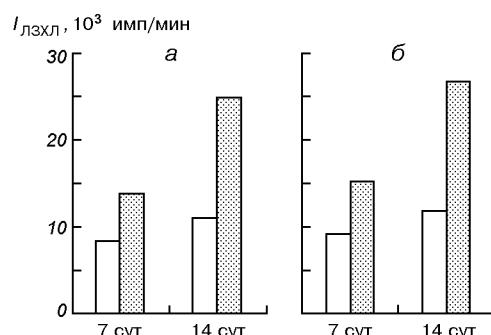


Рис. 1. Интенсивность ЛЗХЛ в листьях (а) и хлоропластиах гороха (б) в контроле (белые столбцы) и при клиностатировании (серые столбцы)

Скорость электронного транспорта в хлоропластиах определена при помощи полярографа ОН-105 (Radeliks, Венгрия).

Хлоропласти выделяли при помощи дифференциального центрифугирования; качество хлоропласти проверяли при помощи светового микроскопа. Интактность и чистоту фракции определяли феррицианидным методом и путем изучения активности сукцинат-цитохром-с-оксидазы — маркерного фермента митохондрий. При этом отмечено высокую степень чистоты выделенных хлоропласти (91 %).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Образование активных форм кислорода, инициаторов ПОЛ, в листьях и хлоропластиах гороха в контроле и в условиях клиностатирования. Начальным этапом в развитии ПОЛ является усиление образования АФК в клетках и тканях растений [4]. Изучение интенсивности ЛЗХЛ показало усиление образования АФК в листьях и хлоропластиах гороха на обоих этапах клиностатирования, особенно при 14-суточном воздействии (рис. 1). Так, если при 7-суточном клиностатировании интенсивность свечения в гомогенатах листьев увеличилась в

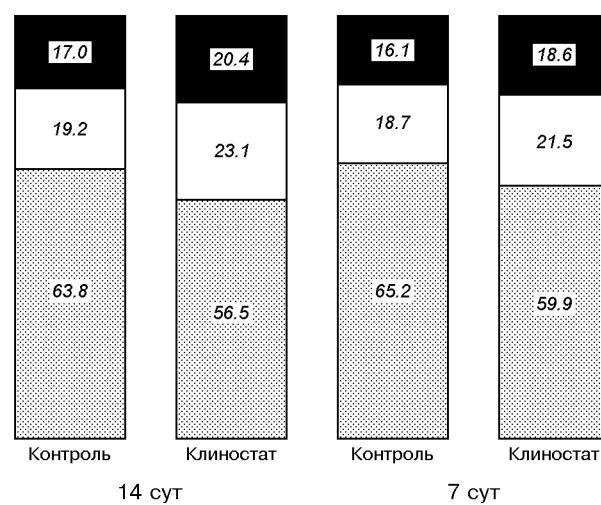


Рис. 2. Соотношение между отдельными АФК в листьях гороха в контроле и при клиностатировании (%): серые столбцы — супероксидные радикалы, белые — пероксид водорода, черные — гидроксильные радикалы

1.6 раз, то при 14-суточном — почти в 2.3 раза. В хлоропластах отмечено аналогичное усиление образования АФК с тенденцией к возрастанию при более длительном воздействии. Эти данные свидетельствуют, что хлоропlastы являются важным источником АФК в клетке.

При помощи ингибиторов АФК определено образование супероксидных и гидроксильных радикалов, а также пероксида водорода в листьях и хлоропластах гороха (рис. 2). При этом отмечено изменение соотношения между ними: в клетках контрольных растений преобладали в хемилюминесцентной реакции супероксидные радикалы с относительно невысокой реакционной способностью; в условиях клиностатирования данные радикалы также были доминирующими, однако их доля уменьшалась с одновременным увеличением доли других АФК, особенно реакционноспособных гидроксильных радикалов (OH^-) (рис. 2).

Содержание ТБКАП в листьях и хлоропластах гороха в контроле и при клиностатировании. Изучение протекания процесса ПОЛ на одном из его конечных этапов, а именно на этапе образования малонового диальдегида, показало увеличение образования ТБКАП в листьях и хлоропластах гороха на обеих строках клиностатирования, особенно при 14-суточном воздействии (рис. 3). Так, если при 7-суточном клиностатировании отмечено усиление накопления ТБКАП в листьях гороха в 1.6 раза, то при 14-суточном — в 2.16 раза.

Между интенсивностью ЛЗХЛ и содержанием ТБКАП обнаружена довольно высокая степень

корреляции: $r = 0.98 \pm 0.03$ для листьев и $r = 86 \pm 0.06$ для хлоропластов ($P > 0.05$).

Жирнокислотный состав хлоропластов гороха в контроле и в условиях клиностатирования. Изучение состава жирных кислот хлоропластов гороха показало, что в условиях 7-суточного клиностатирования происходило увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот (НЖК) и индекса ненасыщенности по сравнению с контрольными растениями (табл. 1). Предположено, что данные изменения являются адаптивными и направлены на предупреждение перехода мембран хлоропластов из жидкостно-кристаллического состояния в твердый гель вследствие селективного окисления НЖК при активации ПОЛ. Увеличение длительности клиностатирования (14 сут) приводило к снижению количества НЖК, что может быть следствием их окисления на фоне дальнейшей интенсификации ПОЛ. Интересно также то, что малоновый диальдегид в клетках гороха образуется при окислении линолевой и линоленовой жирных кислот [3]. В наших исследованиях увеличение содержания МДА в хлоропластах гороха в условиях 14-суточного клиностатирования сопровождалось одновременным снижением содержания данных жирных кислот.

Таким образом, снижение содержания НЖК может быть обусловлено их селективным окислением. От состава жирных кислот и их соотношения зависит также вязкость мембран: при увеличении количества НЖК вязкость снижается и наоборот [1]. Изменения вязкости мембран и активности мембранных ферментов отмечены в условиях микрогравитации [9], которые можно объяснить изменением состава и соотношения жирных кислот вследствие активации свободнорадикального окисления в клетках и тканях растений.

Влияние клиностатирования на скорость транспорта электронов в хлоропластах гороха. Изучение скорости транспорта электронов на уровне отдельных фотосистем показало ее снижение на обоих этапах клиностатирования, особенно в ФСI при 14-суточном воздействии (табл. 2). Одной из возможных причин ингибирования активностей обоих фотосистем может быть усиление свободнорадикального окисления в хлоропластах в данных условиях. Более значительное ингибирование ФСI по сравнению с

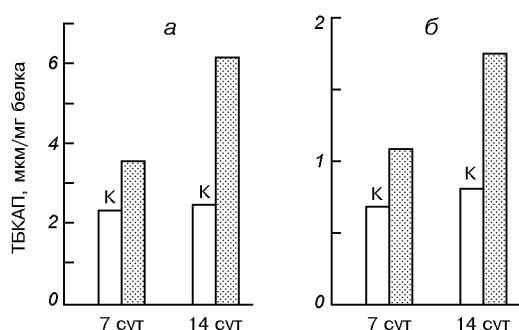


Рис. 3. Содержание ТБКАП в листьях (а) и хлоропластах (б) гороха в контроле (белые столбы) и при клиностатировании (серые столбы)

Таблица 1. Жирнокислотный состав липидов хлоропластов гороха в контроле и в условиях клиностатирования

Вариант опыта	Содержание жирных кислот, % от суммы						Жирные кислоты		Индекс ненасыщенности
	пальмитиновая, $C_{16:0}$	пальмитоленовая, $C_{16:1}$	стеариновая, $C_{18:0}$	олеиновая, $C_{18:1}$	линопевая, $C_{18:2}$	линопеновая, $C_{18:3}$	насыщенные	ненасыщенные	
7 сут, контроль	21.4±1.05	2.1±0.09	3.6±0.18	2.55±0.12	5.3±0.26	65.1±3.2	25.0±1.26	75.0±3.7	8.6±0.4
7 сут, клиност.	15.9±0.77	2.5±0.12	1.9±0.09	3.1±0.16	7.1±0.33	69.5±3.4	17.8±0.87	82.2±3.9	11.81±0.6
14 сут, контроль	18.2±0.73	2.4±0.12	3.1±0.15	2.6±0.12	5.9±0.28	68.8±3.5	21.3±1.03	78.7±3.8	18.2±0.73
14 сут, клиност.	23.4±1.15	2.2±0.11	5.1±0.26	2.1±0.10	4.8±0.24	63.4±3.1	27.5±1.35	71.5±3.5	23.4±1.15

