

ЕКОЛОГІЯ

УДК 58.032.3

Ю. А. БОБРОВНИЦЬКИЙ

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна

РЕАКЦІЇ ПРОРОСТКІВ *ARABIDOPSIS THALIANA* L. НА ПОМІРНИЙ ВОДНИЙ ДЕФІЦИТ НА КЛІТИННОМУ ТА МОЛЕКУЛЯРНОМУ РІВНЯХ

Наведено дані досліджень реакції проростків арабідопсиса на помірний водний дефіцит на клітинному та молекулярному рівнях. Проростки вивчали за такими показниками: сира маса проростків, швидкість росту головного кореня, наявність та кількість розгалужених кореневих волосків, кількість клітин у стані поділу в апікальній меристемі головного кореня, довжина епідермальних клітин у зоні кореневих волосків, вміст проліну, експресія генів, чутливих до посухи. Дослідження показало, що помірний водний дефіцит рослини реагують зростанням експресії АБК-чутливих генів *RD29A* та *AtP5CS*, ключового фермента синтезу проліну, а також підвищенням вмісту проліну. Зміни викликали пригнічення приросту кореня та зниження маси рослин. Встановлено, що пригнічення приросту кореня відбувалося внаслідок зниження кількості клітин, що діляться, в апікальній меристемі.

Ключові слова: *Arabidopsis thaliana*, водний дефіцит, ріст кореня, розгалужені кореневі волоски, експресія генів

Як відомо, на ріст рослин впливають різноманітні несприятливі абіотичні фактори, в першу чергу такі, як посуха, високий рівень засолення ґрунту та низькі температури. Абіотичні стреси істотно обмежують розвиток рослин та формування врожаю [44, 33, 4, 27, 36]. Посуха є найбільш вагомим фактором втрати врожаю внаслідок інгібування процесу фотосинтезу та росту рослин [33]. Відомо, що вода - критичний зовнішній чинник, який визначає розвиток та поширення рослин [4].

Незважаючи на те, що в літературі широко представлені методи, які дозволяють імітувати умови природного водного стресу, відомо лише декілька спроб створити умови тривалого водного стресу для проростків *A. thaliana*, які вирощуються у стерильному агаризованому середовищі [40]. На наш погляд, у переважній більшості робіт створюються занадто жорсткі умови водного дефіциту, які полягають у простому висушуванні рослин арабідопсиса [36]. Вік рослин у цих експериментах складав 3 тижні, а висушування виїнятих з ростового субстрату рослин відбувалося на відкритому повітрі при розсіяному світлі і температурі 22°C. Внаслідок того, що більш-менш тривале перебування рослин з відкритою кореневою системою призводить до їх швидкого висихання та загибелі, тривалість досліду в цих роботах не перевищувала однієї доби [36]. З цієї причини, нами було запропоновано новий метод імітації природного водного дефіциту, при якому відбувається висушування агаризованого середовища в процесі росту рослин на ньому протягом 5 діб. Наш метод дає можливість спостерігати реакції кореневої системи на певних етапах росту проростків. Слід

відмітити також наявність лише незначної кількості робіт, де проводили вимірювання ростових показників *A. thaliana*, який вирощували в умовах водного дефіциту [45, 44].

Механізм реакції вищих рослин на водний стрес на молекулярному рівні аналізують шляхом вивчення на транскрипційному рівні експресії генів, що реагують на водний стрес [10]. На даний момент залишається не до кінця з'ясованим питання, які гени індуються водним дефіцитом в умовах, близьких до природних, оскільки в переважній більшості робіт з вивчення генної експресії імітуються умови гострого водного дефіциту. Ця проблема набуває актуальності у зв'язку із зростанням кількості трансгенних культурних рослин.

Тому метою цієї роботи було з'ясувати на клітинному та молекулярному рівнях вплив фактора зневоднення на проростки *Arabidopsis thaliana* L.

Матеріал і методи досліджень

У роботі використовували проростки *A. thaliana* екотипу Колумбія. Насіння висівали у повне середовище Мурасіге та Скуга (МС), збагачене сахарозою (4.5 %); вміст агару у середовищі складав 1 %. На 6 день після висіву проростки із повністю розкритими сім'ядолями пересаджували на розведене чотирикратно середовище МС і вирощували в стаціонарних умовах (температурі 22°C, 16-годинному світловому дні, та рівні освітлення 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) протягом 5 діб. Така тривалість досліду виявилася оптимальною для спостереження за розвитком кореневої системи рослин.

Вирощування проростків проводили у чашках Петрі (12x12 см), заповнених агаризованим середовищем об'ємом 80 мл. Для створення умов пролонгованого дефіциту вологи у субстраті чашки Петрі закривали замість стандартних пластикових кришок спеціальною целофановою плівкою, яка є проникною для водяної пари. Середовище заливали в чашку Петрі під кутом 0,72°, що створювало чіткий градієнт висихання у напрямку зверху вниз. У контролі чашки Петрі, як звичайно, закривали пластиковими кришками, що виключало висихання субстрату. Схема чашки з проростками показана на рис. 1.

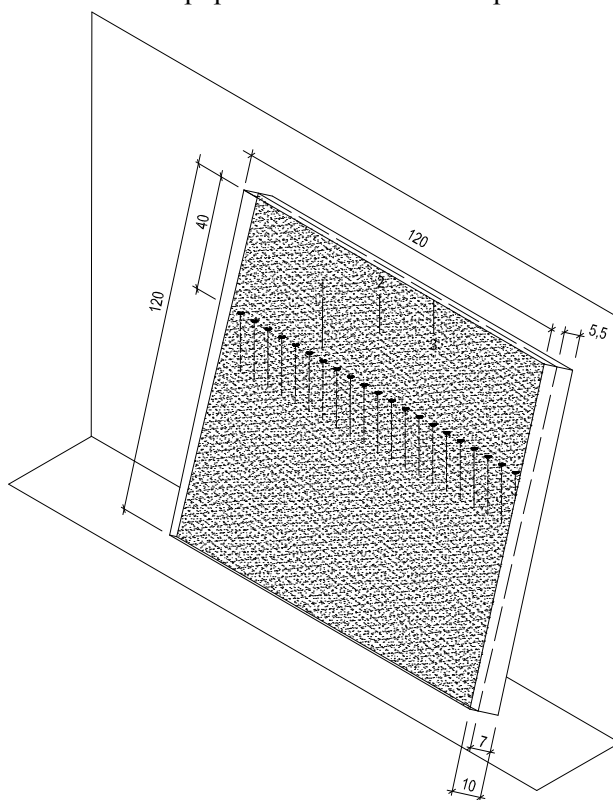


Рис. 1. Чашка Петрі, призначена для імітації водного стресу. 1- проростки *A. thaliana*; 2- агаризоване середовище; 3- чашка Петрі

Вміст вологи в субстраті визначали методом висушування зразків субстрату, відібраних на рівні 10 см від верху чашки Петрі протягом 2 діб у сушильній шафі при + 80°C. Для

розрахунку вмісту вологи зразки субстрату зважували перед висушуванням та після нього. Дослід був виконаний у 3 біологічних та 3 статистичних повторностях.

Визначення водного потенціалу (ВП) листків проводили рефрактометричним методом [2]. Дослід був виконаний у 6 біологічних та 3 статистичних повторностях.

Дослід з визначення добового приросту головного кореня був виконаний в 3 біологічних повторностях, у кожній повторності було виміряно довжину 15 корінців (1 чашка Петрі).

Дослідження мітотичної активності меристеми головного кореня проводили на інтактних проростках маркерної лінії *SusB1;1:CDB:GUS*. Забарвлені клітини меристеми спостерігали за допомогою мікроскопа Zeiss Stemi SV 6 при збільшенні 10x4,8 [7]. Дослід було проведено в 5 біологічних повторностях. Кожна повторність складала 4-6 рослин.

Вимірювання довжини епідермальних клітин проводили в зоні кореневих волосків на відстані 2 мм від кінчика. При цьому використовували мікроскоп Zeiss Axiovert 35, обладнаний мікрометричною насадкою [7]. Дослід було проведено в 2 біологічних повторностях. Кожна повторність складала 15 рослин.

Кількість розгалужених кореневих волосків на головному корені проростків підраховували в зоні кореневих волосків на відстані 2 мм від кінчика на п'ятий день досліду. Дослід було проведено в 3 біологічних повторностях. Кожна повторність складала 5-10 рослин.

Концентрацію проліну в проростках визначали за допомогою методу, що базується на нінгідриновій реакції [1]. Дослід було проведено в 5 біологічних повторностях. Кожна повторність складала 15 рослин.

Експресію стрес-індукованих генів визначали методом ПЛР в реальному часі, як описано в роботі [1]. Дослід було проведено в 3 біологічних повторностях. Кожна повторність складала 15 рослин.

Результати досліджень та їх обговорення

Водний потенціал субстрату та листків під впливом водного стресу

В якості маркерів водного дефіциту, що створювався у нашому досліді, було обрано два показники: 1) водний потенціал (ВП) субстрату, який характеризує стан ростового субстрату; 2) ВП листків, який характеризує стан рослин.

ВП субстрату в контролі протягом експерименту залишався постійним і складав – 0,034 МПа (табл.1). В експерименті вологість субстрату поступово знижувалась: за 4 перші доби в 3 рази, з – 0,034 МПа до – 0,109 МПа, а від 4-ї доби до 5-ї – у 7 раз, від – 0,109 МПа до – 0,743 МПа.

Перед початком досліду ВП листків становив близько – 0,19 МПа. Надалі в контролі він різко збільшився одразу після пересадки на 1-у добу, на 3-ю добу досяг найвищих значень (близько – 0,07 МПа), а на 5-у добу упав до – 0,13 МПа. В умовах експерименту також спостерігали зростання цього показника після пересадки до – 0,12 МПа на 1-у добу. В подальшому за дії стресу ВП листків знизився до – 0,16 МПа на 3-ю добу та – 0,22 МПа на 5-у добу.

Таблиця 1

Ознаки ростової системи проростків *A. thaliana* в стаціонарних умовах вирощування та при дії помірною водного дефіциту

Доба	Водний потенціал листків, МПа		Водний потенціал середовища, МПа
	К, M+m, N=6	Д M+m, N=6	Д M+m, N=3
0	-0,19±0,01	-0,19±0,01	-0,03
1	-0,09±0,008	-0,12±0,01	-0,063
2	.		-0,078
3	-0,07	-0,16±0,03	-0,078
4			-0,110
5	-0,13±0,008	-0,22±0,02	-0,743

Примітки: К-контроль; Д-дослід (тут і в таблицях 2-4)

Одержані дані показують, що ВП середовища та листків знаходилися в межах значень, що характеризують помірний водний дефіцит, і на 5-у добу вологість субстрату не досягала рівня, характерного для гострого водного дефіциту [44; 22]. Причому слід відмітити, що ВП листків протягом експерименту був нижчим за ВП середовища. Тому можна зробити висновок, що проростки в умовах стресу здатні підтримувати градієнт ВП, який забезпечує рух води у системі субстрат-рослина.

Дані порівняльних досліджень за показниками сирової маси проростків, швидкості росту головного кореня, наявності та кількості розгалужених кореневих волосків, активності апікальної меристеми головного кореня, довжини епідермальних клітин в зоні кореневих волосків, вмісту проліну, експресії генів, чутливих до посухи, наведені в табл. 2-3.

Вплив водного стресу на інтегральні ростові показники

Як видно з таблиці 2, приріст сирової маси був приблизно лінійним протягом 5 днів в контролі та експерименті, але, починаючи з 3-ї доби, експериментальні рослини почали значно відставати від контрольних за цим показником. В результаті, на 5-у добу маса рослин в умовах стресу була майже в 1,5 раза менша, ніж у контролі.

Таблиця 2

Морфологічні ознаки проростків *A. thaliana* в стаціонарних умовах вирощування та при дії помірного водного дефіциту

Доба	Приріст кореня, мм		Маса рослин, мг		Кількість клітин меристеми головного кореня в стані поділу, шт.		Довжина епідермальних клітин зони кореневих волосків, мкм		Відсоток розгалуж. кор. волосків, %	
	К, M±m, N=45	Д, M±m, N=45	К, M±m, N=3	Д, M±m, N=3	К, M±m, N=20	Д, M±m, N=21	К, M±m, N=28	Д, M±m, N=26	К, M±m, N=15	Д, M±m, N=30
0			1,16±0,162	1,16±0,162	14,3±0,34	14,3±0,34				
1	1,86±0,39	1,03±0,26	1,53±0,15	1,43±0,13	23,5±1,08	13,1±0,96	81,24±27,55	62,13±17,7	0,0	10,0
2	3,07±0,34	2,85±0,05	1,74±0,37	1,66±0,33	26,4±0,53	14,7±0,39	93,76±28,33	70,91±25,3	0,7	12,9
3	4,25±0,45	3,79±0,81	2,28±0,47	1,79±0,42	31,4±0,66	8,1±0,39	92,55±28,22	72,23±20,16	0,1	1,9
4	4,4±0,88	3,39±0,74	2,33±0,13	1,84±0,33	22,3±0,82	4,2±0,27	96,4±30,72	73,89±18,84		
5	4,12±0,56	1,5±0,71	3,08±0,75	2,08±0,43	25,2±0,49	2,8±0,15				

Після пересадки на розведене середовище МС в контролі відбувалася поступова активація росту головного кореня: приріст кореня досягав постійних значень на 3-у добу й істотно не змінювався до кінця експерименту. В експерименті також відмічено активацію росту кореня у перші 3 дні після пересадки, проте приріст був нижчим порівняно з контролем. На 4-у та 5-у доби ріст кореня пригнічувався, внаслідок чого довжина головного кореня в умовах стресу була приблизно в 1,5 раза меншою за таку в контролі.

У наших дослідженнях показано паралельне зниження маси рослин та приросту головного кореня одночасно з посиленням водного стресу. В більшості досліджень, проведених на однодольних і дводольних рослинах, встановлено, що водний дефіцит інгібує ріст головного кореня, причому ця дія зростала з посиленням стресорного чинника [16; 25; 24; 41; 44; 48]. Водночас, в окремих випадках помірні значення водного дефіциту не мали дії на приріст кореня або навіть спостерігалася незначна стимуляція росту, зокрема, у рослин *Pinus pinaster* [26, 42], *Glycine max* [13], та *A. thaliana* [44].

Найбільшу та водночас статистично достовірну різницю у прирості відмічено лише на 1-у добу, а також на 5-у добу. В інші дні різниця в прирості не була статистично достовірною, а найменшою була на 2-у добу та 3-у добу, коли прирости в контролі та стресі незначно відрізнялися між собою (стрес складав 93% та 89% від контролю на 2-у та 3-у добу, відповідно). Ці дані можна пояснити відмінностями рослини та середовища, яку встановлено в нашому експерименті. На початку дослідження ВП середовища був ще достатньо високим і значно вищим за ВП рослин (-0,06/-0,12 МПа на 1-у добу, -0,08/-0,16 МПа на 3-у добу), тому останні реагували приростом кореня та збільшенням поверхні поглинання. В протилежність цьому, на 5-у добу ВП середовища значно знизився (до -0,743 МПа), а ВП листків на цю добу склав -0,22 МПа. Отже, в умовах, коли ВП листків був вищим за ВП середовища, відбувалося пригнічення росту рослин, зокрема, головного кореня.

Дослідження трансгенних рослин за цикліном В1 лінії *Cus BI: GUS* показало, що в контролі кількість клітин апікальної меристеми головного кореня, що діляться, зростало у перші 3 дні після пересадки; надалі відбувалося деяке уповільнення поділу клітин. На відміну від контролю, в умовах стресу кількість меристематичних клітин, які ділилися, протягом 1-ї та 2-ї доби істотно не змінювалася, надалі відбувалося стійке уповільнення поділу, яке тривало до загибелі рослин на 6-у добу (табл. 2).