Таблица 2. Скорость транспорта электронов на уровне отдельных фотосистем у хлоропластов гороха в контроле и в условиях клиностатирования (мкмоль $O_2 \cdot mg\text{ хл}^{-1}\text{ч}^{-1}$)

Фотосистема	Длительность эксперимента, сут	Скорость транспорта электронов, мкмоль $O_2 \cdot mg\text{ хл}^{-1}\text{ч}^{-1}$	
		контроль	клиностатирование (в т. ч. волях от контроля)
ФСII	7	220.6±10.4	217.3±10.8 (98.5 %)
	14	225.2±10.3	200.9± 9.7 (89.3 %)
ФСI	7	1254.4±60.1	1254.4±59.8 (96.7 %)
	14	1086.3±52.2	906.9±44.4 (83.5 %)

ФСII может быть обусловлено тем, что ФСI является основным источником образования АФК в электроннотранспортной цепи [5, 7]. АФК, особенно 1O_2 и OH^- являются очень сильными окислителями, от мест своего образования далеко не мигрируют, а, образовавшись, взаимодействуют с молекулами своего непосредственного окружения, которыми могут быть молекулы липидов, хлорофилла, белка, компоненты ФЭТЦ. Поэтому, образовавшись в ФСI, АФК будут окислять в первую очередь компоненты данной фотосистемы.

Образование АФК отмечено и в ФСII, и там главной мишенью является белок D1 реакционного центра [8, 11, 12], однако довольно быстрая репарация данного белка, очевидно, обуславливает менее значительное ингибиение ФСII.

Снижение транспорта электронов в полной цепи в условиях клиностатирования обусловлено, очевидно, его снижением на уровне отдельных ФС или может быть связано с нарушением структурной и функциональной целостности ФЭТЦ в условиях усиления свободнорадикального окисления липидов мембран тилакоидов.

Таким образом, в результате проведенных исследований можно сделать следующие выво-

ды. Клиностатирование приводит к увеличению образования АФК (супероксидных и гидроксильных радикалов, пероксида водорода) и активации ПОЛ в листьях и хлоропластах гороха, при этом более значительно при 14-суточном воздействии. Изменяется соотношение между отдельными АФК: в контроле преобладало образование радикалов супероксида с относительно невысокой реакционной способностью. В условиях клиностатирования доля данных радикалов уменьшалась с одновременным увеличением процента других АФК. Активация свободнорадикального окисления в условиях клиностатирования сопровождалась изменением жирнокислотного состава липидов хлоропластов гороха: адаптивное увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот при 7-суточном воздействии и снижение — при 14-суточном, что может быть следствием окисления жирных кислот на фоне дальнейшей интенсификации ПОЛ. В условиях клиностатирования отмечено снижение скорости транспорта электронов на уровне отдельных фотосистем и в полной цепи, что может быть связано с усилением образования АФК и уровня ПОЛ у хлоропластов в данных условиях. Полученные результаты подтверждают наше предположение, что активация ПОЛ в условиях изме-

ненной силы тяжести может быть важным механизмом перестроек в клетках и тканях растений, в частности быть причиной изменений липидного и жирнокислотного состава липидов мембран, их вязкости, активности мембраносвязанных ферментов, функционирования хлоропластов и определенным образом задействованным в ускорение онтогенеза.

1. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки: Пер. с англ. — М.: Мир, 1994.— Т. 1.—415 с.
2. Мерзляк М. Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники. Сер. физиология растений.— 1989.—6.—167 с.
3. Мерзляк М. Н., Погосян С. И. Фотодеструкция пигментов и липидов в изолированных хлоропластах // Биол. науки.—1986.—№ 3.—С. 8—20.
4. Чиркова Т. В., Новицкая Л. О., Блохина О. Б. Пере-кисное окисление липидов и активность антиоксидантных систем при аноксии у растений с разной устойчи-востью к недостатку кислорода // Физиол. растений.— 1998.—45, № 1.—С. 65—73.
5. Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen's and dissipation of excess photons // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.—1999.—50.— P. 601—639.
6. Blokhina O. B., Fagerstedt K. V., Chirkova T. V. Relation-ships between lipid peroxidation and anoxia tolerance in a range of species during post-anoxic reaeration // Physiol. Plantarum.—1999.—105, N 4.—P. 625—632.
7. Jiao S., Emmanuel H., Guikema J. A. High light stress inducing photoinhibition and protein degradation of photo-system I in *Brassica rapa* // Plant Sci.—2004.—167, N 4.—P. 733—741.
8. Henmi T., Miyao M., Yamamoto Y. Release and reactive-oxygen-mediated damage of the oxygen-evolving complex subunits of PSII during photoinhibition // Plant Cell Physiol.—2004.—45, N 2.—P. 243—250.
9. Kordyum E. L. Biology of plant cell in microgravity and under clinostating // Intern. Rev. Cytology.—1997.— 171.—P. 1—77.
10. Liu X., Huang B. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass // Crop Science.—2000.—40.—P. 503—510.
11. Navari-Izzo F., Pinzino C., Quartacci M. F., Sgherri C. L. Superoxide and hydroxyl radical generation and super-oxide dismutase in PSII membrane fragments from wheat // Free Radical Res.—1999.—31.—P. 3—9.
12. Yamamoto Y. Quality control of photosystem II // Plant and Cell Physiology.—2001.—42, N 2.—P. 121—128.

ACTIVATION OF LIPID PEROXIDATION AS A MECHANISM OF PLANT CELL REARRANGEMENTS UNDER MICROGRAVITY

V. V. Baranenko

Activation of the lipid peroxidation (LP) is an universal process perturbing cell membranes under different unfavourable conditions. It is suggested that the LP can be one of the important mechanisms of plant cell rearrangements under altered gravity as well. The purpose of this investigation is to study the LP intensity in pea leaves and chloroplasts under 7- and 14-day clinorotation. The intensification of the LP under both terms of clinorotation, particularly under more prolonged, is detected. The adaptive increase in the unsaturated fatty acid content under 7-day clinorotation and their minor decrease under 14-day clinorotation are revealed. The lowering of electron transport rate in both photosystems, particularly in PSI, is established. Our results confirm that the LP may be one of the mechanisms of plant cell rearrangements under microgravity.

Т. А. Борисова, Л. А. Касаткина

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України, Київ
e-mail: tborisov@biochem.kiev.ua

Тромбоциты как потенциальный периферический маркер для анализа функционирования высокоаффинных Na^+ -зависимых транспортеров глутамата в нервных окончаниях головного мозга

Надійшла до редакції 26.10.06

Показано, що в умовах модельованої гравітації змінюється активність високоафінних Na^+ -залежних глутаматних транспортерів плазматичної мембрани нервових закінчень. Проведено порівняльний аналіз транспорту L-[^{14}C]глутамату в тромбоцитах крові та ізольованих нервових закінченнях головного мозку. Визначено кінетичні характеристики транспортерів, досліджено вплив позаклітинного $[\text{Na}^+]$ і конкурентного інгібітора DL-трео-бета-гідрокси-аспартату на процес накопичення L-[^{14}C]глутамату тромбоцитами і нервовими закінченнями. Показано, що значення V_{\max} процесу накопичення значно менші у препараті тромбоцитів ніж у нервових закінченнях. Очевидно, це пов'язано з тим, що плазматична мембрана синаптосом містить більшу кількість транспортерів глутамату, ніж мембрана тромбоцитів. У цілому процес накопичення глутамату тромбоцитами і синаптосомами демонстрував значну подібність, і тромбоцити можна використовувати як потенційну периферичну модель транспорту глутамату в ЦНС.