Ми провели вимірювання довжини епідермальних клітин головного кореня в зоні диференціювання, які не утворюють кореневих волосків, так званих атрихобластів, оскільки зниження швидкості росту головного кореня може відбуватися як внаслідок зниження швидкості поділу меристематичних клітин, так і уповільнення процесу розтягання клітин кореня. Довжина атрихобластів в експерименті була меншою порівняно з контролем протягом усього дослідження приблизно на 25 %, причому цей показник майже не змінювався із збільшенням відстані від верхівки. Водночас, в контролі довжина клітин, розміщених далі від верхівки, була меншою, ніж довжина клітин, розміщених більш дистально (95 мкм та 80 мкм відповідно). Ймовірно, це явище відображає активацію приросту кореня в контролі. Отже, хоча різниця за довжиною клітин в умовах стресу та контрольного варіанту і мала місце, відмінності між цими двома групами за приростом кореня були значно більш вираженими.

Відомо, що ріст рослин залежить від поділу клітин та їх розтягу [47, 48]. Згідно однієї точки зору, швидкість росту органу визначається розміром клітин, якого вони досягають в зоні розтягу [18]. Згідно іншої теорії, ріст органу відбувається внаслідок утворення нових клітин в зоні поділу [9]. Ці дві теорії не є взаємнесумісними [5].

Як показано в наших експериментах, основним наслідком зменшення приросту головного кореня арабідопсиса порівняно з контролем було пригнічення активності апікальної меристеми. Коефіцієнт кореляції між кількістю клітин, що діляться, та приростом кореня був високим і складав 0,91 для стресу та 0,61 для контролю. Водночас, було встановлено відносно незначний вплив розтягу клітин на приріст головного кореня, оскільки довжина клітин в умовах стресу була нижчою, ніж в контролі приблизно на 20 %.

Аналіз літературних даних виявив результати, подібні до отриманих в даній роботі. У переважній кількості робіт показано позитивну кореляцію між приростом кореня та поділом клітин апікальної меристеми як при інгібуванні, так і при стимуляції приросту внаслідок водного дефіциту. Зокрема, у роботі [44] поділ клітин кореня арабідопсиса корелює з приростом як у контролі, так і в умовах помірного та сильного стресу. У коренях спостерігали швидке падіння мітотичної активності після встановлення водного дефіциту у різних видів: *Triticum durum* [6], *Pisum sativum* [8], *Helianthus annuus* [29], та *Vicia faba* [51]. Стосовно остаточної довжини, яку клітини кореня досягають в зоні диференціації, припускається, що у арабідопсиса цей показник є достатньо стабільним і змінюється незначним чином [44, 47].

Утворення розгалужених кореневих волосків в умовах стресу

В умовах помірного водного стресу спостерігали значну кількість розгалужених кореневих волосків (РКВ) на головному корені *A.thaliana* (8,27%). У контролі їх практично не спостерігали (0,27%). Найбільша кількість розгалужених волосків в умовах водного дефіциту утворювалася на 1-у та 2-у добу (10% та 12,9% відповідно), а надалі їх кількість зменшувалася

(1,9%). Припускаємо, що утворенню розгалужених волосків сприяли помірні значення водного дефіциту.

Утворення кореневих волосків значною мірою залежить від вологості субстрату поблизу кореня [43]. Утворення кореневих волосків обумовлює низка клітинних процесів, включаючи формування цитоскелету, верхівковий градієнт цитоплазматичного кальцію та везикулярний транспорт [15, 11]. РКВ є частиною відповіді рослин на несприятливі фактори середовища, оскільки в звичайних умовах їх утворюється мало [33]. Ці фактори включають дисбаланс деяких іонів в ростовому середовищі, зокрема, дефіцит Mn^{2+} [34] та надлишок NH_4^+ [50]. Добре відоме утворення РКВ у рослин родини бобових, де воно є наслідком взаємодії між рослиною та азотфіксуючими бактеріями [21].

Механізм утворення РКВ включає зазвичай порушення верхівкової полярності кореневого волоска під час росту останнього. До цих порушень можуть призводити, зокрема, руйнування верхівкового градієнту кальцію [21], мутації білків, що утворюють цитоскелет, актинів та тубулінів [14], та білків, що регулюють динаміку цитоскелету, зокрема, ROP GTPази [17]. Всі, чи частина цих чинників можуть бути задіяні і в нашому випадку.

Зростання концентрації проліну при водному дефіциті

Нами проведено вимірювання вмісту проліну у проростках, що вирощувалися в умовах водного стресу та в контролі (табл. 3). В перші 2 дні після пересадки вміст проліну в умовах стресу не перевищував істотно контрольних значень. На 3-ю добу він зріс до 0,074 мкг/г сирової ваги, на 4-у добу-до 0,106 мкг/г сирової ваги, і на 5-у добу - до 0,149 мкг/г сирової ваги. В результаті на 4-у та 5-у добу вміст проліну був у досліді приблизно в 3,5 раза вищим, ніж у контролі.

Таблиця 3

Біохімічні та молекулярні ознаки проростків *A. thaliana* в стаціонарних умовах вирощування та при дії помірного водного дефіциту

Доба	Вміст проліну в проростках, мкг/мг сирової маси			Генна експресія, відносні одиниці				
				Rd29A	AtP5CS	Rd17	DREB2A	ERD1
	К, $M \pm m$, N=5	Д, $M \pm m$, N=5	Д/К, М, N=3	Д/К, М, N=3	Д/К, М, N=3	Д/К, М, N=3	Д/К, М, N=3	Д/К, М, N=3
0	0,179 \pm 0,089	0,179 \pm 0,089	1	1	1	1	1	1
1	0,043 \pm 0,003	0,057 \pm 0,021	1,32	0,18	1,31	1,3	1,09	0,52
2	0,045	0,057 \pm 0,026	1,28	2,67	1,24	0,74	0,6	1,19
3	0,046 \pm 0,004	0,074 \pm 0,016	1,61	5,58	3,51	1,69	0,61	0,5
4	0,032	0,106 \pm 0,023	3,31	10,7	6,53	1,39	0,94	0,36
5	0,042 \pm 0,009	0,149 \pm 0,065	3,58	2,48	5,47	1,73	1	0,42

Спеціалізованими сполуками, які служать для підтримання осмотичного гомеостазу в рослинній клітині, є сумісні осмоліти - невелика група органічних сполук, які є високорозчинними та не перешкоджають клітинному метаболізму навіть у високих концентраціях [10]. Одним з найважливіших сумісних осмолітів є амінокислота пролін. Крім функції осмопротектора [12], пролін є також регулятором окисно-відновного потенціалу [32], він зв'язує радикал гідроксилу [39], захищає макромолекули від денатурації [35], та знижує рН всередині клітини [46].

Ми спостерігали поступове і відносно помірне зростання вмісту проліну. Підвищення вмісту проліну під впливом водного дефіциту неодноразово відмічено і в літературі, проте у відомих нам джерелах зростання було значно більшим [19; 28; 52]. Хоча у цих роботах не наведено кількісні дані стосовно інтенсивності стресу, можна припустити, що причина значно сильнішого зростання вмісту проліну у цих експериментах полягає в більш жорстких умовах водного дефіциту. Порівнюючи ВП середовища та концентрацію проліну в нашій роботі, можна зробити висновок про високу негативну кореляцію між цими двома показниками (-0,83 для стресу та -0,99 для контролю), яку ймовірно, можна пояснити тим, що причиною зростання вмісту проліну був саме водний дефіцит. Слід відмітити, що літературні дані свідчать про

наявність негативного впливу накопичення осмотично активних речовин, в т.ч. проліну, на інтенсивність росту клітин та органів [31; 3]. Так, показано, що піролін-5-карбоксилат (P5C) та, можливо, інші проміжні сполуки біосинтезу проліну можуть бути токсичними для клітин [23, 49]. Отже, уповільнення приросту кореня в нашому досліді може бути наслідком саме накопичення проліну.

Експресія стрес-індукованих генів в умовах помірного водного дефіциту

Для дослідження експресії деяких стрес-індукованих генів в умовах пролонгованого водного стресу для *A.thaliana* були обрані наступні гени: *DREB2A*, *RD17*, *RD29A*, *ERD1*, *AtP5CS*. Експресія цих генів відображає різноманітні сторони адаптації рослин до водного дефіциту. У табл. 4 наведено функції цих генів.

Таблиця 4

Список генів, експресія яких вивчалася в даній роботі

Код	Ім'я	“Прямий” праймер	“Зворотний” праймер	Функція
At5g05410	DREB2A	cga gtt tga aca taa cta ttg g	ttg agg ctt tgt agc gga tc	Транскрипційний фактор, АБК незалежний
At1g20440	RD17	gaa caa gcc tag tgt cat cga	ggt agt gga aac tgg tac atc	LEA білок групи 2 (дегідрин). Індукується DREB2A, АБК незалежний
At5g52310	RD29A	gtt act gat ccc acc aaa gaa g	gtc cat tcc agt ttc agt ctt c	Білок, подібний до LEA білків групи 2. Індукується DREB2A та АБК
At2g39800	ATP5CS	gat ttg gac ttg gtg cag agg	tat gag tac taa gca gag agg a	Ключовий фермент біосинтезу проліну. АБК залежний
At5g51070	ERD1	ctt tct cta tca gca cga aac g	ttt ttt cca cca ggt cca gaa c	АТР-залежна Сір протеаза, БТШ групи 2. DREB2A та АБК незалежний
At3g62250	Ubq5	aac cct tga ggt tga atc atc c cga	gtc ctt ctt tct ggt aaa cgt	Убіквітин 5
At4g20890	Tub9	gta cct tga agc ttg cta atc cta	ggt ctg gac gtt cat cat ctg ttc	Тубулін 9

Відносна (стрес/контроль) експресія генів *RD29A* та *AtP5CS*, була більшою за одиницю (рівень експресії в умовах стресу є вищим, ніж в контролі) протягом усього експерименту, за винятком 1-ї доби для *RD29A* (табл.3). Протягом експерименту експресія поступово зростала, досягаючи максимальних значень на 4-у добу та 5-у добу. Для *RD29A* найвищі значення експресії склали 10,77 а для *AtP5CS* – 6,53 (стрес/контроль).

Як відомо, 40 генів (що відповідає 11% від усіх стрес-індукованих генів) різноманітних транскрипційних факторів (ТФ) були ідентифіковані як гени, експресія яких індукується посухою, холодним або осмотичним стресами. Серед цих ТФ, зокрема, було шість, що належать до підродини *DREB* [36].

У нашому експерименті було визначено експресію одного ТФ з цієї групи, а саме, *DREB2A*. Як видно (табл.3), істотних змін експресії *DREB2A* протягом досліді не спостерігали. Значення відносної експресії були близькими до одиниці, незначно відхиляючись у більший або менший бік.

RD17 є одним із генів-мішеней для *DREB2A*, елементом АБК-незалежного шляху. Як видно, суттєвих змін експресії *RD17* протягом експерименту не відмічено. І, нарешті, результати вивчення експресії *ERD1*, що є елементом окремого АБК-незалежного шляху передачі сигналу при водному стресі [38], показують, що зростання експресії цього гена при

водному стресі відсутнє. Навпаки, спостерігали нижчу експресію *ERD1* при водному стресі порівняно з контролем протягом усього експерименту, за винятком 2-ї доби.

Аналіз експресії генів, які реагують на водний, сольовий, та холодний стреси, показав наявність кількох регуляторних систем, що відповідальні за стрес-індуковану генну експресію. Частина генів є АБК-залежними, в той час, як решта - АБК-незалежні [10;37], що вказує на наявність комплексних регуляторних механізмів між сприйняттям сигналу про абіотичний стрес та експресією генів [37; 53]. На даний момент ідентифіковано два основних елементи в промоторах стрес-індукованих генів: елемент відповіді на АБК - ABRE (abscisic acid responsive element) та елемент відповіді на зневоднення - DRE (dehydration responsive element). Проведений у цьому дослідді аналіз генної експресії показав, що крім *AtP5CS*, зростає експресія ще одного АБК-залежного гена, *RD29A*. Хоча функція білка RD29A і мало вивчена, різке зростання його експресії при зневодненні дозволяє використовувати його як маркер водного стресу в багатьох дослідженнях [36;20]. Водночас значення експресії цих двох генів не досягають рівня, характерного для гострого водного дефіциту [52; 30].

Накопичення ж самого проліну відбувалося завдяки дії *AtP5CS*, ключового фермента синтезу проліну. Високий рівень кореляції між цими двома показниками, експресією *AtP5CS*, та концентрацією проліну (коефіцієнт кореляції становив 0.93) є одним зі свідчень на користь факту, що *AtP5CS* є ключовим ферментом синтезу проліну [52].

Іншим важливим шляхом реакції на водний стрес є той, що опосередковується ТФ родини DREB. В нашій роботі не відмічено істотного зростання ні самого *DREB2A*, ні генів, експресія яких контролюється цим ТФ. Це може бути непрямим свідченням переважної ролі АБК-залежного шляху та самої абсцизової кислоти в реакції рослин арабідопсиса на помірний водний стрес.

Висновки

У даній статті викладено отримані експериментальні дані стосовно реакції проростків арабідопсиса на помірний водний дефіцит на клітинному та молекулярному рівні. Метод імітації водного дефіциту, створений в нашій роботі, охарактеризовано через два параметри-водні потенціали ростового субстрату та листків, величина яких знаходилась в межах значень, характерних для помірного водного дефіциту.

Дослідження показало, що рослини реагують зростанням експресії АБК-чутливих генів *RD29A* та *AtP5CS*, ключового фермента синтезу проліну, а також підвищенням вмісту самого проліну. Ці зміни вкликали пригнічення прроди кореня внаслідок активності поділу клітин апікальної меристем, а також зниження маси рослин. Окремо слід виділити таку адаптацію, як утворення розгалужених кореневих волосків, які можуть збільшувати поглинання води на початкових етапах дії водного дефіциту.

1. Бобровницький Ю. Експресія деяких генів, що індукуються водним стресом, у проростках *Arabidopsis thaliana*, вирощуваних за умов помірного водного дефіциту/ Ю. Бобровницький // Вісник Ужгородського університету. Сер. Біол. науки. – 2011. – Т. 27. – С. 59–65.
2. Векірчик К.М. Фізіологія рослин. Практикум./ К.М. Векірчик – К.:Вища школа, 1984.–240 с.
3. Жолкевич В.Н. Взаимодействие теплового шока и водного стресса у растений. 2. Осморегуляция в листьях растений хлопчатника при последовательном действии кратковременной гипертермии и почвенной засухи/ В.Н. Жолкевич, Н.К. Зубкова, С.Н. Маевская [и др.]// Физиология растений.– 1997.– Т.44.– С. 613–623.
4. Кордюм Е.Л., под редакцией. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях./ Е.Л. Кордюм– К.:Наукова Думка, 2003. – 277 с.
5. Beemster G.T. Variation in growth rate between Arabidopsis ecotypes is correlated with cell division and A-type cyclin-dependent kinase activity/ G.T.Beemster , K. De Vusser, E. De Tavernier [et al.] //Plant Physiol. – 2002.– №129. – P. 854–864.
6. Bitonti M.B. Response of meristematic cells to osmotic stress in Triticum durum/ M.B. Bitonti, F.Ferraro, C.Floris, A.M. Innocenti// Biochem. Physiol. Pfl.–1991.– № 187.– P. 453–457
7. Bobrownzyky J. A method for the imitation of drought stress in Arabidopsis thaliana/ J. Bobrownzyky J. // Інтродукція рослин .– 2006.– № 1.–С. 98–105.

8. *Bracale M.* Water deficit in pea root tips: effects on the cell cycle and on the production of dehydrin-like proteins/ M. Bracale, M. Levi, C. Savini [et al.] // *Ann. Bot.*—1997.— № 79.— P. 593–600.
9. *Bradford K.J.* Sensitivity thresholds and variable time scales in plant hormone action/ Bradford K.J., Trewavas A.J.// *Plant Physiol.*— 1994.— № 105.— P. 1029–1036.
10. *Bray E.* Plant responses to water deficit/ Bray E // *Trends Plant Sci.*— 1997.— № 2.—P.48–54.
11. *Carol R.J.* Building a hair: tip growth in *Arabidopsis thaliana* root hairs/ R.J. Carol, L. Dolan // *Philos. T. Roy. Soc. B.*—2002.— № 357.—P.815–821.
12. *Christian J.H.* The influence of nutrition on the water relations of *Salmonella oranienburg*/ J.H. Christian // *Aust. J. Biol. Sci.*— 1955.— № 8.— P.75–82.
13. *Creelman R.A.* Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. Analysis of growth, sugar accumulation and gene expression/ R.A. Creelman, H.S. Mason, R.J. Bensen [et al.] // *Plant Physiol.*—1990.— № 92.— P. 205–214.
14. *Diet A.* The enr mutants enhance the lrx1 root hair mutant phenotype of *Arabidopsis thaliana*/ Diet A., Brunner S., Ringli C. // *Plant Cell Physiol.* —2004.— № 45.— P. 734–741.
15. *Galway M.E.* Growth and ultrastructure of *Arabidopsis* root hairs: the rhd3 mutation alters vacuole enlargement and tip growth/ M.E. Galway, J.W. Heckman, J.W. Schiefelbein // *Planta.*—1997.— № 201.— P. 209–218.
16. *Gingrich J.R.* Effect of soil moisture tension and oxygen concentration on the growth of corn roots / J.R. Gingrich, M.B. Russell // *Agron. J.*—1956.— № 48.—P. 517–520.
17. *Jones M.* Nuclear dynamics during the simultaneous and sustained tip growth of multiple root hairs arising from a single root epidermal cell/ Jones M., Smirnoff N. // *J. Exp. Bot.*—2006.— № 57.— P. 359–364.
18. *Kaplan D.R.* The relationship of cells to organisms in intact plants: problem and implications of an organismal perspective/ D.R. Kaplan // *Int. J. Plant Sci.*—1992.— № 153.— S28–S37.
19. *Kavi Kishor P.B.* Overexpression of Δ -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants/ P.B.Kavi Kishor, Z. Hong, C.-H. Miao [et al.] // *Plant Physiol.*— 1995.—108.— № 4.— P. 1387–1394.
20. *Kim J.-M.* Alterations of lysine modifications on the histone H3 N-tail under drought stress conditions in *Arabidopsis thaliana*/ J.-M.Kim, T.K. To, J. Ishida [et al.]// *Plant Cell Physiol.*— 2008.— № 49.— P. 1580–1588.
21. *Lévy J.* A putative Ca²⁺ and calmodulin-dependent protein kinase required for bacterial and fungal symbioses/ J.Lévy, C. Bres, R. Geurts [et al.] // *Science.*—2004.— № 303.—P.1361–1364.
22. *Mane S.* Early PLD α -mediated effects in response to progressive drought stress in *Arabidopsis*: a transcriptome analysis/ S.P. Mane, C. Vasquez-Robinet, A.A. Sioson [et al.] // *J. Exp. Bot.*— 2006.— № 58.— P. 241–252.
23. *Mani S.* Altered levels of proline dehydrogenase cause hypersensitivity to proline and its analogs in *Arabidopsis*/ S. Mani, B. Van De Cotte, M. Van Montagu, N. Verbruggen // *Plant Physiol.*—2002.— № 128.— P. 73–83.
24. *Materechera S.* Growth of seedling roots in response to external osmotic stress by polyethylene glycol 20 000/ S.A. Materechera, A.R. Dexter, A.M. Alston, J.M. Kirby // *Plant Soil* .— 1992.— № 143.— P. 85–91.
25. *Mirreh H.F.* Influence of soil water matric potential and resistance to penetration on corn root elongation/ H.F. Mirreh, J.W. Ketcheson // *Can. J. Soil Sci.*—1973.— № 53.—P. 383–388.
26. *Nguyen A.* Variation in growth and osmotic regulation of roots of water-stressed maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) provenances/ A. Nguyen, A. Lamant // *Tree Physiol.*—1989.— № 5.—P. 123–133.
27. *Oono Y.* Monitoring expression profiles of *Arabidopsis* gene expression during rehydration process after dehydration using ca. 7000 full-length cDNA microarray/ Y. Oono, M. Seki, N. Tokihiko [et al.] // *Plant J.* — 2003. — № 34.— P. 868–887.
28. *Rizhsky L.* When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress/ L. Rizhsky, H. Liang, J. Shuman [et al.] // *Plant Physiol.*—2004.— № 134.—P.1683–1696.
29. *Robertson J.M.* Developmental responses to drought and abscisic acid in sunflower roots. 2. Mitotic activity/ J.M. Robertson, E.C. Yeung, D.M. Reid, K.T. Hubick // *J. Exp. Bot.*—1990.— № 41.— P. 339–350.
30. *Sakuma Y.* Dual function of an *Arabidopsis* transcription factor DREB2A in water-stress-responsive and heat-stress-responsive gene expression / Y. Sakuma, K. Maruyama, Q. Feng [et al.]// *Proc. Natl. Acad. Sci.* — 2006. —№ 103.— P. 18822–18827.
31. *Sanchez-Aguayo I.* Quantitative determination of changes induced by NaCl in vacuoles and cellular size of *Lycopersicon esculentum* root cells/ I. Sanchez-Aguayo, A.L. Gonzalez-Utor // *Plant Cell Environ.*—1992.— № 15.—P.867–870.
32. *Saradhi A.* Proline accumulation under heavy metal stress/ A. Saradhi, P. P. Saradhi // *J. Plant Physiol.*— 1991.— № 138: P. 554–558.

33. *Schiefelbein J.* Cell-fate specification in the epidermis: a common patterning mechanism in the root and shoot/ *J. Schiefelbein* // *Curr. Opin. Plant Biol.*– 2003.– № 6.– P. 74–78.
34. *Schmidt W.* Inner voices meet outer signals: The plasticity of rhizodermic cells / *W. Schmidt* // *Plant Sci.*– 2008.– № 174.– P. 239–245.
35. *Schobert B.* Unusual solution properties of proline and its interaction with proteins/ *B. Schobert, H. Tschesche* // *Biochim. Biophys. Acta.*–1978.– № 541.–P. 270–277.
36. *Seki M.* Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray / *M. Seki, M. Narusaka, J. Ishida [et al.]*// *Plant J.* – 2002. – № 31.– P. 279–292.
37. *Shinozaki K.* Molecular responses to dehydration and low temperature:differences and cross-talk between two stress signaling pathways/ *K. Shinozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki* // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2000. – № 3.– P. 217–223.
38. *Shinozaki K.* Gene networks involved in drought stress response and tolerance/ *K. Shinozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki* // *J. Exp. Bot.*– 2007.– № 58.– P. 221–227.
39. *Smirnoff N.* Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes/ *N. Smirnoff, Q. J. Cumbes* // *Phytochemistry.*– 1989.– № 28.– P. 1057–1060.
40. *Söderman E.* The HD-Zip gene ATHB6 in Arabidopsis expressed in developing leaves, roots and carpels and up-regulated by water deficit conditions/ *E. Söderman, M. Hjellström, J. Fahleson, P. Engström* // *Plant Mol. Biol.* – 1999.– № 40.– P. 1073–1083.
41. *Spollen WG.* Regulation of cell expansion in roots and shoots at low water potentials/ *W.G. Spollen, R.E. Sharp, I.N. Saab, Y. Wu.* In: *Smith JAC, Griffiths H, eds. Water deficits. Plant responses from cell to community.*–Oxford: BIOS, 1993.– P. 37–52.
42. *Triboulot M-B.* Stimulation and inhibition of pine root growth by osmotic stress/ *M.-B. Triboulot, J. Pritchard, D. Tomos* // *New Phytol.*–1995.– № 130.– P. 169–175.
43. *Uphoff J.C.T.* Plant hairs./ *J.C.T. Uphoff, K. Hummel* In: *Encyclopedia of plant anatomy. Vol. IV (5).*–Berlin: eds. Gebr. Borntraeger, 1962.
44. *Van der Weele C.M.* Growth of Arabidopsis thaliana seedlings under water deficit studied by control of water potential in nutrient-agar media/ *C.M. Van der Weele, W.G. Spollen, R.E. Sharp, T.I. Baskin* // *J. Exp. Bot.*– 2000.– № 51.– P. 1555–1562.
45. *Vartanian N.* Drought rhizogenesis in Arabidopsis thaliana/ *N. Vartanian, L. Marcotte, J. Giraudat* // *Plant Physiol.* – 1994. – № 104.– P. 761–767.
46. *Venekamp J. H.* Organic acids as sources of drought-induced proline synthesis in field bean plants, *Vicia faba L./ J. H. Venekamp, J.E.M. Lampe, J.T.M. Koot* // *J. Plant Physiol.*–1989.– № 133.– P. 654–659.
47. *Werner T.* Cytokinin-deficient transgenic Arabidopsis plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity/ *T. Werner, V. Motyka, V. Laucou [et al.]* // *Plant Cell.*–2003.– № 15.–P. 2532–2550.
48. *West G.* Cell cycle modulation in the response of the primary root of Arabidopsis to salt stress/ *G. West, D. Inzé, G.T.S. Beemster* // *Plant Physiol.*–2004.– № 135.– P. 1050–1058.
49. *Yamada M.* Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress/ *M. Yamada, H. Morishita, K. Urano [et al.]* // *J. Exp. Bot.*–2005.– № 56.– P. 1975–1981.
50. *Yang N.* Ammonium-stimulated root hair branching is enhanced by methyl jasmonate and suppressed by ethylene in Arabidopsis thaliana/ *N. Yang, C. Zhu, L. Gan [et al.]*// *Journal of Plant Biology* .–2011.– № 54.– P. 92–100.
51. *Yee V.F.* Polyethylene glycol induced water stress in *Vicia faba* seedlings: cell division, DNA synthesis and a possible role for cotyledons/ *V.F. Yee, T.L. Rost* // *Cytologia.*–1982.– № 47.– P. 615–624.
52. *Yoshida Y.* Correlation between the induction of a gene for $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase and the accumulation of proline in Arabidopsis thaliana under osmotic stress/ *Y. Yoshida, T. Kiyosue, T. Katagiri, [et al.]*// *Plant J.* – 1995. –№ 7.– P. 751–760.
53. *Zhu J.K.* Cell signaling under salt, water and cold stresses/ *J.K. Zhu* // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2001. – № 4.– P. 401–406.

Ю.А. Бобровницкий

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

РЕАКЦИИ ПРОРОСТКОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* L. НА УМЕРЕННЫЙ ВОДНЫЙ ДЕФИЦИТ НА КЛЕТОЧНОМ И МОЛЕКУЛЯРНОМ УРОВНЕ

Приведены данные исследований реакции проростков резушки Таля (*Arabidopsis thaliana* L.) на умеренный водный дефицит на клеточном и молекулярном уровнях. Проростки изучали по следующим показателям: сырой вес, скорость роста главного корня, наличие и количество разветвленных корневых волосков, активность апикальной меристемы главного корня, длина эпидермальных клеток в зоне корневых волосков, содержанию пролина, экспрессии генов, чувствительных к засухе. Исследование показало, что на умеренный водный дефицит растения реагируют возрастанием экспрессии АБК-чувствительных генов *RD29A* та *AtP5CS*, ключевого фермента синтеза пролина, а также повышением содержания самого пролина. Эти изменения вызывали угнетение прироста корня и снижение массы растений. Угнетение прироста корня происходило вследствие падения активности апикальной меристемы. Отмечено образование разветвленных корневых волосков, которые могут увеличивать поглощение воды на начальных этапах действия водного дефицита.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, водный дефицит, рост корня, разветвленные корневые волоски, экспрессия генов

J. A. Bobrownyszky

Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

REACTION OF SEEDLINGS OF *ARABIDOPSIS THALIANA* L. ON MODERATE WATER DEFICIT ON CELLULAR AND MOLECULAR LEVEL

In this paper we present our data on the reaction of seedlings of *Arabidopsis thaliana* L. on the moderate water deficit on cellular and molecular level. The seedlings were studied by the following criteria: fresh weight of plants, growth rate of the main root, the amount of branched root hairs, number of dividing cells in root meristem, the length of epidermal cells in the zone of root hairs, proline content, expression of drought sensitive genes. The study revealed that plants react on water deficit by increasing the expression of ABA-sensitive genes *RD29A* and *AtP5CS*, the key enzyme of proline biosynthesis, as well as by increasing the content of proline itself. These changes level caused the decrease of both the root growth rate and the fresh weight of the plants. The decrease of root growth rate was a consequence of the lower activity of root apical meristem. We noticed the production of branched root hairs under conditions of water deficit, which could increase water uptake at the initial stages of water deficit.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, water deficit, root growth, branched root hairs, gene expression

Рекомендує до друку

Н.М. Дробик

Надійшла 19.04.2012

УДК 581. 631

Л.А. ГОЛУНОВА, В.Г. КУР'ЯТА

Вінницький державний педагогічний університет ім. Михайла Коцюбинського
вул. Острозького, 32, Вінниця, 21100

АНАТОМО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОСЛИН СОЇ ЗА КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* І РЕТАРДАНТІВ

Вивчався вплив передпосівної інокуляції насіння *Bradyrhizobium japonicum* і ретардантів на анатомо-морфологічні показники стебла та листків рослин сої. Встановлено, що як передпосівна інокуляція насіння штамом *Bradyrhizobium japonicum* 71т, так і комплексне її застосування з ретардантами у фазу бутонізації, приводило до формування більш потужної стовпчастої асиміляційної тканини листка, яка відіграє основну роль у фотосинтетичних процесах. За дії антигіберелінових препаратів на фоні бактеризації насіння відмічався кращий розвиток механічних тканин стебла сої, що сприяло підвищенню його міцності та посилювало стійкість проти вилягання.

Ключові слова: *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, ретарданти, анатомічна будова

Регуляція онтогенезу рослин є важливим компонентом сільськогосподарських біотехнологій. До основних шляхів регуляції процесів онтогенезу відносяться: уповільнення росту стебла, активізація цвітіння, активізація процесу фотосинтезу, стимуляція проростання насіння [2]. Ретарданти, як інгібітори росту рослин, вже досить тривалий час використовуються у рослинництві [4, 8, 10], тоді як їх використання на зернобобових культурах залишається маловивченим [14, 15].

Механізм дії ретардантів на ріст рослин базується на здатності інгібувати поділ клітин у субапикальній меристемі пагона, блокуючи синтез або активність вже синтезованих гіберелінів. Впливаючи на апікальні та маргінальні меристеми, ретарданти викликають при цьому зменшення лінійних розмірів рослин [3, 4]. Хоча всі ретарданти мають спільну функцію гальмування росту, вони специфічні за своїми властивостями – стійкості, здатності проникати в рослини, за спектром дії на рослини [2, 8, 11].