Тромбоциты — форменные элементы крови, которые чрезвычайно важны для процесса ее свертывания. Они способны к агрегации (слипанию) и благодаря адсорбции удерживают на своей поверхности факторы свертывания крови. Эти свойства обусловливают активное участие тромбоцитов в свертывании крови. Тромбоциты представляют собой плоские безъядерные фрагменты клеток неправильной формы длиной 1—4 мкм и толщиной 0.5—0.75 мкм. Они образуются в красном костном мозге в результате фрагментации мегакариоцитов. Мегакариоцит — результат дифференцировки стволовой клетки крови в красном костном мозге. При действии гормона тромбопоэтина мегакариоцит отщепляет до 1000 фрагментов цитоплазмы-тром-

боцитов. Отсутствие у тромбоцитов клеточного ядра не дает возможности синтезировать ДНК и ограничивает их способность к синтезу белков *de novo*. Тромбоциты, как «безъядерные клетки», не являются клетками в классическом смысле [6].

Активация тромбоцитов АДФ, тромбином или в результате адгезии приводит к изменению их формы. В неактивированном состоянии тромбоциты имеют типичную дисковидную форму. На поверхности активированного тромбоцита выпячиваются многочисленные псевдоподии, способные прикрепляться к различным поверхностям. Тромбоцит распластывается и может даже перемещаться на небольшие расстояния. Гранулы, содержащиеся в центральной части цитоплазмы,

при активации тромбоцита сливаются с наружной мембраной и секретируют свое содержимое в кровь или тканевую жидкость. При этом активные вещества, вышедшие из гранул, действуют на белки крови, стимулируя дальнейшее тромбообразование, после чего тромбоцит погибает [6].

В центральной нервной системе (ЦНС) млекопитающих L-глутаминовая кислота способна действовать в качестве как основного возбуждающего нейромедиатора, так и потенциального нейротоксина. Известно, что содержание этой аминокислоты вне клетки строго контролируется быстрым удалением ее из синаптической щели. Поглощение глутамата из синаптической щели осуществляется высокоаффинными натрий-зависимыми транспортерами глутамата, которые локализованы в плазматической мембране пресинаптических нервных окончаний и используют электрохимический градиент $N\text{a}^+/K^+$ как движущую силу. По-видимому, транспортеры выполняют сложные функции модуляции нейротрансмиссии.

Известно, что при нарушениях регуляции концентрации глутамата в синаптической щели возникает хроническое возбуждение нейрона. Глутаматергическая сверхстимуляция может разрушать нейроны. Причиной глутаматной нейротоксичности является связывание глутамата с его рецепторами, результатом чего является значительное, массированное увеличение концентрации цитоплазматического кальция. Нарушения, возникающие в процессе как поглощения, так и освобождения глутамата, могут быть вовлечены в патогенез нейродегенеративных болезней, таких как болезнь Паркинсона и болезнь Алзгеймера, шизофрения, эпилепсия и др. При мозговых травмах и ишемии наблюдаются нарушения трансмиссии глутамата [5, 7].

Одной из причин нарушений, происходящих в центральной нервной системе животных в условиях моделированной гравитации, считается изменение функционирования глутаматных транспортеров. На изолированных нервных окончаниях (синаптосомах) головного мозга крыс показано, что в условиях моделированной гравитации изменяется активность процесса транспорта глутамата [1—3].

Многие нарушения в ЦНС характеризуются запоздалым появлением симптомов болезни. Ди-

агностика в этой области базируется в основном на клинических симптомах, так как невозможно проанализировать ткань мозга во время жизни пациента. В связи с этим поиск периферического маркера для анализа состояния глутаматных транспортеров мозга является актуальной задачей современной биохимии. Эта проблема остается нерешенной в течение длительного времени. Многие клетки и ткани обладают способностью к накоплению глутамата. Высокоаффинное натрий-зависимое накопление было зафиксировано в эритроцитах, тромбоцитах, в мышечной ткани, простате, печени, почках, плаценте, костной ткани, легких [5]. Несомненный интерес представляет изучение транспорта глутамата в клетках крови в связи с возможностью провести полную и своевременную диагностику у пациента.

В настоящее время тромбоциты интенсивно изучаются как модель синаптического аппарата, так как они обладают способностью накапливать и освобождать такие нейромедиаторы как серотонин и дофамин, экспрессировать серотониновые и глутаматные рецепторы. Тромбоциты были предложены как модель ЦНС для изучения изменений белка предшественника амилоида. Показано, что тромбоциты крови способны аккумулировать глутамат [9]. Недавно обнаружено, что тромбоциты содержат высокоаффинные натрий зависимые транспортеры глутамата, сходные с транспортерами, локализованными в плазматической мембране нейронов и глиальных клеток мозга. Эту тему развивает настоящее исследование, в котором изучается в сравнении функционирование глутаматных транспортеров в тромбоцитах крови и изолированных нервных окончаниях мозга. Исследование накопления глутамата тромбоцитами также представляет несомненный интерес с точки зрения выяснения роли цитозольного пула глутамата, который появляется в результате работы транспортеров по переносу глутамата из внеклеточного во внутриклеточное пространство. Анализ процесса накопления глутамата тромбоцитами, как моделью транспорта глутамата в мозгу, является чрезвычайно важной и актуальной задачей современной биохимии с перспективами дальнейших разработок в области космической биологии, биотехнологии и клинического применения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение синаптосом. В опыте использовали половозрелых самцов крыс Wistar, весом 100–120 г. Синаптосомы из больших полушарий головного мозга крыс выделяли дифференциальным центрифугированием и центрифугированием в градиенте плотности фиколла-400, применяя метод Котмана [4] с небольшими модификациями: раствор сахарозы для приготовления градиента фиколла содержал 5 mM Нерес-NaOH и 0.2 mM ЭДТА, pH 7.4. Синаптосомы, полученные при фракционировании в градиенте фиколла, разводили 10 объемами 0.32 M сахарозы, 5 mM Нерес-NaOH, pH 7.4 и центрифугировали при 20000g в течение 20 мин. Осадок ресуспензировали на льду в стандартном солевом растворе следующего состава: 126 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 1.0 mM NaH₂PO₄, 20 mM Нерес, pH 7.4, 10 mM d-глюкоза. Полученную супензию синаптосом (концентрация белка 4 мг/мл) использовали в экспериментах в течение 2–4 ч после получения. Ca²⁺-содержащая среда состояла из стандартного солевого раствора и 2 mM CaCl₂. Бескальциевая среда не содержала кальция, в нее добавляли 1 mM ЭГТА. Все процедуры проводили при 4 °C. Концентрацию белка определяли, как описано в работе [8].

Накопление L-глутамата синаптосомами. При определении активного накопления L-глутамата супензию синаптосом (из расчета 250 мкл супензии на каждое измерение, концентрация белка 250 мкг/мл) преинкубировали 10 мин при 37 °C в стандартном Ca²⁺-содержащем буфере. Затем добавляли смесь немеченого L-глутамата и меченого радиоактивной меткой L-[¹⁴C]глутамата (251 мКи/ммоль). Аликвоты супензии синаптосом (250 мкл, 63 мкг белка) отбирали через различные промежутки времени (15, 45 с) и фильтровали на фильтрах Whatman GF/C (Англия). Фильтры быстро промывали охлажденным солевым раствором, помещали на 1 час во флаконы со 100 мкл 10 % SDS и измеряли радиоактивность в сцинтилляционной жидкости OCS (объем пробы 1.5 мл) на счетчике радиоактивности Tracor Analytic DELTA 300. Количество поглощенного глутамата определяли, используя данные по активности меченого препарата. Неспецифическое связывание глутамата измеряли

путем инкубирования с синаптосомами L-[¹⁴C]глутамата при 4 °C.

Получение тромбоцитов. Кровь из ушной вены кролика (примерно 20 мл) собирали в пластиковые пробирки, содержащие ЭДТА в качестве антикоагуланта. Далее проводили выделение как описано в работе [9] с небольшими модификациями.

Накопление L-глутамата тромбоцитами. При изучении активного накопления L-глутамата тромбоциты преинкубировали 15 мин при 37 °C в стандартном бескальциевом буфере. Затем добавляли смесь немеченого L-глутамата и меченого радиоактивной меткой L-[¹⁴C]глутамата (251 мКи/ммоль). Аликвоты супензии тромбоцитов отбирали через различные промежутки времени от 0 до 50 мин и быстро осаждали в микрокентрифуге (20 с при 10000 g). Аликвоты надосадка (90 мкл) смешивали со сцинтилляционной жидкостью ACS (1.5 мл) и определяли радиоактивность с помощью счетчика радиоактивности Tracor Analytic DELTA 300. Полученный осадок промывали дважды стандартным солевым буфером. Радиоактивность осадка определяли аналогично. Количество поглощенного глутамата определяли, используя данные по активности меченого препарата. Неспецифическое связывание глутамата измеряли сразу после добавления L-[¹⁴C]глутамата.