Відомо, що потенціал зернової продуктивності сої вичерпаний далеко не повністю. Він значно залежить від факторів, які можна регулювати прийомами технології вирощування. Засобом підвищення рівня біологічної фіксації азоту повітря є інокуляція насіння високоефективними штамми бульбочкових бактерій [1]. Показано, що на формування бобово-ризобіальних комплексів впливають фітогормони [13], яким відводиться особливе місце в регуляції взаємовідносин рослин та бульбочкових бактерій, хоча дані авторів є часто суперечливими.

Вплив антигіберелінових препаратів на анатомічні та морфологічні показники є маловивченими, а дані про ефективність їх застосування на фоні передпосівної інокуляції насіння бобових рослин практично відсутні. У зв'язку з цим, метою роботи було з'ясувати зміни у морфо- та гістогенезі рослин сої за дії *Bradyrhizobium japonicum* і ретардантів.

Матеріал і методи досліджень

Роботу проводили на рослинах сої сорту Подільська 1. Досліди закладали на полях дослідного господарства «Бохоницьке» Інституту кормів та сільського господарства Поділля НАН України (м. Вінниця) протягом 2005-2006 років. Інокуляцію насіння проводили в день сівби штамми роду *Br. japonicum* за відповідними рекомендаціями [12]. Обробляли рослини розчинами ретардантів 0,025%-го паклобутразолу (ПБ) та 0,5%-го хлормекватхлориду (ХМХ) в ранкові години до повного змочування листків у фазу бутонізації, контрольні рослини – водопровідною водою.

За фазами розвитку рослин визначали морфометричні показники: висоту рослин, кількість листків та сумарну площу листової поверхні. Мезоструктурну організацію листків

сої вивчали загальноприйнятим методом на фіксованому матеріалі за допомогою мікроскопа „Микмед-1” і окулярного мікрметра МОВ-1-15х. Склад фіксуєчої суміші – рівні частини етилового спирту, гліцерину, 1%-го водного розчину формаліну. Розміри клітин визначали на препаратах, отриманих методом часткової мацерації тканин листка. В якості мацереуючого агенту використовували 5%-й розчин оцтової кислоти в 2 N соляній кислоті [7]. Товщину кори, коленхіми і склеренхіми стебла визначали на поперечних зрізах середньої частини органу, останньої – після попередньої обробки зрізу 1%-им флороглюцином та 20%-ю соляною кислотою.

Результати досліджень оброблені статистично. В таблиці і на рисунках представлені середні значення та їх стандартні похибки.

Результати досліджень та їх обговорення

Одержані результати дослідження свідчать про те, що обробка препаратами призводить до суттєвих морфологічних змін, модифікації інтенсивності росту окремих органів. Зокрема, інокуляція насіння штамми *Br. japonicum* 634б, 71т мала стимулюючий ефект і зумовлювала збільшення висоти рослин (рис. 1). Бактеризація насіння штамом *Br. japonicum* 71т та наступне використання ретардантів призводить до уповільнення росту рослин. Сильніший інгібіторний вплив серед застосованих ретардантів відзначали при використанні паклобутразолу, який викликав суттєве гальмування росту стебла. Дія хлормекватхлориду на ростові процеси чіткіше проявлялася на кінець вегетації (рис. 1).

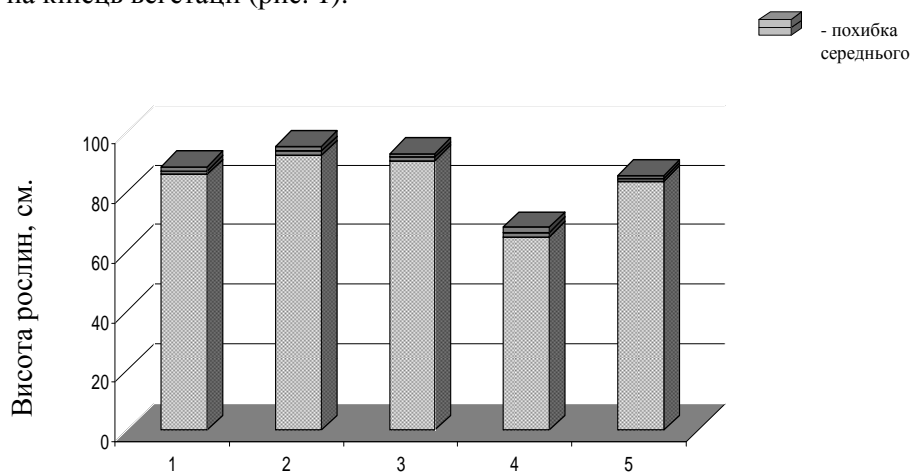


Рис. 1. Вплив інокуляції штамми *Br. japonicum* та обробки ретардантами на висоту рослин сої сорту Подільська 1 (на кінець вегетації): 1– контроль без обробки, 2 – штам 634б, 3 – штам 71т; 4 – 71т+0,025% ПБ; 5 – 71т+0,5% ХМХ.

Вкорочення стебла дослідних рослин під впливом антигіберелінових препаратів відбувалося за рахунок зменшення довжини міжвузлів.

Відомо, що інгібуюча дія ретардантів на фотосинтетичну продуктивність реалізується через зміни на рівні організації фотосинтетичного апарату, зокрема, формування сумарної листової поверхні рослин [2, 15]. Продуктивність рослин найбільш тісно корелює з площею листової поверхні або з фотосинтетичним потенціалом [1, 3].

Отримані нами дані свідчать, що застосування штамів *Br. japonicum* сприяло збільшенню кількості листків сої та площі їх листової поверхні проти контрольних рослин на фоні спонтанної інокуляції (рис. 2 а, б). Найбільшу площу листової поверхні рослини мали при інокулюванні штамом-стандартом 634б (рис. 2 б). Сумісний вплив *Br. japonicum* і антигіберелінових препаратів призводив до закладання більшої кількості листків на рослинах. Показники площі листової поверхні за дії паклобутразолу зменшувалися, а за дії хлормекватхлориду достовірно не змінювалися (рис. 2 а, б).

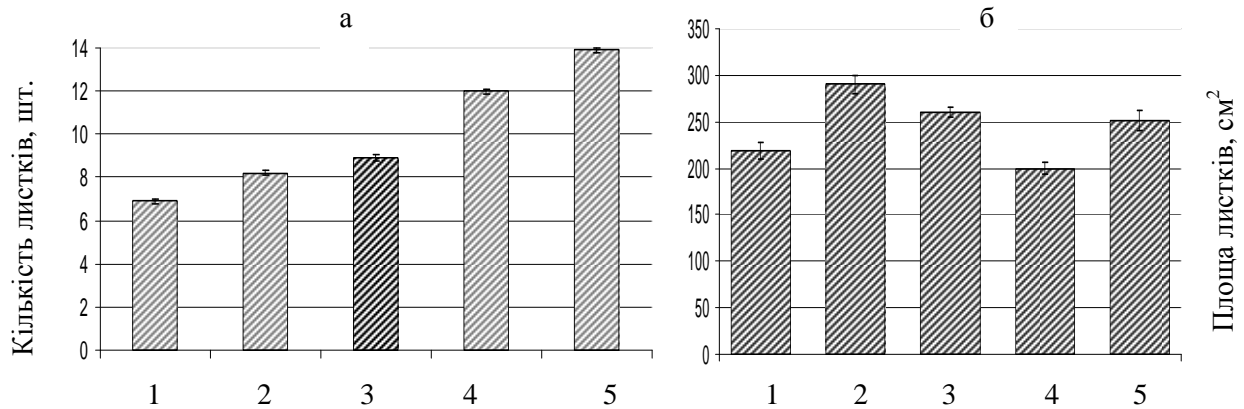


Рис. 2. Дія бактеризації та інгібіторів росту на кількість та площу листків рослин сої сорту Подільська 1: 1 – контроль; 2 – штам 6346; 3 – штам 71т; 4 – 71т+0,025% ПБ; 5 – 71т+0,5% ХМХ. а – кількість листків, б – площа листової поверхні (фаза початку формування бобів).

У літературі представлені суперечливі дані щодо інтенсивності фотосинтезу за дії ретардантів. Відомо, що хлорхолінхлорид викликав зменшення цього показника у пшениці; при цьому відмічалася збільшення потоку асимілятів до колосків [2, 4]. Підвищення активності фотосинтезу відбувалося за дії хлорхолінхлориду у різних сортів люпину [5]. Про посилення фотосинтетичної активності листків сої під впливом інокуляції та комплексному застосуванні бактеризації та антигіберелінових препаратів свідчать і одержані нами результати вивчення чистої продуктивності фотосинтезу (ЧПФ) (рис. 3).

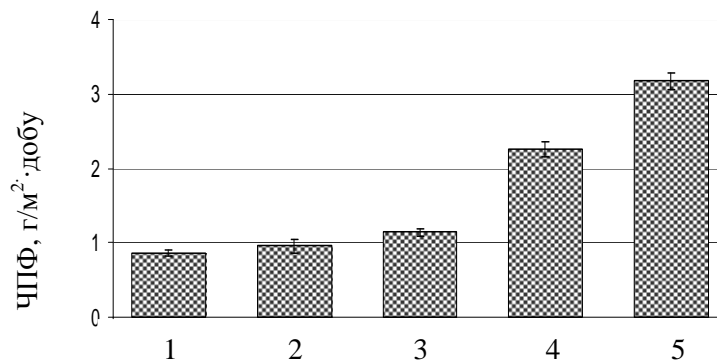


Рис. 3. Дія інокуляції та ретардантів на чисту продуктивність фотосинтезу: 1 – контроль; 2 – штам 6346; 3 – штам 71т; 4 – 71т+0,025% ПБ; 5 – 71т+0,5% ХМХ (фаза початку формування бобів).

Відомою є дія ССС на збільшення міцності нижніх міжвузлів стебел рослин озимої та ярої пшениці. Зменшення довжини та збільшення діаметру окремих міжвузлів стебел визначається особливостями диференціації клітин і тканин за дії ретардантів [4]. Вплив ССС проявлявся у збільшенні ширини склеренхімного кільця, розростанні основної паренхіми, збільшенні числа судинно-волокнистих пучків і оточуючих їх елементів механічної тканини [4]. У літературі наявні дані, які вказують на підвищення стійкості рослин до вилягання за дії ретардантів. Аналогічно до злаків, у рослин гороху, томатів та бавовнику, після обробки хлорхолінхлоридом, затримувався ріст стебла при його одночасному потовщенні [2]. Схожою до хлорхолінхлориду була дія кампозану на стебло льону та етефону на товщину стебла соняшнику, причому, вплив останнього реалізувався за рахунок зниження швидкості клітинного розтягування [3, 10].

Застосовані в нашому досліді антигіберелінові препарати на фоні передпосівної інокуляції насіння штамом *Br. japonicum* 71т впливали на збільшення діаметру стебла сої, в

межах від 0,42 см у контролі, та до 0,64 см у варіанті штаму 71т+0,025% ПБ. Зміни розмірів стебла дослідних рослин відбувалися за рахунок збільшення розмірів кори. За комплексного застосування штаму та ретардантів зростали розміри шарів коленхіми та склеренхіми (див. табл.).

Таблиця

Вплив інокуляції штамами *Br. japonicum* та обробки ретардантами на анатомічні показники стебла та листків сої сорту Подільська 1

Показник / варіант	Товщина кори, мк	Товщина коленхіми, мк	Товщина склеренхіми, мк	Товщина листка, мк	Об'єм клітин стовпчастої паренхіми, мк ³	Довжина клітин губчастої паренхіми, мк	Ширина клітин губчастої паренхіми, мк
Контроль	511,4±8,2	68,4±7,2	157,9±9,3	203,7±4,2	2161±91	30,7±3,2	26,3±2,3
634 б	525,8±9,7	70,1±6,4	166,1±8,2	*245,7±2,6	*2707±103	32,9±4,1	28,7±3,0
71т	544,2±10,8	75,2±9,2	174,2±6,8	*279,6±5,4	*4147±96	35,1±1,8	30,1±2,8
71т+0,025% ПБ	**578,2±12,4	85,2±9,4	**212,0±6,3	**315,0±4,0	**5682±88	29,2±2,4	28,2±2,3
71т+0,5% ХМХ	**560,7±9,4	77,0±4,3	**204,2±6,6	**296,6±3,3	**4584±58	33,1±2,7	28,9±2,8

Примітки: 1.*– різниця достовірна при $P \leq 0,05$ до контролю; 2.**– до штаму 634б

Таким чином, під впливом ретардантів на фоні передпосівної інокуляції насіння *Br. japonicum* відбувався кращий розвиток механічних тканин, що сприяло посиленню міцності стебла та підвищувало стійкість рослин проти вилягання, створювало технологічні переваги при збиранні врожаю.

Відомо, що фотосинтетична активність листка значною мірою визначається його мезоструктурою. Основою морфо генетичних змін рослин сої за дії ретардантів є перебудова гормонального комплексу рослини, зокрема, зменшення активності гіберелінів і підвищення вмісту абсцизової кислоти в тканинах, що було встановлено у попередніх роботах [8]. Однак, вплив ретардантів на мезоструктурні характеристики листка вивчені недостатньо. Відмічалось, що застосування нового ретарданту флурпрімідолу на рослинах сої призводило до зростання фотосинтезу у порівнянні з контролем та зменшенням листової поверхні [15].

Отримані нами дані свідчать про збільшення товщини листових пластинок за дії антигіберелінових препаратів на фоні інокуляції. Сильною серед застосованих ретардантів була дія 0,025%-го паклобутразолу (табл.). Збільшення товщини листової пластинки відбувалося за рахунок змін у його мезофілі: збільшувалися розміри клітин стовпчастої асиміляційної тканини лиска, яка відіграє основну роль у фотосинтетичних процесах; поряд із цм, лінійні розміри губчастої паренхіми достовірно не змінювалися (див. табл.).

Встановлені у ході дослідження анатомо-морфологічні зміни за дії передпосівної інокуляції насіння штамами *Br. japonicum* та впливу антигіберелінових препаратів на рослини сої призводили до підвищення продуктивності культури, як відмічалось нами раніше [6].

Висновки

Таким чином, інокуляція насіння сої ефективними штамами *Br. japonicum* і наступна обробка посівів розчинами 0,025%-го паклобутразолу та 0,5%-го хлормекватхлориду у фазу бутонізації призводила до збільшення розмірів клітин стовпчастої паренхіми листка, кращого розвитку механічних тканин стебла сої, що сприяло підвищенню його міцності та посилювало стійкість проти вилягання.

1. *Биологическая фиксация азота: бобово-ризобияльный симбиоз: монография: в 4 –х т. / С.Я. Коць, В.В. Моргун, В.Ф. Патика и др.– К.: Логос, 2010. Т.2. – 2011. – 523 с.*
2. *Деева В. П. Избирательное действие химических регуляторов роста на растения. Физиологические основы / В.П. Деева, З.И. Шелег, Н.В. Санько. – Мн.: Наука и техника, 1988. – 255 с.*

3. Долгих А. Н. Влияние ретардантов на урожайность соломки и семян льна-долгунца / А.Н. Долгих, В.С. Петренко, В.И. Шутенко // Физиологически активные вещества. – 1991. – Вып. 23. – С. 94–96.
4. Калинин Ф.Л. Управление делением и растяжением растительной клетки ретардантами и борьба с полеганием озимой пшеницы и ржи / Ф.Л. Калинин, Б.А. Курчий // Биохимия регуляции онтогенеза растительной клетки. – Киев: Наук. думка, 1983. – С. 167–200.
5. Ковалев В.М. Испытание и применение регуляторов роста при возделывании кормовых культур / В.М. Ковалев // Регуляторы роста растений / Под ред. акад. ВАСХНИЛ В.С. Шевелухи. – М.: Агропромиздат, 1990. – С. 96–105.
6. Кур'ята В.Г. Ефективність системи соя - *Bradyrhizobium japonicum* за дії паклобутразолу / В.Г. Кур'ята, Л.А. Голунова, С.К. Береговенко // Фізіологія і біохімія культурних рослин, 2010.– 42.– №3.– С. 218–224.
7. Кур'ята В.Г. Одержання препаратів епідермісу методом часткової мацерації тканин листка / В.Г. Кур'ята // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка.–1999.–Т. 31, № 2. – С. 93–102.
8. Кур'ята В.Г. Ретарданты – модифікатори гормонального статусу рослин. – Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку: у 2 т., Т. 2 / В.Г. Кур'ята // НАН України, Ін-т фізіології рослин та генетики, Укр. т-во фізіологів рослин; голов. ред. В.В. Моргун. – К.: Логос, 2009. – С. 565 – 589.
9. Кур'ята В.Г. Действие ретардантов на мезоструктуру листьев малины В.Г. Кур'ята // Физиология и биохимия культур. растений. – 1998. – Т. 30, – № 2. – С. 144–149.
10. Ловетт Дж. В. Морфологические и анатомические изменения, вызываемые в подсолнечнике хлормекватом, и их возможное значение / Дж.В. Ловетт, П.У. Орчард // VII междунар. конф. по подсолнечнику : материалы конф. – М.: Колос, 1978. – С. 396–399.
11. Прусакова Л.Д. Применение производных триазола в растениеводстве / Л.Д. Прусакова, С.И. Чижова // Агрехимия. – 1998. – № 10. – С. 37 – 44.
12. Рекомендації щодо розробки технологічного процесу виробництва сої на богарних землях. – Вінниця: Інститут кормів УААН. – 2007. – 16 с.
13. Фитогормоны в азотфиксирующих клубеньках бобовых растений / Е.Э.Федорова, Г.Я.Жизневская, Ж.К. Альжаппарова, С.Ф. Измайлов // Физиология и биохим. культ. растений. – 1991. – 23, № 5. – С. 426–438.
14. Barnes A.M. Anatomy of *Zea mays* and *Glycine max* seedling treated with triazole plant growth regulators / A.M. Barnes, R.H. Walser, T.D. Davis // Biol. Plant. – 1989. – Vol. 31, № 5. – P. 370–375.
15. Davis Tim D. Soybean photosynthesis and growth as influenced by flurprimidol // Compar. Phisiol. and Ecol. 1986.– 11, №4.– P. 166–169.

Л.А.Голунова, В.Г. Кур'ята

Винницкий государственный педагогический университет им. Михаила Коцюбинского

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ СОИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* И РЕТАРДАНТОВ

Изучалось влияние предпосевной инокуляции семян *Bradyrhizobium japonicum* и ретардантов на анатомо-морфологические показатели стебля и листьев растений сои. Установлено, что как предпосевная инокуляция семян штаммом *Br. japonicum* 71т, так и ее комплексное использование с ретардантами в фазу бутонизации, влияло на формирование мощной палисадной ассимиляционной ткани листка, играющей главную роль в фотосинтетических процессах. Под влиянием антигиббереллиновых препаратов на фоне бактериализации семян отмечалось лучшее развитие механических тканей стебля сои, что способствовало повышению его прочности и усиливало стойкость против полегания.

Ключевые слова: *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, ретарданты, анатомическое строение

L.A. Golunova, V.G. Kuryata

M. Kotsyubynsky Vinnytsia State Pedagogical University, Ukraine

ANATOMIC-MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF SOYBEAN PLANTS UNDER THE COMPLEX INFLUENCE OF *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* AND RETARDANTS

The influence of retardants on anatomic-morphological stem and leaf anatomy of soybean plants has been studied. It is established that preliminary inoculation of the soybeans with *Bradyrhizobium japonicum* 71t strain in complex with retardants application within bud stage caused formation of

more massive palisade mesophyll tissue performing a principal part in photosynthesis. The cumulative effect of both treatments manifested itself in a considerable development of mechanical stem tissue and consequent increasing the plant resistance to lying flat.

Key words: Glycine max, Bradyrhizobium japonicum, retardants, anatomic structure

Рекомендує до друку
Н.М. Дробик

Надійшла 5.07.2012

УДК 581.524.13+547.5+582.998.16

O.V. GURS'KA

Kremenets regional humanitarian-pedagogical institute named after Taras Shevchenko
Liceyna st., 1, Kremenets, Ternopil reg., 47003, Ukraine

THE INVESTIGATION OF PYRETHRUM COCCINEUM (WILLD.) WOROSCH. ALLELOPATHIC ACTIVITY

The dynamics of allelopathic activity of water- and alcohol-soluble extracts and the content of phenolic substances in the *Pyrethrum coccineum* (Willd.) Worosch. vegetative and generative organs was investigated. Leaves and flowers are found to accumulate the greatest number of phenolic compounds in the flowering stage. Inverse correlations were found between the number of phenolic compounds and allelopathic activity of the exudates.

Key words: Pyrethrum coccineum (Willd.) Worosch., allelopathic activity, phenolic substances

A complex of various factors, including the allelopathic interactions between plants, plants and soil microflora is the basis of the formation and existence of plant communities [3, 10]. The allelopathic activity and tolerance of plant species provide vital activity of organisms in biogeocoenose. Using the principles of allelopathic relationships in crop allows to create mixed and compacted plant crops that have a broader adaptive potential. The aromatic plants, which display multifunctional properties and can be used in different sectors of the economy, are the important components of mixed crops [8]. The species of the genus *Pyrethrum* Zinn. are prospective aromatic, air-oil, medicinal and insecticidal crops [7].

The aim of this work is to find out the dynamics of allelopathic activity of water- and alcohol-extracts as well as quantitative content of phenolic compounds in the *Pyrethrum coccineum* (Willd.) Worosch. vegetative and generative organs.

Materials and Methods

The vegetative and generative organs of *P. coccineum* served as the object of the research. Field experiments were laid in the Western Forest-steppe zone on gray forest sandy loam soils of research plots of Kremenets regional humanitarian-pedagogical institute named after Taras Shevchenko. The study was conducted with plants of the second year of vegetation.

Allelopathic activity was determined using A. M. Grodzinsky's method [2]. Hoods which were prepared by the infusion of crushed plant material in distilled water and 70% ethanol during a day at a temperature of 24-25 °C served as model plant exudates. The relation between plant material and weight of solvent's volume was 1:10, 1:50. Soft wheat (*Triticum aestivum* L.) and cress (*Lupidium sativum* L.) were used as biotests. Seedlings grown in distilled water served as control.

The amount of phenolic compounds was determined by the method based on their oxidation by Folin-Chokalto reagent [1]. Statistic processing of the research results was conducted with M. E. Kucherenko and others [5].

Results and Discussion

It has been found that water-soluble exudates of *P. coccineum* vegetative and generative organs contained minor amounts of phytotoxynes and at 1:10 breeding they showed inhibitory effect on the growth of roots and an indifferent effect on the coleoptiles of soft wheat (Fig. 1. A, B). Leaves accumulated the largest number of inhibitors during plant ontogenesis. Their inhibition percentage was 33,8 (budding) and 70,5 (fruiting). The allelopathic active substances of stems showed an inhibitory effect during plant flowering and fruiting, and extracts from the roots did not alter the growth processes of seedling bioassays significantly.

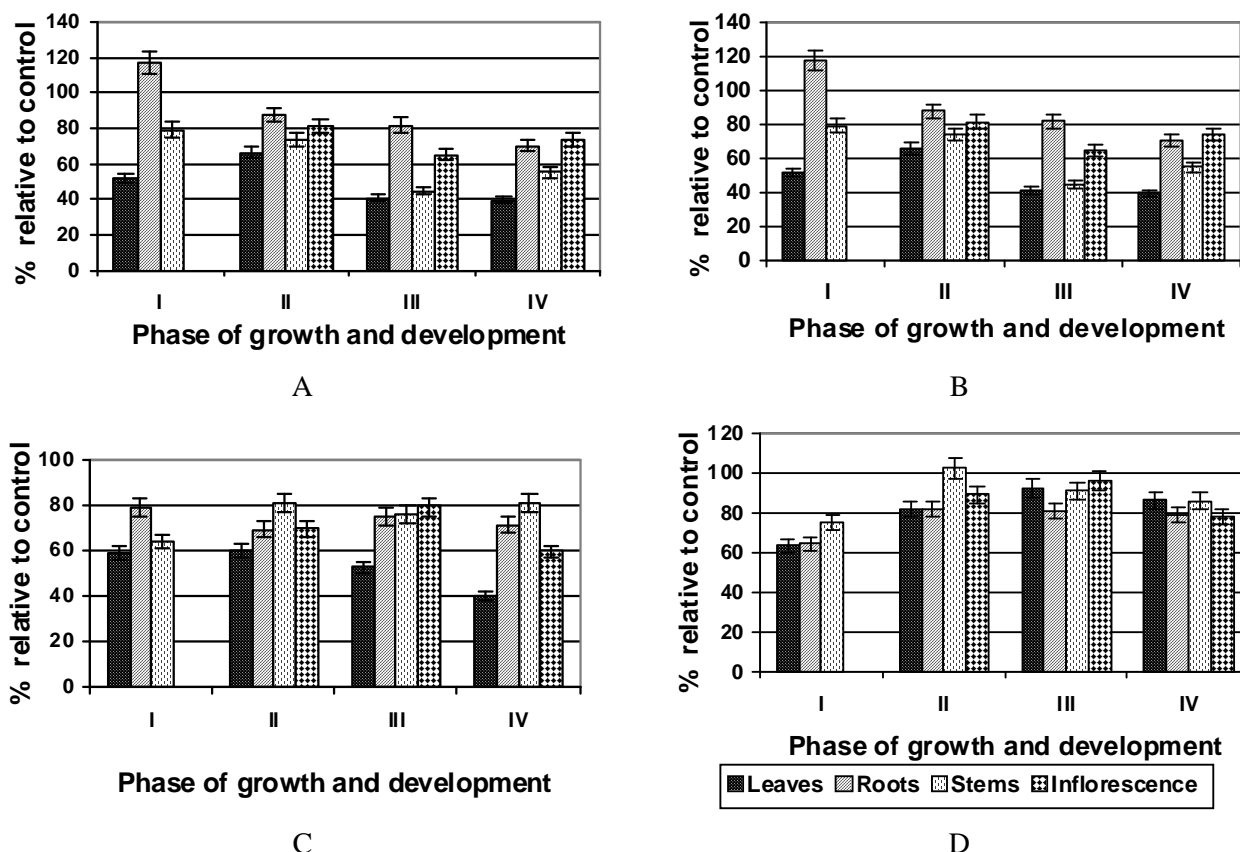


Figure. 1. Allelopathic activity of water-soluble (A, B) and alcohol-soluble exudates (C, D) of vegetative and generative organs in *P. coccineum* ontogenesis; (Biotest: A, B – soft wheat roots, B, C – soft wheat coleoptiles, breeding 1:10) 1 – the beginning of vegetation, II – budding, III – flowering, IV – fruiting

A number of alcohol-soluble fitotoxins in plants leaves increased during their ontogeny (Fig. 1. C.). The percentage of growth processes inhibition of test culture was 41,1 (at the beginning of vegetation) – 70,3 (fruiting) (biotest is the wheat roots). The stems extracts reduced the root growth bioassays by 41,1% only at the beginning of the plants growing season. It is worth being noted that the water-soluble persistent allocation of vegetative organs showed inhibitory effect on the growth of wheat coleoptiles during the plant flowering, alcohol-extracts made an effect on them at the beginning of vegetative (Fig. 1. B, D).

The inflorescence accumulated the most phytotoxins in the flowering and fruiting phases. As the content of inhibitors in extracts was decreased (breeding 1:50) an indifferent effect of water- and alcohol-soluble exudations on growth processes bioassays was observed.

The cress roots showed a higher sensitivity to the action of allelopathic active *P. coccineum* compounds. The exudation of vegetative and generative organs showed strong inhibitory effect on seedling growth bioassays at maximum concentration (breeding 1:10). The content of fitotoxins in aerial parts increased during ontogenesis and reached maximum values at plant flowering and fruiting time (Table 1.).

Table 1

Allelopathic activity of water-soluble exudates of vegetative and generative organs in *P. coccineum* ontogenesis (biotest – cress roots)

Organ	Phase of the growth and development							
	The beginning of vegetation		Budding		Flowering		Fruiting	
	M±m	%	M±m	%	M±m	%	M±m	%
Breeding 1:10								
Leaves	13,0±0,2	60,4	10,4±0,5	48,8	9,1±0,3	42,3	5,8±0,2	26,9
Roots	12,8±0,2	59,7	16,1±0,3	74,7	14,8±0,5	68,8	15,5±0,3	72,1
Stems	16,1±0,6	75,0	11,5±0,3	53,3	10,4±0,4	48,2	9,5±0,3	44,4
Inflorescence	–	–	16,0±0,4	74,4	11,1±0,2	51,4	10,3±0,2	48,1
Breeding 1:50								
Leaves	17,5±0,3	81,6	18,6±0,3	86,4	14,1±0,3	65,4	16,9±0,2	78,5
Roots	17,5±1,4	81,5	18,0±0,2	83,6	18,9±0,3	87,9	17,2±0,4	79,8
Stems	19,6±1,3	91,3	18,4±0,7	85,7	16,8±0,4	78,3	16,2±0,3	75,2
Inflorescence	–	–	18,6±0,3	86,7	13,4±0,2	62,5	15,0±0,2	69,9

The percentage of growth processes inhibition of cress-salad ranged from 48,6 – 51,3 (inflorescences) to 57,7 – 73,1 (leaves), respectively. Roots accumulated the largest amount of allelopathic active compounds at the beginning of vegetation.

The alcohol-soluble exudates of leaves contained the greatest number of fitotoxins during the ontogeny and inflorescence during plant flowering and fruiting. At a maximum concentration (breeding 1:10) the number of inhibitors were 34,5 (fruiting) – 54,6% (budding) and 49,1 – 49,7%, respectively. The contents of allelopathic active compounds in the stems and roots were slightly lower (Table 2.).

Table 2

Allelopathic activity of alcohol-soluble exudates of vegetative and generative organs in *P. coccineum* ontogenesis (biotest – cress roots)

Organ	Phase of the growth and development							
	The beginning of vegetation		Budding		Flowering		Fruiting	
	M±m	%	M±m	%	M±m	%	M±m	%
Breeding 1:10								
Leaves	9,5±0,1	45,4	12,3±0,2	58,4	11,8±0,4	56,2	13,8±0,1	65,5
Roots	16,4±0,1	78,0	15,1±0,4	72,1	16,1±0,2	76,8	16,4±0,2	78,2
Stems	13,2±0,5	62,8	15,7±0,3	74,8	12,7±0,3	60,4	14,5±0,2	69,1
Inflorescence	–	–	16,2±0,5	77,2	10,7±0,4	50,9	10,3±0,1	50,3
Breeding 1:50								
Leaves	14,8±0,8	70,6	19,1±0,7	91,1	15,1±0,5	71,9	16,5±0,1	78,7
Roots	18,0±0,1	85,7	15,2±0,2	72,6	17,4±0,3	82,7	18,9±0,1	90,2
Stems	16,8±0,4	79,9	18,0±0,3	85,8	15,4±0,2	73,1	18,2±0,1	86,6
Inflorescence	–	–	17,3±0,3	82,2	14,1±0,2	67,3	15,1±0,3	72,0

At 1:50 breeding a decreasing inhibitory influence of allelopathic active compounds of *P. coccineum* was seen. The highest number of phytotoxins was contained by water soluble exudates inflorescences and leaves at plants flowering and fruiting. The length of cress roots was 62,5 – 69,9 and 65,4 – 78,5% compared with seedlings grown in distilled water, respectively. The alcohol soluble exudates of leaves showed a significant inhibitory effect at the beginning of vegetation and inflorescences made an effect on them during flowering. The contents of inhibitors were 29,4 and 32,7%, respectively.