В экспериментах были использованы фиколл-400 (Serva), Нерес (Sigma), ЭДТА (Calbiochem), d-глюкоза (Sigma), L-глутамат (Sigma), L-[¹⁴C]глутамат (Amersham), SDS (Fluka), NaCl, KCl, MgCl₂, NaH₂PO₄, CaCl₂ (о.с.ч. Реахим), сцинтилляционная жидкость ASC и OSC (Amersham).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

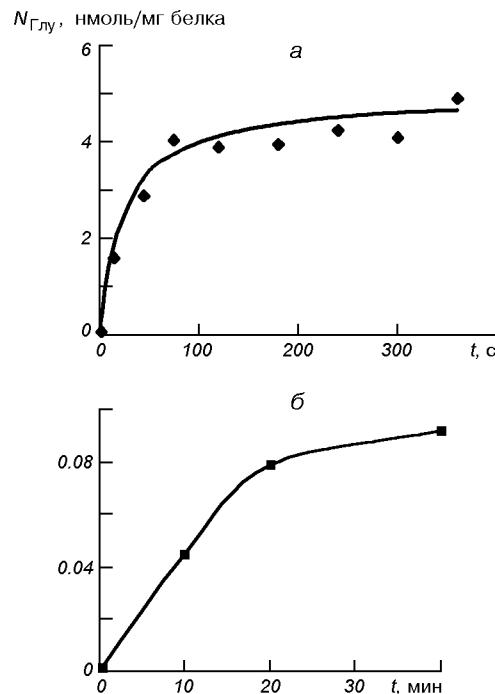
Недавно нами была разработана модельная система по изучению влияния искусственной гравитации на процесс синаптической передачи. Исследования, проведенные на изолированных нервных окончаниях (синаптосомах) мозга крыс показали, что искусственная гравитация существенно влияет на активность глутаматных транспортеров [1–3]. В связи с полученными экспериментальными данными поиск и разработка потенциального периферического маркера

для анализа активности глутаматных транспортеров в мозге является чрезвычайно актуальной задачей в области современной биохимии и представляет несомненный интерес с точки зрения космической биологии, медицины и биотехнологии.

Целью настоящего исследования было провести сравнительный анализ процесса высокоаффинного натрий-зависимого транспорта глутамата в изолированных нервных окончаниях головного мозга и тромбоцитах крови. Исследования были проведены на фракции синаптосом (отделенные от аксонов нервные окончания) головного мозга крыс и препарате тромбоцитов, полученных из крови кролика. Синаптосомы обладают всеми характеристиками интактного нервного окончания: мембранным потенциалом, способностью к активному накоплению нейромедиаторов и освобождению нейромедиаторов при деполяризации мембраны. Для исследования процесса высокоаффинного натрий- зависимого накопления глутамата синаптосомы и тромбоциты инкубировали с L-[¹⁴C]глутаматом / L-глутаматом. Количество $N_{\text{глу}}$ поглощенного глутамата определяли, используя данные по активности (251 мКи/ммоль) меченого препарата.

На рисунке показано количество $N_{\text{глу}}$ поглощенного L-[¹⁴C]глутамата препаратами синаптосом (а) и тромбоцитов (б). Видно, что зависимость количества поглощенного глутамата от времени инкубации существенно отличалась в обоих исследованных препаратах. Для синаптосом график зависимости имел прямолинейный участок во временном интервале до 45 с, а к 3 мин выходит на плато. В то же время для тромбоцитов линейная зависимость наблюдалась во временном интервале до 20 мин. Необходимо отметить, что количество поглощенного L-[¹⁴C]глутамата тромбоцитами за 20 мин инкубации значительно ниже, чем синаптосомами за 30 с.

Для определения кинетических характеристик (K_m и V_{\max}) поглощения глутамата синаптосомы и тромбоциты инкубировали с L-[¹⁴C]глутаматом / L-глутаматом в различных концентрациях. Был выбран диапазон концентраций L-глутамата от 5 до 100 мкмоль. Данные, полученные при инкубации синаптосом с возрастающими концентрациями L-[¹⁴C]глутамата/L-глутамата, позволили установить гиперболическую зависи-



Зависимость накопления L-[¹⁴C]глутамата (10 мкМ) синаптосомами (а) и тромбоцитами (б) от времени инкубации

мость начальной скорости поглощения от концентрации глутамата. Определение величины кажущейся K_m по данным измерения начальной скорости процесса накопления при различных концентрациях глутамата проводили методом двойных обратных величин Лайнувера — Бэрка. K_m для синаптосом составила 10.7 ± 2.5 мкМ. Максимальная скорость процесса накопления (V_{\max}) для синаптосом составила 12.5 ± 3.2 нмоль/мин/мг белка. Тем же методом были определены кинетические характеристики процесса накопления L-[¹⁴C]глутамата тромбоцитами. Величина K_m составила 36 ± 8 мкМ, а V_{\max} — 5.2 ± 1.3 пмоль/мин/мг белка. Большая разница в значении V_{\max} связана, по-видимому, с гораздо меньшим количеством глутаматных транспортеров, экспрессированных на мемbrane тромбоцитов по сравнению с плазматической мембраной нервных окончаний.

Движущей силой процесса накопления глутамата высокоаффинными транспортерами плазматической мембраны является Na^+/K^+ электрорехимический градиент плазматической мем-

раны. Предполагают, что натрий необходим для связывания глутамата с транспортером, а калий — для процесса переноса. В целом процесс является электрогенным. Зависимость накопления от внеклеточного Na^+ является одной из основных характеристик высокоаффинных транспортеров плазматической мембраны. Снижение концентрации внеклеточного натрия вызывает уменьшение накопления L-[^{14}C]глутамата и термодинамически способствует реверсному функционированию транспортеров. Был проведен сравнительный анализ процесса накопления L-[^{14}C]глутамата синаптосомами и тромбоцитами в условиях низкого содержания натрия в инкубационной среде. Для замены внеклеточного натрия был использован одновалентный органический катион N-метил-D-глюкамин (NMDG). Уменьшение концентрации Na^+ в среде инкубации в два раза с 126 мМ до 63 мМ приводило к снижению накопления L-[^{14}C]глутамата (10 мКМ) нервными окончаниями на $42\pm 5\%$ и тромбоцитами на $45\pm 5\%$. Дальнейшее снижение концентрации внеклеточного Na^+ до 21 мМ уменьшало накопление на $75\pm 8\%$ и $73\pm 8\%$ в синаптосомах и тромбоцитах соответственно. При расчетах накопление в стандартном растворе инкубации, где содержание Na^+ составляло 126 мМ, принимали за 100 %. Экспериментальные данные свидетельствуют, что процесс накопления L-[^{14}C]глутамата является в одинаковой степени натрий-зависимым для обоих исследованных препаратов.

Ингибиторы модулируют процесс транспорта глутамата и, следовательно, чрезвычайно важны для детального изучения фармакологической специфичности, активности и функциональной роли глутаматных транспортеров. Постоянно идет синтез новых аналогов глутамата, их изучение и поиск среди них потенциальных фармакологических агентов, способных модулировать процесс синаптической передачи. Однако, несмотря на значительные усилия исследователей, для клинического применения до сих пор не найдено вещество, способное изменять работу глутаматных транспортеров. DL-трео-бета-гидроксиаспартат (DL-THA) является эффективным транспортируемым конкурентным ингибитором транспортеров глутамата. Был проведен сравнительный анализ влияния этого субстратного ингибитора на процесс накопления L-

[^{14}C]глутамата нервными окончаниями и тромбоцитами. Показано, что наличие 10 мКМ DL-THA в среде инкубации снижало накопление L-[^{14}C]глутамата синаптосомами на $73\pm 5\%$, 100 мКМ DL-THA — на $85\pm 5\%$ (концентрация глутамата в среде составляла 10 мКМ). Влияние ингибитора на накопление L-[^{14}C]глутамата тромбоцитами существенно не отличалось от экспериментальных данных, полученных на нервных окончаниях. 10 мКМ DL-THA ингибировал накопление в тромбоцитах на $60\pm 5\%$, 100 мКМ DL-THA-на $90\pm 5\%$ (концентрация глутамата в среде инкубации составляла 10 мКМ).