The allelopathic activity of plants was caused by the synthesis and release into the environment of a variety of biologically active compounds, among which a phenolic substances occupy an important place [4, 9, 11]. It has been established that the contents of phenolic compounds in plant

organs during ontogenesis have increased and reached a maximum at the flowering stage, and slightly decreased during plants fruiting stage (Table 3). A number of phenolic substances in leaves and inflorescences were the highest one.

Table 3

Quantitative content of phenolic substances in *P. coccineum* vegetative and generative organs, mkg / 100 g of dry matter

Organ	Phase of the growth and development			
	The beginning of vegetation	Budding	Flowering	Fruiting
Leaves	917,5 ± 21,1	1374,0 ± 42,9	2163,0 ± 135,5	2130,4 ± 32,2
Roots	361,9 ± 11,6	640,3 ± 13,9	790,9 ± 8,2	723,2 ± 8,8
Stems	424,7 ± 14,9	512,0 ± 14,6	877,4 ± 27,8	592,4 ± 5,2
Inflorescence	–	846,3 ± 24,3	2080,0 ± 42,5	1519,1 ± 8,8

The content of phenolic substances in the vegetative and generative organs and bioassays growth processes under the influence of *P. coccineum* allelopathic active compounds correlated inversely. The presence of stable relationships between the content of phenolic substances and the inhibition percentage of soft wheat and cress roots growth was found ($r = -0,60$ and $-0,67$ for water and $-0,61$ and $-0,58$ for water-ethanol exudates, respectively). So allelopathic activity of *P. coccineum* caused, to a large extent, the presence of phenolic compounds.

Conclusions

The allelopathic activity of water soluble and alcohol soluble *P. coccineum* exudates depends on the topography of the organs investigated, extracts concentrations and bioassays sensitivity. Leaves accumulated the highest content of inhibitors during the ontogenesis and inflorescence during plant flowering and fruiting.

A number of phenolic substances in *P. coccineum* organs increased during the plant ontogenesis. The highest content is found in the leaves and inflorescences during plant flowering, which is caused by apparently high metabolic activity of these organs. Inverse correlations were found between the content of phenolic compounds and allelopathic activity of the exudates.

1. Aleksandrova A. P. The method of fractionation of phenolic compounds tissue coniferous / Alexandrova A. P., Osipova V. I. // Study the metabolism of trees. – Novosibirsk : Nauka, 1985. – P. 96 – 102.
2. Grodzinsky A. M. Allelopathy of plants and tiredness / Grodzinsky A. M. – Kyiv : Naukova dumka, 1991. – P. 24 – 38.
3. Grodzinsky A. Fundamentals of chemical interactions of plants / Grodzinsky A. M. – Kyiv : Naukova dumka, 1973. – 205 p.
4. Zaprometov M. N. Phenolic compounds : distribution, metabolism and function on the plants / M. N. Zaprometov. – Moscow : Nauka, 1993. – 272 p.
5. Kucherenko M. E. Modern methods of biochemical research : Study guide / Kucherenko M. E., Babenyuk Y. D., Voytsitskiy V. M. – Kyiv : Fitosotsiotsentr, 2001. – P. 109 – 152.
6. Medicinal Plants: An Encyclopedic Reference / [Ed. A. Grodzinsky]. // – Kyiv : Gol. red. URE, 1989. – P. 266 – 268.
7. Tavlynova G. K. Homestead floriculture / Tavlynova G. K. – St. Petersburg : Agropromizdat, 1996. – P. 350 – 351.
8. Yurchak L. D. Ecological role of biodiversity in cultural phytocenoses / [L. D. Yurchak, N. V. Zaimenko, P. A. Moros, D. B. Rakhmetov, O. A. Korableva, O. P. Yunosheva, N. O. Gnatiuk] // Agroecological Journal – № 1. – 2009. – P. 46 – 52.
9. Amallesh S. Roles of flavonoids in plants / Amallesh Samanta, Gouranga Das, Sanjoy Kumar Das // Int J Pharm Sci Tech. – Vol. 6., January-June 2011. – P. 20 – 22.
10. Inderjit The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy / Inderjit, David A. Wardle, Richard Karban and Ragan M. Callaway // Trends in Ecology and Evolution. – №1. – 2011. – P. 1 – 8.
11. Li Z.-H. Phenolics and plant allelopathy / [Zao-Hui Li, Qiang Wang, Xiao Ruan, Cun-De Pan and De-An Jiang] // Molecules – 15. – 2010. – P. 8933 – 8950.

О. В. Гурська

Кременецький обласний гуманітарно-педагогічний інститут ім. Тараса Шевченка, Україна

АЛЕЛОПАТИЧНА АКТИВНІСТЬ *PYRETHRUM COCCINEUM* (WILLD.) WOROSCH.

Досліджено динаміку алелопатичної активності водо- і спирторозчинних екстрактів та вмісту фенольних сполук у вегетативних і генеративних органах піретруму червоного (*Pyrethrum coccineum* (Willd.) Worosch). Встановлено, що найбільшу кількість фенольних сполук накопичували листки та суцвіття у фазі цвітіння. Виявлено наявність зворотних кореляційних зв'язків між кількістю фенольних сполук та відсотком інгібування ростових процесів біотестів.

Ключові слова: *Pyrethrum coccineum* (Willd.) Worosch., фенольні сполуки, алелопатична активність

О. В. Гурская

Кременецький областной гуманитарно-педагогический институт им. Тараса Шевченко, Украина

АЛЕЛОПАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ *PYRETHRUM COCCINEUM* (WILLD.) WOROSCH.

Исследована динамика алелопатической активности водо-, спирторастворимых экстрактов, содержания фенольных соединений в вегетативных и генеративных органах пиретрума красного (*Pyrethrum coccineum* (Willd.) Worosch). Установлено, что наибольшее количество фенольных соединений накапливали листки и соцветия растений в фазе цветения. Вывявлено наличие обратных корреляционных связей между количеством фенольных соединений и процентом ингибирования ростовых процессов биотестов.

Ключевые слова: *Pyrethrum coccineum* (Willd.) Worosch., фенольные соединения, алелопатично активність

Рекомендує до друку

Надійшла 30.08.2012

Н.М. Дробик

УДК 611.34+612.334+616.34-099

О. Ю. РУЖИЦЬКА

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського
майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001

МОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА СТРУКТУРНИХ ЗМІН У ПОРОЖНІЙ КИШЦІ ПРИ ОТРУЄННІ ХЛОРИДОМ КАДМІЮ

Кадмій посідає одне з перших місць за своєю токсичністю й надходить в організм людини і тварин через слизові оболонки шлунково-кишкового тракту. Проведеним дослідженням структурних змін тонкої кишки експериментальних тварин встановлено виражену морфометричну перебудову структур стінки порожньої кишки. Токсична дія хлориду кадмію призводила до суттєвого порушення структурного гомеостазу досліджуваного органа на органному, тканинному та клітинному рівнях.

Ключові слова: морфометрія, порожня кишка, білі щури, хлорид кадмію

В умовах техногенного забруднення довкілля одним із пріоритетних завдань залишається вивчення особливостей дії найбільш поширених і небезпечних токсикантів довкілля, до яких належить і кадмій. Цей метал посідає одне з перших місць за своєю токсичністю і небезпекою для людини [1-4]. Реальна загроза забруднення біосфери даним ксенобіотиком обумовлена, насамперед, його стійкістю, розчинністю в атмосферних опадах, здатністю до сорбції ґрунтом,

рослинами, що в сукупності призводить до поступового накопичення цього елемента у довкіллі й створює небезпеку для здоров'я людини [7, 8].

Інтотоксикація кадмієм спричиняє ураження серцево-судинної, травної, ендокринної, сечовидільної, статевої, нервової, кровотворної систем, викликаючи зростання кількості різних патологічних станів серед населення різних вікових груп [5, 6, 9, 11]. Кадмій надходить в організм людини і тварин через слизові оболонки шлунково-кишкового тракту, органів дихання та шкіру, звідки і відбувається абсорбція цього елемента в кров [1, 2]. За умов перорального надходження в організм всмоктування кадмію відбувається в тонкій кишці [1, 2, 9], яка є одним з небагатьох органів, на яку метал здійснює свій вплив як екзогенним, так і ендогенним шляхом, спричиняючи ряд патологічних змін [10].

На сьогоднішній день вітчизняні та іноземні науковці достатньо ґрунтовно встановили структуру та функції тонкої кишки в нормі та при різній патології, проте особливості морфометричних і морфофункціональних змін у частинах тонкої кишки при кадмієвій інтоксикації організму вивченні недостатньо повно.

Метою роботи є дослідження особливості структурної перебудови у порожній кишці в експериментальних тварин при токсичному ураженні хлоридом кадмію.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проведено на білих безпородних статевозрілих щурах-самцях з масою тіла 232-240 г. Тварин віком 11 місяців розділили на дві групи: 1-ша – контрольна, яка включала практично здорових тварин, що знаходились у звичайних умовах віварію, 2-га – дослідна група тварин, яким вводили внутрішньочеревно розчин хлориду кадмію з розрахунку 7 мг/кг на масу тіла [12]. Всі тварини утримували на стандартному раціоні віварію. Білих щурів дослідної групи виводили з експерименту на 14 добу шляхом етаназії, яку здійснювали кровопусканням в умовах тіопентал-натрієвого наркозу. Шматочки порожньої кишки фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну 2-3 тижні з триразовою зміною фіксуючого розчину. Після фіксації матеріал відмивали у проточній воді, зневоднювали у зростаючих концентраціях етилового спирту й поміщали у парафін.

Депарафінізовані мікротомні зрізи товщиною 5-7 мкм забарвлювали гематоксилін-еозином, пікрофуксином за ван-Гізон, Маллорі, Вейгертом. Гістостереометричні вимірювання здійснювали на гістологічних мікропрепаратах тонкої кишки. Морфометрично на гістологічних препаратах визначали товщини слизової, м'язової, серозної оболонок та підслизової основи, довжину, ширину ворсинок, глибину, ширину крипт, висоту покривних епітеліоцитів, їх діаметр, а також ядерно-цитоплазматичні відношення в епітеліоцитах та відносний об'єм уражених епітеліоцитів.

Отримані дані оброблялися методом варіаційної статистики з визначенням середньої арифметичної величини, її похибки, критерію Стьюдента, показника достовірності. Достовірність різниць між порівнювальними величинами встановлювали за критерієм Стьюдента при $p < 0,05$. Статистичну обробку проводили за допомогою програми Excel та програми «Statistica» на персональному комп'ютері типу IBM.

Результати досліджень та їх обговорення

Дані морфометрії структур порожньої кишки наведені в таблиці. Стінка порожньої кишки контрольних щурів складається із слизової оболонки, підслизової основи, м'язової та серозної оболонок й має типову для ссавців будову. Ворсинки пальцеподібної форми, направлені у просвіт кишки. На поверхні кишкових ворсинок світлооптично виявили наступні типи епітеліальних клітин: стовпчасті епітеліоцити, келихоподібні екзокриноцити та кишкові ендокриноцити. У глибині слизової оболонки досліджуваного органа локалізувалися крипти, що являють собою трубкоподібні вросання епітелію у власну пластинку слизової оболонки досліджуваного органа. Необхідно зазначити, що серед епітеліальних клітин крипт слизової оболонки світлооптично виявлялися стовпчасті та келихоподібні епітеліоцити, епітеліоцити без облямівки.

Підслизова основа тонкої кишки утворена пухкою сполучною тканиною, в якій спостерігаються кровоносні, лімфатичні судини та нервові структури. М'язова оболонка

складалася з гладких міоцитів. Серозна оболонка звичайної гістологічної структури, специфічних особливостей не мала і в основному відповідала класичній, описаній іншими дослідниками. У власній пластинці слизової оболонки тонкої кишки особливо у її дистальних відділах зустрічалися лімфатичні фолікули.

У результаті проведеного дослідження виявлено, що при дії на організм хлориду кадмію суттєво зміненими виявилися практично всі досліджувані морфометричні параметри порожньої кишки. Отримані дані порівнювалися з такими ж показниками аналогічної контрольної групи. В умовах змодельованої патології було встановлено зменшення товщини слизової оболонки порожньої кишки (табл. 1). Так, у контрольній групі спостережень товщина слизової оболонки досліджуваного органа дорівнювала ($390,6 \pm 8,1$) мкм, а при дії на організм хлориду кадмію – ($345,7 \pm 4,8$) мкм. При цьому останній морфометричний параметр був меншим за попередній на 11,5 %. Товщина підслизової основи порожньої кишки в умовах змодельованого експерименту зросла з ($31,70 \pm 0,72$) до ($34,90 \pm 0,54$) мкм, тобто на 10,1 %. Збільшення просторових характеристик підслизової основи при дії на організм хлориду кадмію можна пояснити набряком, який мав місце у цій оболонці порожньої кишки і спостерігався світлооптично. Товщина м'язової оболонки порожньої кишки у змодельованих патологічних умовах достовірно ($p < 0,05$) зменшилася з ($96,40 \pm 2,09$) до ($89,70 \pm 1,21$) мкм, тобто на 6,9 %. Товщина серозної оболонки досліджуваного органа при дії на організм хлориду кадмію збільшилася на 9,7 %, тобто з ($6,20 \pm 0,12$) до ($6,80 \pm 0,15$) мкм. Необхідно зазначити, що наведені вище морфометричні показники статистично достовірно ($p < 0,01$) відрізнялися між собою.

Таблиця

Морфометрична характеристика порожньої кишки щурів при дії на організм дослідних тварин хлориду кадмію ($M \pm m$)

Показник	Група спостереження	
	1-а	2-а
Товщина слизової оболонки, мкм	$390,6 \pm 8,1$	$345,7 \pm 4,8^{**}$
Товщина підслизової основи, мкм	$31,70 \pm 0,72$	$34,90 \pm 0,54^{**}$
Товщина м'язової оболонки, мкм	$96,40 \pm 2,09$	$89,70 \pm 1,21^*$
Товщина серозної оболонки, мкм	$6,20 \pm 0,12$	$6,80 \pm 0,15^{**}$
Довжина ворсинок, мкм	$218,5 \pm 4,5$	$185,7 \pm 2,7^{**}$
Ширина ворсинок, мкм	$28,90 \pm 0,54$	$32,40 \pm 0,45^{**}$
Глибина крипт, мкм	$105,3 \pm 2,4$	$88,5 \pm 1,2^{**}$
Ширина крипт, мкм	$28,90 \pm 0,54$	$31,60 \pm 0,45^*$
Висота покривних епітеліоцитів, мкм	$12,60 \pm 0,27$	$10,70 \pm 0,21^{**}$
Діаметр ядер епітеліоцитів, мкм	$3,90 \pm 0,09$	$3,97 \pm 0,07$
Ядерно-цитоплазматичні відношення в епітеліоцитах	$0,096 \pm 0,002$	$0,138 \pm 0,003^{***}$
Відносний об'єм уражених епітеліоцитів, %	$2,10 \pm 0,04$	$38,90 \pm 0,54^{***}$

Примітка. Зірочкою позначені величини, що статистично достовірно відрізняються від контрольних (*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$).