В нервных окончаниях глутамат из цитозольного пула, который является результатом функционирования транспортеров по переносу глутамата из внеклеточного во внутриклеточное пространство, аккумулируется в синаптических везикулах, которые в дальнейшем, при стимуляции, освобождают свое содержимое в синаптическую щель при слиянии с плазматической мембраной путем экзоцитоза. Тромбоциты также содержат гранулы с активными веществами, стимулирующими тромбообразование, одним из механизмов секреции которых является экзоцитоз. Таким образом, цитозольный глутамат в тромбоцитах, в отличие от синаптосом, не подлежит дальнейшей аккумуляции и хранению в специализированных везикулах. Этим, по-видимому, определяется гораздо меньшая активность транспортного процесса глутамата в тромбоцитах по сравнению с нервными окончаниями.

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что нейромедиатор в нервном окончании распределен между двумя пулами — везикулярным и цитоплазматическим. Как показано недавними исследованиями в нервных окончаниях значительная часть освобождаемого глутамата имеет невезикулярное происхождение, т. е. происходит из цитозольного пула [5, 7]. При этом освобождение нейромедиатора является Ca^{2+} -независимым процессом и происходит в результате функционирования мембранных транспортеров глутамата в реверсном режиме. Термодинамически реверсному функционированию транспортеров способствует низкое содержание АТФ внутри клетки, увеличение концентрации внеклеточного калия и уменьшение внеклеточного натрия. Результатом деполяризации плазматиче-

ской мембранные изолированных нервных окончаний является освобождение нейромедиаторов. Наличие или отсутствие Ca^{2+} во внеклеточной среде при деполяризации плазматической мембранные является определяющим условием того, из какого пула (везикулярного или цитоплазматического) происходит освобождение нейромедиаторов. При наличии Ca^{2+} активируется процесс экзоцитоза, слияния синаптических везикул с плазматической мембранный, в отсутствии Ca^{2+} процесс освобождения нейромедиаторов является Na^+ - зависимым и происходит посредством реверсного функционирования транспортеров нейромедиаторов, локализованных в плазматической мемbrane. Роль транспорта глутамата во внутреклеточное пространство тромбоцитов и накопленного в цитозоле глутамата в настоящий момент четко не определена.

В целом процесс накопления глутамата тромбоцитами и синаптосомами демонстрирует значительное сходство, о чем свидетельствуют приведенные выше экспериментальные данные. Аффинность транспортеров к субстрату близка для обоих препаратов. Незначительная разница может быть объяснена различным соотношением типов транспортеров, экспрессированных на мембране тромбоцитов и нервных окончаний. (На настоящий момент клонировано 5 типов высокоаффинных транспортеров глутамата с разной тканевой специфичностью и несколько отличающимися между собой кинетическими характеристиками, а именно значением кажущейся K_m). Продемонстрировано значительное различие максимальных скоростей транспортного процесса для нервных окончаний и тромбоцитов. Это различие связано, по-видимому, с тем, что плазматическая мембрана синаптосом содержит гораздо большее количество транспортеров глутамата по сравнению с мембраной тромбоцитов. Влияние ингибитора DL-THA на накопление $\text{L-[}^{14}\text{C}]\text{глутамата}$ тромбоцитами существенно не отличается от данных, полученных на нервных окончаниях.

Таким образом, тромбоциты можно рассматривать как потенциальный периферический маркер для анализа функционирования высокоаффинных глутаматных транспортеров в мозге. Несомненно, эта актуальная и важная тема требует проведения дальнейших исследований. Одним из направлений работы может быть при-

менение искусственной гравитации как модельной системы для изучения корреляции изменений кинетических характеристик глутаматных транспортеров мозга с возможными изменениями характеристик транспортного процесса глутамата в тромбоцитах.

- Borisova T. A., Himmelreich N. H. Centrifuge-Induced Hypergravity: [^3H]GABA and L-[^{14}C]glutamate Uptake, Exocytosis and Efflux Mediated by High-Affinity, Sodium-Dependent Transporters // Adv. Space Res.—2005.—36.—P. 1340—1345.
- Borisova T. et al., Comparison of DL-threo- β -benzyloxy-aspartate effects on the glutamate release from synaptosomes before and after exposure of rats to artificial gravity // J. Gravit. Physiol.—2005.—12.—P. 23—24.
- Borisova T. A., Krisanova N. V., Himmelreich N. H. Exposure of animals to artificial gravity conditions leads to the alteration of the glutamate release from rat cerebral hemispheres nerve terminals // Adv. Space Res.—2004.—33.—P. 1362—1367.
- Cotman C. W. Isolation of synaptosomal and synaptic plasma membrane fractions // Meth. Enzymol.—1974.—31.—P. 445—452.
- Danbolt N. C. Glutamate uptake // Progr. Neurobiol.—2001.—65.—P. 1—105.
- Gawaz M. Blood platelets. — Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag Book, 2001.—300 p.
- Gegelashvili G., Schousboe A. Cellular distribution and kinetic properties of affinity glutamate transporters // Brain Res. Bull.—1998.—45, N 3.—P. 233—238.
- Larson E., Howlett B., Jagendorf A. Artificial reductant enhancement of the Lowry method for protein determination // Analytical Biochemistry.—1986.—155.—P. 243—248.
- Mangano R., Schwarcz R. The human platelets as a model for the glutamatergic neuron: platelet uptake of L-glutamate // J. Neurochemistry.—1981.—36 (3).—P. 1067—1076.

PLATELETS AS POTENTIAL PERIPHERAL MARKERS TO STUDY FUNCTIONING OF THE HIGH-AFFINITY SODIUM-DEPENDENT GLUTAMATE TRANSPORTERS IN THE NERVE TERMINALS OF THE BRAIN

T. A. Borisova, L. A. Kasatkina

Activity of the high-affinity sodium-dependent glutamate transporters in the brain nerve terminals is demonstrated to alter under artificial gravity conditions. A comparison analysis is made for L-[^{14}C]glutamate transport in platelets and isolated nerve terminals. The kinetic characteristics of the transporters, $[\text{Na}^+]$ -dependence and influence of the transporter inhibitor DL-threo- β -benzyloxyaspartate on the L-[^{14}C]glutamate uptake process are determined. It is shown that glutamate uptake process is very similar for platelets and nerve terminals. Thus it is reasonable to use platelets as a potential peripheral model for glutamate transport.

Л. М. Носач, О. Ю. Повниця, В. Л. Жовновата

Інститут мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної академії наук України, Київ

Аденовіруси як модель у дослідженнях впливу факторів космічного польоту

Надійшла до редакції 26.10.06

Умови модельованої мікрогравітації незалежно від множинності інфікування суттєво не впливали на репродукцію адено-вірусу в клітинах, які піддавали клиностатуванню протягом 48 год одразу після адсорбції вірусу. Інкубування інфікованих клітин до клиностатування в стаціонарних умовах при 4 °C протягом 3 діб («передстартові» умови) не змінювало кількості інфікованих клітин відносно контролю, проте були виявлені деякі зміни морфології клітин, як округлення і агрегація. Аденовіруси, які знаходяться в рідині, не втрачають інфекційності при клиностатуванні при 4 та 20—22 °C протягом 90 і 60 днів відповідно. Розроблена модель для дослідження впливу факторів космічного польоту на взаємовідносини геномів адено-вірусу і вірусу Епштейна—Барр при спільному інфікуванні лімфобластоїдних клітин.

Віруси відіграють значну роль в інфекційній патології людини. Аденовіруси мають широкий спектр патогенності. Вони викликають захворювання у людини, різних тварин (великої рогатої худоби, овець, свиней, коней, собак, кролів, мавп, мишей) та птахів (курей, гусей, індиків, качок, фазанів). Більше 50 серотипів адено-вірусів людини пов'язані з інфекційними захворюваннями, які характеризуються різноманітними клінічними формами з ушкодженням очей, респіраторного, гастроентерального і уrogenного тракту та тяжкістю перебігу. Аденовіруси часто викликають спалахи гострої респіраторної вірусної інфекції в дитячих колективах та серед призовників. Вони здатні також персистувати в організмі тривалий час в латентному стані і реактивуватись під впливом екзо- чи ендогенних факторів [1]. Такими факторами можуть бути фізичні фактори, фізіологічні та психологічні стреси, які виникають у космонавтів під час космічних польотів і викликають ослаблення імунної системи, пригнічують продукцію інтерферону, внаслідок чого може активуватись латентний вірус і спричинити розвиток інфекційного захворювання [9, 13, 21, 22, 23, 28]. Ризик розвитку інфекційних захворювань у космонавтів зростатиме у зв'язку з довготрива-

лими космічними польотами (на Місяць чи Марс) [19, 26]. Слід відзначити, що у пацієнтів з пригніченим імунним статусом може розвиватись диссемінована форма адено-вірусної інфекції з ураженням різних внутрішніх органів, яка часто закінчується летально. Є дані про розвиток такої інфекції у дорослих і дітей, які приймали імунодепресанти після пересадки кісткового мозку, нирок та у онкохворих з пригніченим імунним статусом [7, 11, 12, 27].

В організмі людини, крім адено-вірусів, можуть перsistувати і інші віруси, зокрема герпес-віруси. Є дані про реактивацію у астронавтів вірусу з родини герпес-вірусів [16—18, 20, 23—25] та посилення репродукції вірусів в умовах клиностатування [8, 14, 15]. Відносно адено-вірусів подібні дослідження не проводились. Немає відомостей і стосовно впливу факторів космічного польоту на взаємні стосунки різних латентних ДНК-геномних вірусів в разі їхньої можливої реактивації.

Метою наших досліджень було вивчення впливу умов модельованої мікрогравітації на репродукцію адено-вірусу людини. Для моделювання мікрогравітації в наземних умовах проводили горизонтальне клиностатування клітин при 37 °C зі швидкістю 4 об/хв. (апарат «Клін-1»,

Таблиця 1. Вплив модельованої мікрогравітації на кількість інфікованих аденовірусом клітин та титр синтезованого віrusу

№ досліду	Час дослідження, год	Доля інфікованих клітин, %		Титр синтезованого віrusу, ВУО/мл	
		дослід	контроль	дослід	контроль
1	48	73	58	не досліджувався	
2	24	52	39	$3 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$
2	48	59	72	$3 \cdot 10^7$	$2.3 \cdot 10^7$

НПО «Респиратор», Донецьк). Клітини Hela попередньо вирощували в стаціонарних умовах в терmostаті (37°C) протягом 24 год. Далі клітини інфікували аденовірусом за стандартною схемою, використовуючи різну множинність інфікування. Досліджувані клітини клиностатували при температурі 37°C , а контролем були інфіковані клітини, які продовжували інкубувати при температурі 37°C в горизонтальному стаціонарному положенні. Інтенсивність репродукції аденовіруса оцінювали за кількістю інфікованих клітин, які виявляли за наявністю в ядрах характерних ДНК-вмістних включень та за титром синтезованого віrusу [2].

В інфікованих аденовірусом клиностатованих клітинах, як і в неклиностатованих, через 24 та 48 год після інфікування виявляли внутрішньоядерні ДНК-вмістні включения, що характерно для репродукції аденовіруса в пермісивних лініях клітин [2]. За морфологією включения, які формувались в інфікованих клітинах при клиностатуванні, не відрізнялись від включень, які утворювались в інфікованих клітинах в стаціонарних умовах культивування. Результати досліджень впливу клиностатування на кількість інфікованих клітин та синтез інфекційного віrusу (табл. 1) свідчать про здатність аденовірусу репродукуватись у чутливих клітинах в умовах модельованої мікрогравітації.

Слід зазначити, якщо при клиностатуванні кількість інфікованих клітин в різних дослідах дещо відрізнялась від кількості інфікованих клітин інкубованих в стаціонарних умовах, то титри віrusу, синтезованого як в умовах клиностатування, так і в стаціонарних умовах, були практично однаковими і не відрізнялись від титру віrusу, використаного в дослідах, титр якого був $3.7 \cdot 10^7$ ВУО/мл.

З метою виявлення можливого стимульного впливу клиностатування на перебіг реплікаційного процесу аденовірусу нами були проведені дослідження при використанні меншої інфікуючої дози віrusу — меншої за 1 ВУО/кл.

Клиностатування клітин, інфікованих з множинністю 0.8 та 0.5 ВУО/кл, протягом 48 год суттєво не впливало на кількість інфікованих клітин (відповідно 35 і 19 % у досліді та 33 і 22 % у контролі).

Таким чином, короткотривале клиностатування (48 год) інфікованих аденовірусом клітин, які до інфікування вирощували протягом 24 год у стаціонарних умовах, фактично не впливало на інтенсивність репродукції аденовірусу при використанні різної множинності інфікування (вищої і нижчої за 1 ВУО/кл).

Важливою умовою для проведення космічних досліджень є завчасна підготовка біоконтеїнера до польоту. У зв'язку з цим ми дещо змінили умови проведення експерименту. Клітини вирощували при 37°C до утворення моношару протягом 1 доби, інфікували аденовірусом (5 ВУО/кл) та інкубували при 4°C протягом 3 діб, як передбачено технічним завданням підготовлення до польоту біологічних об'єктів. Потім частину флаконів переносили в терmostat та культивували при 37°C (в горизонтальному стаціонарному положенні (контроль), а іншу частину — піддавали клиностатуванню (дослід) також при 37°C . Клітини продовжували інкубувати протягом 48 год після початку клиностатування. В інфікованих аденовірусом клітинах, як контрольних, так і клиностатованих, через 48 год після початку клиностатування виявляли характерні внутрішньоядерні ДНК-вмістні віrusні включения (табл. 2).

Як видно з наведених даних, кількість інфікованих клітин, інкубованих в умовах клиностатування, дещо відрізняється від їхньої кількості в контролі, проте це не позначилось на титрах синтезованого аденовірусу.

Ми виявили деякі відмінності морфології клиностатованих клітин в разі інкубування їх у «передстартових умовах» при температурі 4°C . Дослідні клиностатовані клітини були дещо «ошаровані», округлені, цитоплазма збережена у вигляді вузької смужки навколо ядра. Ядра були дещо зменшеними, проте мали характерні ДНК-вмісні віrusні в основному пізні центро-

Таблиця 2. Вплив мікрогравітації на кількість інфікованих адено вірусом клітин та титр вірусу в разі передінкубації до клиностатування при 4 °C протягом 3 діб

№ досліду	Доля інфікованих клітин, %		Титр синтезованого вірусу, ВУО/мл	
	дослід	контроль	дослід	контроль
1	64	76	$1 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$
2	73	56	$0.8 \cdot 10^7$	$0.9 \cdot 10^7$

ядерні включення. В контрольних препаратах інфіковані клітини були полігональної форми, ядра поліморфні з різними типами внутрішньоядерних ДНК-вмісних вірусних включень.

Таким чином, умови модельованої мікрогравітації суттєво не впливають на репродукцію адено вірусу в пермісивній культурі перешеплюваної лінії клітин людини, навіть у випадку інкубації у «передстартових умовах» при 4 °C протягом 3 діб.

Нами в наземних стаціонарних умовах розпочаті дослідження з вивчення взаємовідносин двох ДНК-вмісних вірусів — адено вірусу людини і вірусу Епштейна — Барр (ВЕБ). Вибір вірусів обумовлений тим, що обидва віруси інфекційні і здатні до персистенції в організмі хазяїна, синтез вірусних ДНК і формування віріонів відбувається в ядрі інфікованої клітини, що може сприяти взаємному впливу на функціонування геномів.