Довжина ворсинок слизової оболонки порожньої кишки при дії на організм хлориду кадмію зменшилася з ($218,5 \pm 4,5$) до ($185,7 \pm 2,7$) мкм, тобто на 15,0 %. Ширина ворсинок слизової оболонки досліджуваного органа в умовах змодельованої патології статистично достовірно ($p < 0,01$) зросла з ($28,90 \pm 0,54$) до ($32,40 \pm 0,45$) мкм, тобто на 12,1 %. Глибина крипт слизової оболонки порожньої кишки у досліджуваному досліді зменшилася на 15,9 %, а ширина названих утворів збільшилася на 9,3 % ($p < 0,01$).

Висота апікальних епітеліоцитів ворсинок слизової оболонки порожньої кишки контрольних тварин дорівнювала ($12,60 \pm 0,27$) мкм, а в 2-ій групі спостережень – ($10,70 \pm 0,21$) мкм. Останній морфометричний параметр виявився меншим на 15,1 % від попереднього. Діаметр ядер епітеліоцитів при цьому змінився незначно всього на 1,8 %. Ядерно-цитоплазматичні відношення у досліджуваних клітинах при цьому статистично достовірно

($p < 0,001$) зросли з $0,096 \pm 0,002$ до $0,138 \pm 0,003$, тобто на 43,7 %. Виявлені зміни цього морфометричного показника свідчать про те, що змодельована патологія призводила до вираженого порушення клітинного структурного гомеостазу. Відносний об'єм пошкоджених епітеліоцитів у слизовій оболонці досліджуваного органа при цьому зріс з $(2,10 \pm 0,04)$ до $(38,90 \pm 0,54)$ %, тобто у 18,5 рази.

Світлооптичним дослідженням мікропрепаратів порожньої кишки виявлено набряк слизової оболонки, підслизової основи, м'язової та серозної оболонок. У слизовій оболонці досліджуваного органа зустрічалися осередки з нечіткими межами між епітеліоцитами. Вказані клітини з явищами набряку, з дистрофічними та некробіотичними змінами. Місцями відмічалася також десквамація епітеліоцитів. Виражений набряк оболонок досліджуваного органа супроводжувався розволокненням та дезорганізацією структур. Варто зазначити, що при цьому у перерахованих оболонках порожньої кишки дослідних тварин спостерігалася також клітинна інфільтрація, в якій домінували лімфоїдно-гістіоїдні клітини.

Виражена структурна перебудова при змодельованому патологічному процесі спостерігалася у підслизовій основі порожньої кишки білих щурів. При досліджуваному експерименті спостерігалася розширення та повнокров'я переважно венозних судин, виражений набряк, розволокнення, дезорганізація структур, дистрофічні та некробіотичні їх зміни, а також вогнищеві, а інколи й дифузні лімфоїдно-гістіоїдні інфільтрати.

У м'язовій оболонці порожньої кишки білих щурів, яким вводили досліджувану хімічну речовину світлооптично спостерігався виражений перивазальний та стромальний набряк, дистрофічні, некробіотичні зміни гладких міоцитів, лімфоїдно-клітинну інфільтрацію. Світлооптично у м'язовій оболонці судинні розлади характеризувалися розширенням судин, повнокров'ям, стазами, тромбозами, перивазальними переважно діapedезними крововиливами, перивазальними набряками. При цьому в стінці артеріальних судин спостерігався виражений набряк, деколи зустрічалися осередки фібриноїдного набряку і некрозу, дистрофічні та некробіотичні зміни і десквамація ендотеліоцитів, утворення тромбів. У деяких судинах спостерігалася також проліферація ендотеліоцитів, зміни їх архітектоніки з облітерацією дрібних артеріальних судин порожньої кишки. Варто зазначити, що виявлені проліферативні явища ендотеліоцитів свідчили про наявність гіпоксії, яка мала місце при змодельованому патологічному процесі.

Висновки

1. Дія на організм дослідних тварин хлориду кадмію призводила до вираженої структурної перебудови стінки порожньої кишки.
2. У змодельованих експериментальних умовах нерівномірно, диспропорційно змінювалися товщини слизової, м'язової та серозної оболонок і підслизової основи стінки порожньої кишки, що призводило до суттєвих порушень співвідношень між просторовими характеристиками оболонок вказаної частини тонкої кишки.
3. При дії на організм дослідних тварин хлориду кадмію у стінці порожньої кишки спостерігалися виражені судинні розлади, що ускладнювалися дистрофією, некробіозом, інфільтрацією та склеротичними процесами.

1. *Антонюк Г. Л.* Кадмій в організмі людини і тварин. I. Надходження до клітин і акумуляція / Г. Л. Антонюк, Н. О. Бабич, Л. П. Білецька [та ін.] // Біологічні студії. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 127–140.
2. *Антонюк Г. Л.* Кадмій в організмі людини і тварин. II. Вплив на функціональну активність органів і систем / Г. Л. Антонюк, Н. О. Бабич, Л. П. Білецька [та ін.] // Біологічні студії. – 2010. – Т. 4, № 3. – С. 125–136.
3. *Гордієнко В. В.* Вікові особливості хроноритмів екскреторної функції нирок у щурів за тривалої дії малих доз кадмію хлориду / В. В. Гордієнко // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, №4. – С. 27–31.
4. *Дельцова О. І.* Морфофункціональні зміни печінки і тонкої кишки під впливом хлориду кадмію / О. І. Дельцова, С. Б. Герашенко, М. І. Гришук [та ін.] // Світ медицини та біології. – 2005. – № 1. – С. 11–16.

5. *Дитруха Н. М.* Вплив кверцетину та глутаргіну на показники периферичної крові і неспецифічної резистентності організму щурів за умови кадмієвої інтоксикації / Н. М. Дитруха // Український журнал з проблем медицини праці. – 2009. – № 4 (20). – С. 52–56.
6. *Дитруха Н. М.* Експериментальне дослідження впливу важких металів (свинцю та кадмію) на неспецифічну резистентність організму білих щурів / Н. М. Дитруха // Сучасні проблеми токсикології. – 2004. – № 4. – С. 27–30.
7. *Іщейкіна Ю.О.* Гігієнічна оцінка хімічного складу питної води в різних регіонах України / Ю. О. Іщейкіна // Вісник проблем біології і медицини. – 2010. – Вип. 1. – С. 82–85.
8. *Іщейкіна Ю.О.* Гігієнічна оцінка територіальних закономірностей антропогенного забруднення ґрунту і харчових продуктів в Україні / Ю. О. Іщейкіна, Л. М. Швидь, В. М. Нечитайло // Вісник проблем біології і медицини. – 2009. – Вип. 4. – С. 50–54.
9. *Кравець В. В.* Морфологічні зміни в тонкій кишці під впливом різних ендогенних та екзогенних чинників (огляд літератури) / В. В. Кравець // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2008. – №1. – С. 5–16.
10. *Кравець В. В.* Основні морфометричні показники стінки тонкої кишки в умовах дії різних комбінацій солей важких металів / В. В. Кравець // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2009. – Том 1, № 2. – С. 24–33.
11. *Сікора В. В.* Ультраструктура кіркової речовини нирок щурів при споживанні солей важких металів / В. В. Сікора // Вісник наукових досліджень. – 2006. – № 3. – С. 143–145.
12. *Патент* UA 65462 МПК G09B 23/28, A61K 33/24 Спосіб моделювання токсичного ураження тонкої кишки кадмія хлоридом / Котляренко Л. Т., Гнатюк М. С., Ружицька О. Ю.-№ u201105263. Заявлено 26.04.2011. Опубл.12.12.2011. Бюл. №23.

О. Ю. Ружицкая

Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТОЩЕЙ КИШКЕ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ХЛОРИДОМ КАДМИЯ

Кадмий занимает одно из первых мест по своей токсичности и поступает в организм человека и животных через слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта. Проведенным исследованием структурных изменений тонкой кишки экспериментальных животных установлено выраженную морфометрическую перестройку структур стенки тонкой кишки. Токсическое действие хлорида кадмия привело к существенному нарушению структурного гомеостаза исследуемого органа на органном, тканевом и клеточном уровнях.

Ключевые слова: морфометрия, тощая кишка, белые крысы, хлорид кадмия

О. Yu. Rujytska

Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine

MORPHOMETRIC ASSESSMENT OF STRUCTURAL CHANGES IN THE JEJUNUM EXPOSED TO CADMIUM CHLORIDE TOXICITY

Heavy metals - a large group of toxicants and some of them are dangerous to health or to the environment. Heavy metal pollution can arise from many sources but most commonly arises from the purification of metals. Electroplating is the primary source of chromium and cadmium. Through precipitation of their compounds or by ion exchange into soils and muds, heavy metal pollutants can localize and lay dormant.

One of the largest problems associated with the persistence of heavy metals is the potential for bioaccumulation and biomagnification causing heavier exposure for some organisms than is present in the environment alone. In excessive amounts they accumulate in the soil, water and food, which leads to accumulation in the body of animals and humans.

Cadmium is one of the most toxic substances and human and animals exposures to cadmium is the result of ingestion of highly soluble cadmium compounds and its' absorbtion through the mucous membranes of the gastrointestinal tract.

Exposure to cadmium may cause damage of cardiovascular, digestive, endocrine, urinary, reproductive, nervous, hematopoietic systems, causing the growth of various pathological conditions among people of different age groups.

Irregular changes of thickness of the mucosa, muscular and serous membranes and submucosa of the jejunum wall were found in experiments, with following significant violations relationship between spatial characteristics of shells specified small intestine. Toxic effects of cadmium chloride exposure resulted in significant vascular changes, complicated dystrophy, necrobiosis, infiltration and sclerotic processes.

Key words: morphometry, jejunum, white rats, cadmium chloride

Рекомендує до друку
Н.М. Дробик

Надійшла 19.07.2012

УДК 591.5: 594.1

А. П. СТАДНИЧЕНКО, В. К. ГИРИН

Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. В. Бердичівська, 40, Житомир 10008, Україна

ВПЛИВ НІТРОФОСУ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ПОГЛИНАННЯ КИСНЮ МОЛЮСКОМ *UNIO PICTORUM* (*BIVALVIA, UNIONIDAE*)

Досліджено вплив різних концентрацій (0,009, 0,09, 0,9, 9, 90, 900, 9000 мг/дм³) нітрофосу на поглинання кисню перлівницею *U. pictorum ponderosum*. З'ясовано, що він спричиняє отруєння моллюсків, яке, починаючи з концентрації токсиканта 0,09 мг/дм³, супроводжується прогресуючим зниженням інтенсивності поглинання ними кисню.

Ключові слова: Unio pictorum ponderosum, нітрофос, поглинання кисню

Рівень поглинання кисню з водного середовища – необхідна умова нормального перебігу аеробного обміну вуглеводів у багатьох гідробіонтів, у тому числі у двостулкових прісноводних моллюсків. Надходження його в організм цих тварин здійснюється завдяки постійному функціонуванню їх гідрокінетичного апарату як через зябра, так і через шкіру.

В умовах постійного зростання антропогенного тиску на водне середовище доцільним є з'ясування того, як різні за своєю хімічною природою, походженням, концентрацією поллютанти впливають на ті фізіологічні процеси, які зумовлюють нормальну життєдіяльність гідробіонтів. Такі матеріали є вкрай необхідними для здійснення біотестування при проведенні моніторингу стану забруднення природних вод.

Останнім часом у тих регіонах України, де серед інших видів виробничої діяльності провідне місце займає сільськогосподарське виробництво, досить поширеним є забруднення природних і штучних водойм і водотоків різними мінеральними добривами. Це пов'язано, здебільшого, з недотриманням правил їх перевезення і зберігання, а також з порушенням норм і кратності застосування. Відтак, з дощовими і талими водами ці речовини потрапляють у водойми, у тій чи іншій мірі забруднюючи їх і викликаючи у притаманного їм тваринного населення різні морфо-фізіологічні і етологічні порушення.

Метою дослідження було з'ясувати, як різні концентрації нітрофосу впливають на рівень поглинання кисню перлівницею важкою *Unio pictorum ponderosum* Spitzl in Rossmassler, 1844 – найпоширенішим і найчисельнішим видом родини *Unionidae* в Україні. Від нього через це у значній мірі залежить продуктивність її прісноводних екосистем. На сьогодні такі відомості щодо *U. p. ponderosum* є вкрай скупими: вони обмежуються лише відомостями кінця 80-их років ХХст. [2, 3], наведеними Г. С. Іванчиком [1], і нашим короткими повідомленнями.

Матеріал і методи досліджень

За матеріал слугували 251 екз. *U. p. ponderosum* з р. Гуйва (хутір Довжик Житомирської обл.), добутих як вручну, так і за допомогою гідробіологічного сачка. Призначених для транспортування особин обгортали складеною у кілька шарів вологою рядниною. У лабораторії до початку досліду тварин розкладали в один шар в емальованих кюветах, заповнених вологим піском, і накривали їх згори багат шаровою вологою рядниною. Утримували матеріал до початку токсикологічного досліду (від 0,5 до 1 доби) у прохолодному приміщенні (9°C).

Токсикологічний дослід поставлено за [4]. Як токсикант використано нітрофос (=нітрофосфат) – складне азотно-фосфорне мінеральне добриво, що містить у середньому по 20% азоту та P₂O₅, застосовуване під усі, без виключення, сільськогосподарські культури.

Насамперед орієнтаційним дослідом було встановлено значення ЛК₀=0,001 і ЛК₁₀₀=1000 мг/дм³. Опісля у межах ЛК₀ і ЛК₁₀₀ було підібрано 7 концентрацій нітрофосу для постановки основного токсикологічного досліду – 0,009, 0,09, 0,9, 9, 90, 900, 9000 мг/дм³. У токсичні розчини, приготовані на дехлорованій відстоюванням (впродовж доби) водопровідній воді, на дві доби поміщали моллюсків (щільність посадки – 1 особ./дм³). Через добу середовище замінювали свіжоприготовленим. Температура розчинів становила 19–23°C. Перед початком токсикологічного досліду і одразу після його завершення визначали методом Вінклера вміст кисню у воді. Далі розрахунковим методом визначали рівень поглинання кисню (на одну особину), а також на 1 г загальної маси тіла і маси м'якого тіла *U. p. ponderosum*.

Кількісні результати дослідження опрацьовано методами базової варіаційної статистики [5].

Результати досліджень та їх обговорення

З'ясовано, що за шкалою ступеня токсичності хімічних речовин для гідробіонтів [6] нітрофос для *U. p. ponderosum* є речовиною слабкотоксичною.

У контрольній групі тварин поглинання кисню кожною окремою особиною становить 8,5–9 мл O₂/год. У перерахунку на 1 г загальної маси тіла це становить 0,25, а маси м'якого тіла – 0,5 мл O₂/год. Статистично вірогідних відмінностей за всіма трьома означеними вище показниками не виявлено. Що стосується вікових відмінностей, то у інших перлівницевих вони мають місце [3, 7] і полягають у тому, що з віком поглинання кисню ними (на особину) зростає. Відсутність аналогічного результату для досліджених нами *U. p. ponderosum* гуйвинської популяції зумовлена, гадаємо, швидше всього тим, що в опрацьованій нами сукупності кількісно переважали особини молодших вікових груп (2- і 3-річні), натомість доля 4–7-річних тварин була незначною (близько 5%). Це, звісно, не могло не відобразитися на значеннях усереднених даних.