Як свідчать результати наших досліджень, у лімфобластоїдній лінії клітин B95-8, яка трансформована ВЕБ і хронічно продукує його, у випадку суперінфекції адено вірусом синтезуються адено вірусні структурні білки і формуються інфекційні віріони [5]. Рівень цих показників в клітинах B95-8 був значно нижчий, ніж в інших лініях лімфобластоїдних клітин (Jurkat, Raji), не продукуючих ВЕБ, що можливо пов'язане з інтерференцією адено вірусу і ВЕБ. Методом ПЛР в клітинах B95-8 було виявлено і зниження функціонування геному ВЕБ, зокрема значне ослаблення сигналу ділянки Q геному ВЕБ з координатами 109093—109310 п.н. Разом з цим при гібридизації ДНК, виділених із неінфікованих і інфікованих адено вірусом клітин B95-8 і гідролізованих рестриктазою Hind III, із зондом, який мав послідовності гену раннього ядерного антигену EBNA-1 ВЕБ, виявлений

вплив репродукції адено вірусу на стан геному ВЕБ. Це виражалось у відсутності одного із фрагментів ДНК ВЕБ розміром 4.2 т.п.н. [3]. В клітинах B95-8, інфікованих адено вірусом, виявлені також структурні зміни клітинного геному [6].

Отримані дані свідчать, що в лімфобластоїдній лінії клітин B95-8, яка продукує ВЕБ, адено вірусний геном функціонує менш інтенсивно, ніж при моноінфекції пермісивних ліній клітин, проте впливає як на стан геному ВЕБ, так і на стан клітинного геному. Вважаємо доцільним використання створеної нами моделі «клітини B95-8 + адено вірус» для досліджень вірус-вірусних і віrus-клітинних взаємовідносин при дії факторів космічного польоту.

Слід зазначити, що адено віруси можуть бути використані як модель для досліджень впливу космічних факторів на віруси, які з виділеннями людини, тварин і птахів потрапляють в оточуюче середовище і піддаються тривалому впливу різних геофізичних факторів. На відміну від інших вірусів, адено віруси дуже стійкі і здатні тривалий час зберігатись в оточуючому середовищі. Їх виявляють протягом року в річковій та морській воді, вони стійкі до низьких температур, в ліофілізованому стані здатні зберігатись на пластику і металі до 49 діб [10]. За нашими даними зберігання адено вірусу в культуральному середовищі при температурі 4 та 22 °C протягом 2-3 місяців не знижувало інфекційний титр вірусу. Клиностатування адено вірусу за цих же умов також не впливало на його інфекційність [4].

Вважаємо, що у зв'язку з вираженою стійкістю адено віруси можуть бути використані та мають переваги з-поміж інших вірусів для досліджень патогенності, мінливості вірусів, підданих довготривалій дії факторів космічного польоту та для досліджень дії геокосмічних факторів на віруси, що перебувають у наземних умовах. Можливо, що внаслідок довготривалої дії різних факторів з'являються і нові серотипи адено вірусів. На сьогоднішній день існує 51 серотип адено вірусів людини. Довготривалі дослідження впливу різних факторів на різних представників родини *Adenoviridae* можуть сприяти з'ясуванню шляхів еволюції і мінливості вірусів, можливої участі в обміні генетичної інформації у біосфері.

1. Дяченко Н. С., Нас И., Беренчи Д. та інш. Аденовірус, клетка, організм. — Київ: Наук. думка, 1988.—232 с.
2. Носач Л. Н., Дяченко Н. С. Цитопатологія аденовірусної інфекції. — Київ: Наук. думка, 1982.—124 с.
3. Носач Л. Н., Дяченко Н. С., Повница О. Ю. и др. Изучение состояния вирусных геномов в условиях смешанной инфекции лимфобластоидных клеток аденовирусом и вирусом Эпштейна—Барр // Цитология и генетика.—1998.—32, № 4.—С. 82—88.
4. Носач Л. Н., Дяченко Н. С., Тарасишин Л. А. и др. Определение в наземных условиях температурного режима, длительности пребывания аденовируса человека на орбитальных станциях и влияния клиностатирования на некоторые его свойства // Космічна наука і технологія.—2003.—9, № 1.—С. 96—101.
5. Повница О. Ю., Дяченко Н. С., Черномаз А. А. и др. Особенности репродукции аденовируса человека типа 2 в культурах лимфобластоидных клеток В- и Т-фенотипа // Микробиол. журн.—1997.—59, № 1.—С. 12—20.
6. Смирнова И. А., Кишинская Е. Г., Носач Л. Н. и др. Структурные изменения генома лимфобластоидных клеток В- и Т-фенотипа приmono- или двойном инфицировании аденовирусом и вирусом Эпштейна — Барр // Экспериментальная онкология.—2001.—23, № 1.—С. 57—60.
7. Bordigoni P., Carret A-S., Venard V., et al. Treatment of adenovirus infections in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation // Clin Infect Dis.—2001.—32.—P. 1290—1297.
8. Fuse A., Sato T. Effect of microgravity changes on virus infection in mice // J. Gravit. Physiol.—2004.—11(2).—P. 65—66.
9. Ginsberg H. S. Immune states in long-term space flights // Life Sci. Space Res.—1971.—9.—P. 1—9.
10. Gordon Y. J., Gordon R. Y., Romanowski E., Araullo-Cruz T. P. Prolonged recovery of desiccated adenoviral serotypes 5, 8 and 19 from plastic and metal surfaces in vitro // Ophthalmology.—1993.—100, N 12.—P. 1835—1840.
11. Howard D. S., Phillips G. L., Reece D. E. Adenovirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients // Clin. Infect. Dis.—1999.—29.—P. 1494—1501.
12. La Rosa A. M., Champlin R. E., Mirza N., et al. Adenovirus infections in adult recipients of blood and marrow transplants // Clin Infect. Dis.—2001.—32.—P. 871—876.
13. Ling P. D., Lednicky J. A., Keitel W. A., et al. The dynamics of herpesvirus and polyomavirus reactivation and shedding in healthy adults: a 14-month longitudinal study // J. Infect. Dis.—2003.—187.—P. 1571—1580.
14. Long J. P., Pierson S., Hughes J. H. Rhinovirus replication in HeLa cells cultured under conditions of simulated microgravity // Aviat. Space Environ Med.—1998.—69.—P. 851—856.
15. Long J. P., Pierson S., Hughes J. H. Suppression of Epstein-Barr virus reactivation in lymphoid cells cultured in stimulated microgravity // In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.—1999.—35, N 1.—P. 49—54.
16. Mehta S. K., Cohrs R. J., Forghani B., et al. Stress-induced subclinical reactivation of varicella zoster virus in astronauts // J. Med. Virol.—2004.—72.—P. 174—179.
17. Mehta S. K., Stowe R. P., Fieveson A. H., et al. Reactivation and shedding of cytomegalovirus in astronauts during spaceflight // J. Infect Dis.—2000.—182 (6).—P. 1761—1764.
18. Payne D. A., Mehta S. K., Tyring S. K., et al. Incidence of Epstein-Barr virus in saliva during spaceflight // Aviat. Space Environ Med.—1999.—72.—P. 1211—1213.
19. Pierson D. L. Microbial contamination of spacecraft // Gravit Space Biol Bull.—2001.—14 (2).—P. 1—6.
20. Pierson D. L., Stowe R. P., Phillips T. M., et al. Epstein-Barr virus shedding by astronauts during space flight // Brain Behav Immun.—2005.—19 (3).—P. 235—242.
21. Sonnenfeld G., Gould C. L., Williams J., Mandel A. D. Inhibited interferon production after space flight // Acta Microbiol. Hung.—1988.—35 (4).—P. 411—416.
22. Sonnenfeld G., Shearer W. T. Immune function during space flight // Nutrition.—2002.—18(10).—P. 899—903.
23. Stowe R. P., Mehta S. K., Ferrando A. A., et al. Immune responses and latent herpesvirus reactivation in spaceflight // Aviat. Space Environ Med.—2001.—72.—P. 884—891.
24. Stowe R. P., Pierson D. L., Barrett A. D. Elevated stress hormone levels relate to Epstein-Barr virus reactivation in astronauts // Psychosom. Med.—2001.—63.—P. 891—895.
25. Stowe R. P., Pierson D. L., Feeback D. L., Barrett A. D. Stress-induced reactivation of Epstein-Barr virus in astronauts // Neuroimmunomodulation.—2000.—8 (2).—P. 51—58.
26. Stowe R. P., Sams C. F., Pierson D. L. Effect of mission duration on neuroimmune responses in astronauts // Aviat. Space Environ Med.—2003.—74 (12).—P. 1281—1284.
27. Wang W. H., Wang H. L. Fulminant adenovirus hepatitis following bone marrow transplantation. A case report and brief review of the literature // Arch. Pathol. Lab. Med.—2003.—127.—P. 246—248.
28. Zayzafoon M., Meyers V. E., McDonald J. M. Microgravity: the immune response and bone // Immunol Rev.—2005.—208.—P. 267—280.

ADENOVIRUSES AS A MODEL IN THE STUDY OF THE EFFECT OF SPACE FLIGHT FACTORS

L. M. Nosach, O. Yu. Povnitsa, V. L. Zhovnovata

Simulated microgravity conditions, independently of multiplicity of infection, does not influence the reproduction of adenovirus in cells which were clinorotated for 48 h after adsorption of virus. The incubation of infected cells before clinorotation under static conditions at a temperature of 4 °C for three days (the conditions for keeping of cells before the flight) does not change the number of infected cells relatively to control, but some changes of cell morphology are revealed, namely round off and aggregation of cells. The adenoviruses which were exposed in the medium keep infectivity under the conditions of clinorotation at 4 and 20—22 °C over prolonged periods (90 and 60 days, respectively). A model is elaborated for investigation of the influence of space flight factors on the interaction of the adenovirus and Epstein—Barr virus genomes at combined infection of lymphoblastoid cells.

НАШІ АВТОРИ

АРТЕМЕНКО Ольга Анатоліївна — молодший науковий співробітник Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України.

Напрям науки — клітинна біологія та анатомія.

БАРАНЕНКО Валентина Василівна — старший науковий співробітник Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, кандидат біологічних наук.

Напрям науки — цитологія, гістологія, клітинна біологія.

БОРИСОВА Тетяна Олександрівна — науковий співробітник відділу нейрохімії Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України, кандидат біологічних наук.

Напрям науки — космічна біологія, молекулярна біологія, біохімія, мембраниологія, нейрохімія.

ВОЛОХ Костянтин Пилипович — начальник відділу Національного космічного агентства України.

Напрям науки — автоматизована обробка вимірювальної інформації, математичне забезпечення інформаційно-вимірювальних систем, системи та комплекси навігаційного забезпечення.

ВОЛОШИН В'ячеслав Іванович — директор Державного підприємства «Дніпрокосмос», кандидат технічних наук, лауреат Держаної премії України в галузі науки і техніки.

Напрям науки — системи дистанційного зондування Землі та методики обробки космічної інформації; безпека життедіяльності і екологічний моніторинг.

ГОНТАРЕНКО Ірина Сергіївна — старший науковий співробітник інституту космічних досліджень Національної академії наук України та Національного космічного агентства України, кандидат технічних наук.

Напрям науки — математичне моделювання, методи прийняття рішень.

ЖОВНОВАТА Валентина Леонтіївна — провідний інженер відділу молекулярної біології вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної академії наук України.

Напрям науки — вірусологія

КАПУСТИН Євген Іванович — перший заступник директора Державного підприємства «Дніпрокосмос».

Напрям науки — дистанційне зондування Землі та систематизація космічної інформації.

КАСАТКІНА Л. А. — співробітник відділу нейрохімії Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України, кандидат біологічних наук.

Напрям науки — космічна біологія, молекулярна біологія, біохімія, мембраниологія, нейрохімія.

КИРИЛОВА Наталя Анатоліївна — головний програміст Державного підприємства «Дніпрокосмос».

Напрямок науки — інформаційні технології в космічних системах, програми управління роботою приладів космічних систем по дистанційному зондуванню Землі.

КИРИЛОВ Олексій Іванович — головний конструктор проекту Державного підприємства «Дніпрокосмос».

Напрям науки — програми керування корисним навантаженням космічних систем дистанційного зондування Землі.

КОЗЕКО Людмила Євгенівна — старший науковий співробітник відділу клітинної біології та анатомії Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, кандидат біологічних наук.

Напрям науки — фізіологія рослин.

КОЗЛОВА Анна Олександровна — аспірантка Наукового центру аерокосмічних досліджень Землі Інституту геологічних наук Національної академії наук України.

Напрям науки — дослідження біологічного різноманіття з використанням аерокосмічної інформації і геоінформаційних технологій.

КОРДЮМ Єлизавета Львівна — завідувач відділу клітинної біології та анатомії Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, член-кореспондент НАН України, професор, академік Міжнародної академії астронавтики.

Напрям науки — клітинна біологія, ембріологія рослин, космічна біологія.

КОРЧИНСЬКИЙ Володимир Михайлович — завідувач кафедри електронних засобів телекомунікацій, професор Дніпропетровського національного університету, доктор технічних наук.

Напрям науки — автоматизоване оброблення та розпізнавання зображень, цифрові системи телекомунікацій.

ЛЕВЕНКО Олександр Сергійович — провідний інженер Державного підприємства «Дніпрокосмос», член Спілки журналістів України.

Напрям науки — моніторинг природно-техногенних процесів аерокосмічними засобами, вітроенергетика, проектування і технології виробництва ракетної техніки.

МАХОНИН Євген Іванович — начальник управління Національного космічного агентства України, Лауреат державної премії України.

Напрям науки — ефективна експлуатація космічних засобів і систем, радіотехнічні комплекси.

МИХАЙЛИК І. В. — науковий співробітник Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Напрям науки — біологія.

НЕДУХА Олена Макарівна — провідний науковий співробітник Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, доктор біологічних наук, член-кореспондент Міжнародної академії астронавтики.

Напрям науки — клітинна біологія, екологія.

НОСАЧ Лідія Миколаївна — старший науковий співробітник відділу молекулярної біології вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, кандидат біологічних наук.

Напрям науки — вірусологія, цитологія.

ОСТАПЧЕНКО Людмила Іванівна — декан біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка, завідувач кафедри біохімії, доктор біологічних наук, професор. Заслужений діяч науки і техніки України.

Напрям науки — біохімія, радіобіологія, космічна біологія.

ПОВНИЦЯ Ольга Юріївна — науковий співробітник відділу молекулярної біології вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, кандидат біологічних наук.

Напрям науки — вірусологія, цитологія.

ПРОКОПОВА К. В. — науковий співробітник
Київського національного університету імені
Тараса Шевченка.

Напрям науки — біологія.

СМИРНОВ Сергій Анатолійович — учений секретар, старший науковий співробітник, виконувач обов'язків завідувача відділу Інституту космічних досліджень Національної академії наук України та Національного космічного агентства України, кандидат фізико-математичних наук.

Напрям науки — математичне моделювання, дистанційне зондування.

СТАНКЕВИЧ Сергій Арсенійович — провідний науковий співробітник Наукового центру аерокосмічних досліджень Землі Інституту геологічних наук Національної академії наук України, кандидат технічних наук, доцент.

Напрям науки — оцінка інформативності оптико-електронних систем ДЗЗ, цифрова обробка та інтерпретація матеріалів аерокосмічного моніторингу.

ТАЛАЛАЄВ Олександр Сергійович — молодший науковий співробітник Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України.

Напрям науки — клітинна біологія.

ТЕРЛЕЦЬКИЙ Роман Петрович — аспірант Інституту космічних досліджень Національної академії наук України та Національного космічного агентства України.

Напрям науки — математичне моделювання, методи прийняття рішень.

ШАПАР Аркадій Григорович — директор Інституту проблем природокористування і екології Національної академії наук України, член-кореспондент НАН України, доктор технічних наук, професор. Лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки, лауреат премії Академії наук ім. О. М. Динника, Заслужений діяч науки і техніки України, член Комітету з Державних премій України в галузі науки і техніки, член експертної комісії ВАК України.

Напрям науки — геохімія, відкриті гірничі роботи, раціональне природокористування, екологія, сталій розвиток.

ШЕВЧЕНКО Г. В. — співробітник Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України.

Напрям науки — клітинна біологія.

ШНЮКОВА Є. І. — старший науковий співробітник Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, кандидат біологічних наук.

Напрям науки — біохімія рослин.