За 0,009 мг/дм³ нітрофосу у середовищі зростання поглинання кисню на особину спостерігається лише у самок (таблиця) – на 10,6% (P > 95%), тоді як у самців лише наявна така тенденція, яка, однак, не сягає рівня статистичної вірогідності. А відтак, 0,009 мг/дм³ нітрофосу, на перший погляд, є концентрацією байдужою для самців, тоді як у самок вона викликає явне отруєння, а саме ту стадію (фазу) патологічного процесу, яку називають стимуляцією [8, 9]. На ній шкодочинному впливові токсиканта самки *U. p. ponderosum* протиставляють піднесення інтенсивності поглинання кисню (на особину). За цієї концентрації поглинання кисню (на 1 г загальної маси тіла) залишається у них без змін, тоді як на 1 г маси м'якого тіла – суттєво зменшується (P > 99,9%) – на 21,6% у самок і на 28,1% у самців. Отже, нижній поріг витривалості *U. p. ponderosum* щодо нітрофосу водного середовища є у них дещо нижчим за концентрацію 0,009 мг/дм³.

Концентрація 0,009 мг/дм³ нітрофосу – це той поріг, на якому відбувається зниження інтенсивності поглинання кисню (на особину) як самцями, так і самками (на 50 і 41,7% відповідно; P > 99,9%). Це свідчить про розвиток у них наступної стадії процесу отруєння – депресії. Концентрації нітрофосу у межах 0,09–900 мг/дм³ є шкодочинним для *U. p. ponderosum* середовищем, яке зумовлює зниження інтенсивності поглинання моллюсками кисню. Це є можливим свідченням того, що під впливом 0,09–900 мг/дм³ нітрофосу у цих тварин

пригнічується аеробне розщеплення їх основного енергетичного субстрату – вуглеводів, і внаслідок цього зменшується здатність їх протистояти несприятливим чинникам середовища. Слід, однак, зазначити, що у токсичному середовищі прісноводні молюски відзначаються наявністю у них своєрідного біохімічного захисно-приспосувального механізму, котрий дозволяє їм «перемикаєти» аеробний спосіб розщеплення вуглеводів на спосіб анаеробний [10, 11]. Не виключено, що це має місце у *U. p. ponderosum* вже тоді, коли вони опиняються у середовищі, що містить 0,09 мг/дм³ нітрофосу. А вже починаючи лише з цієї концентрації токсиканта відмічено різкий спад рівня поглинання кисню у *U. p. ponderosum*. Це добре ілюструється результатами (таблиця), котрі стосуються поглинання ними кисню у перерахунку на 1 г як загальної маси тіла, так і маси м'якого тіла. За 0,09 мг/дм³ нітрофосу у воді значення першого із вказаних вище показників зменшується порівняно з контролем на 41% у самок і на 50% у самців, а другого – на 36 і 33% відповідно. Сказане вище підтверджують і отримані нами дані, що стосуються залежності смертності молюсків від концентрації нітрофосу у середовищі: 90 мг/дм³ – 27%, 150 – 50, 900 мг/дм³ – 89%.

Таблиця

Поглинання кисню (мл O₂/год) перлівницею у залежності від концентрації нітрофосу у водному середовищі

Нітрофос, мг/дм ³	Стать	На особину	На 1 г загальної маси тіла	На 1 г маси м'якого тіла
		$x \pm m_x$ v	$x \pm m_x$ v	$x \pm m_x$ v
0	Самки	8,46 ± 0,22 2,56	0,24 ± 0,03 5,32	0,51 ± 0,05 10,20
	Самці	9,07 ± 0,40 4,33	0,26 ± 0,04 14,10	0,57 ± 0,07 12,70
0,009	Самки	9,36 ± 0,38 14,65	0,21 ± 0,40 14,63	0,44 ± 0,02 18,30
	Самці	9,61 ± 0,21 6,42	0,28 ± 0,10 58,70	0,41 ± 0,01 4,63
0,09	Самки	8,40 ± 0,02 10,00	0,14 ± 0,01 24,30	0,33 ± 0,06 45,20
	Самці	8,59 ± 0,22 9,00	0,13 ± 0,01 17,74	0,38 ± 0,01 8,9
0,9	Самки	8,09 ± 0,15 6,20	0,13 ± 0,04 10,80	0,33 ± 0,01 10,61
	Самці	8,21 ± 0,21 7,14	0,14 ± 0,01 20,70	0,36 ± 0,02 13,60
9	Самки	6,97 ± 0,13 2,01	0,11 ± 0,03 7,27	0,30 ± 0,01 4,39
	Самці	6,89 ± 0,17 2,41	0,12 ± 0,01 8,20	0,30 ± 0,06 20,14
90	Самки	7,61 ± 0,22 7,60	0,13 ± 0,01 14,4	0,32 ± 0,01 9,55
	Самці	7,69 ± 0,22 8,92	0,13 ± 0,01 6,69	0,31 ± 0,01 8,12
900	Самки	7,58 ± 0,07 2,20	0,12 ± 0,01 16,70	0,27 ± 0,03 25,90
	Самці	7,20 ± 0,13 5,33	0,11 ± 0,03 30,12	0,31 ± 0,02 22,79
9000	Самки	7,20 ± 0,15 5,74	0,13 ± 0,02 28,50	0,13 ± 0,01 10,58
	Самці	7,61 ± 0,26 8,50	0,11 ± 0,01 23,63	0,35 ± 0,02 14,27

Інтервал концентрацій нітрофосу від 9000 до 10000 мг/дм³ – це ті межі токсичного середовища, в яких у *U. p. ponderosum* стрімко перебігають одна за одною останні стадії процесу отруєння – сублетальна і летальна. Варто зазначити, що на цих стадіях попри наявність виразних, надійних симптомів, характерних для сублетальної стадії отруєння, впродовж її і до моменту загибелі піддослідних тварин показники поглинання ними кисню як на 1 г загальної маси тіла, так і на 1 г маси м'якого тіла утримуються на тому ж рівні, що й за 0,09 мг/дм³ токсиканта у середовищі. Тому можна припустити, що 100%-ва загибель тварин за 10000 мг/дм³ нітрофосу не є наслідком виключно дефіциту кисню, а результатом сукупної дії і якихось інших порушень в їх організмі, викликаних отруєнням моллюсків цим міндобривом.

Висновки

За шкалою токсичності хімічних речовин для гідробіонтів нітрофос щодо *U. p. ponderosum* є сполукою слабкотоксичною.

Проте у межах його концентрацій у середовищі 0,09 – 10000 мг/дм³ він викликає у цих моллюсків отруєння, у процесі якого послідовно виявляються одна за другою 5 стадій патологічного процесу: байдужість (до 0,009 мг/дм³ нітрофосу), стимуляція (0,009 – 0,09 мг/дм³), депресія (0,09 – 900 мг/дм³), сублетальна і летальна (9000 – 10000 мг/дм³). На трьох останніх стадіях отруєння відбувається прогресуюче зниження поглинання кисню цими тваринами.

У процесі подальших досліджень доцільно з'ясувати якими є межі концентрацій нітрофосу, характерні для кожної зі стадій отруєння, щодо всіх вікових груп *U. p. ponderosum*; «вагітних» самок; особин інвазованих партенітами (спороцисти, редії) і личинками (церкарії, метацеркарії) трематод.

У збиранні матеріалу і проведенні експерименту взяла участь О. Ю. Федчук, за що висловлюємо їй щирі вдячність.

1. *Иванчик Г. С.* Интенсивность потребления кислорода унионидами в разном возрасте / Г. С. Иванчик // Тез. докл. межвуз. науч. – метод. конф. по изуч. пресноводн. моллюсков Сибири. – Томск.: Томск. ун-т, 1969. – С. 19 – 21.
2. *Стадниченко А. П.* Влияние нитрофоса на потребление кислорода перловицей тяжелой / А. П. Стадниченко, Е. Ю. Беленко, А. А. Прощалькина, Н. Е. Рухлина. – 1987. – 19 с. – Деп. в УкрНИИИТИ 18.04.1987. №1270.
3. *Стадниченко А. П.* Влияние различных концентраций нитрофоса на интенсивность потребления кислорода перловицевыми / А. П. Стадниченко, Е. Ю. Беленко, Н. Е. Рухлина. – 1988. – 11 с. – Деп. в УкрНИИИТИ 05.10.1988. № 2551.
4. *Алексеев В. А.* Основные принципы сравнительно токсикологического эксперимента / В. А. Алексеев // Гидробиол. журн. – 1971. – Т. 17, №3. – С. 92 – 100.
5. *Лакин Г.Ф.* Биометрия / Лакин Г.Ф. – М.: Высш. шк., 1973. – 343 с.
6. *Метелев В. В.* Водная токсикология / Метелев В. В., Канаев А. И., Дзасохова Н. Г. – М.: Колос, 1971. – 247 с.
7. *Проссер Л.* Сравнительная физиология животных. / Л. Проссер, Ф. Браун. – М.: Мир, 1967. – 766 с.
8. *Строганов Н. С.* Действие сточных промышленных вод на водные организмы (новые пути решения проблемы) / Строганов Н. С. – М.: МГУ, 1941. – 88 с.
9. *Веселов Е. А.* Основные фазы действия токсических веществ на организмы / Е. А. Веселов // Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. по вопр. водн. токсикологии. М.:Наука. – 1968. – С. 15 – 16.
10. *Биргер Т. И.* Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде / Биргер Т. И. – К.: Наук. думка, 1979. – 190 с.
11. *Маляревская А. Я.* Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам / А. Я. Маляревская // Гидробиол. журн. – 1985. – Т. 21. – №3. – С. 70 – 82.

А. П. Стадниченко, В. К. Гурин

Житомирський державний університет ім. Івана Франка, Україна

**ВЛИЯНИЕ НИТРОФОСА ВОДНОЙ СРЕДЫ НА ПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА
МОЛЛЮСКОМ *UNIO PICTORUM* (*BIVALVIA, UNIONIDAE*)**

Исследовано влияние различных концентраций (0,009, 0,09, 0,9, 9, 90, 900, 9000 мг/дм³) нитрофоса на поглощение кислорода перловицей *U. pictorum ponderosum*. Установлено, что он вызывает отравление моллюсков, которое, начиная с концентрации токсиканта 0,09 мг/дм³, сопровождается прогрессирующим снижением интенсивности поглощения ими кислорода.

Ключевые слова: *Unio pictorum ponderosum*, нитрофос, поглощение кислорода

A.P. Stadychenko, V.K. Gyrin,

Zhytomyr Ivan Franko State University, Ukraine

**THE INFLUENCE OF NITROFOS IN WATER ENVIRONMENT ON OXYGEN ABSORPTION
BY MOLLUSK *UNIO PICTORUM* (*BIVALVIA, UNIONIDAE*)**

The level of oxygen absorption from water environment is the necessary condition for normal aerobic hydrocarbons metabolism in many hydrobionts including bivalve freshwater mollusks. Its entrance into these animals organisms is done thanks to constant functioning of hydrokinetic organs via gills and skin. Under the growing anthropogenic pressure on water environment it is expedient to establish the way different in their chemical nature, origin and concentration pollutants influence physiological processes necessary for hydrobionts normal activity. These data are required in biological tests while monitoring the natural waters pollution. In agricultural regions of Ukraine water pollution with different fertilizers including nitrofos is rather wide-spread. That's why it's necessary to establish the way its different concentrations influence on oxygen absorption by *U. pictorum ponderosum* – one of the most distributed and numerous species from Unionidae family in the region. Nitrofos different concentrations (0,009, 0,09, 0,9, 9, 90, 900, 9000 mg/dm³) influence *U. pictorum ponderosum* oxygen absorption is researched. It causes these mollusks poisoning starting from 0,09 mg/dm³ concentration and is accompanied with this function progressive deterioration.

Key words: *Unio pictorum ponderosum*, nitrofos, oxygen absorption

Рекомендує до друку

Н.М. Дробик

Надійшла 5.07.2012

УДК 582.683.2

Г.В. ЦЕХМІСТЕР, Л.А. ПІНЧУК, Н.В. ТКАЧУК, В.О. ЯНЧЕНКО, А.М. ДЕМЧЕНКО

Чернігівський національний педагогічний університет імені Т.Г. Шевченка
вул.Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів, 14013

**ПОКАЗНИКИ РОСТУ *LEPIDIUM SATIVUM* L. ЗА ПРИСУТНОСТІ
1-АРИЛТЕТРАЗОЛВМІСТНИХ ПОХІДНИХ
1-ТЕТРАЛІН-6-ІЛ-ЕТАНОНУ**

Досліджено рiстрегулюючу активнiсть похiдних з орто- та мета-замiсниками в арильному залишку 2-(1-арилтетразол-5-iл)сульфанiл-1-тетралiн-6-iл-етанону щодо проросткiв *L. sativum* L. Встановлено, що похiднi з орто-замiсником у фенiльному радикалi проявили властивостi iнгiбiторiв росту надземної частини з одночасною стимулюючою дiєю на рiст та синтетичнi

процеси у корені проростків; похідні з мета-замісником – стимуляторів росту коренів з пригнічуючою дією на синтетичні процеси в надземній частині або коренях.

Ключові слова: рістрегулююча активність, фітотестування, *Lepidium sativum* L., 1-арилтетразолвмістні похідні 1-тетралін-6-іл-етанону

Насьогодні увагу привертають синтетичні регулятори росту та розвитку рослин [4]. Зокрема величезне значення надається похідним тетразолу, оскільки серед них є сполуки що знайшли застосування в біохімії, фармакології, сільському господарстві [2]. Для оцінки впливу сполук добре розроблений, давно застосовується і є досить чутливим тест на проростання насіння та визначення різниці в масі та розмірах проростків крес-салату (*Lepidium sativum* L.) [1]. Тому метою роботи було дослідити рістрегулюючу активність похідних з орто- та мета-замісниками в арильному залишку 2-(1-арилтетразол-5-іл)сульфаніл-1-тетралін-6-іл-етанону щодо проростків крес-салату.

Матеріал і методи досліджень

Досліджували похідні з орто- та мета-замісниками в арильному залишку 2-(1-арилтетразол-5-іл)сульфаніл-1-тетралін-6-ілетанону (рис.1), які синтезовано на кафедрі хімії Чернігівського національного педагогічного університету імені Т.Г.Шевченка під керівництвом д.фарм.н. Демченка А.М. Сполуки синтезовано із вихідних 1-арилтетразол-5-тіюлів та 2-бromo-(1-тетралін-6-іл)етанону у лужному середовищі за загальною методикою алкілування гетерилтіюлів [3]. Кількісний склад синтезованих речовин підтверджений елементним аналізом, а структура – даними ПМР-спектрометрії.

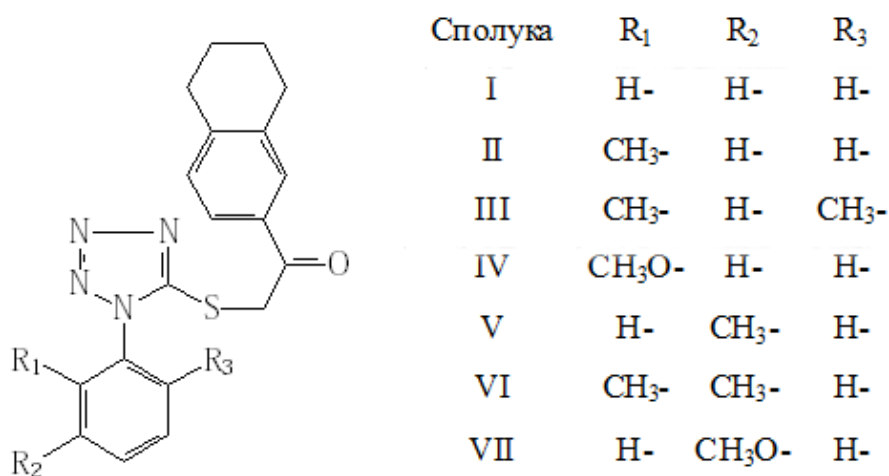


Рис.1. Загальна формула похідних 1-тетрамін-6-іл-етанону

Для оцінки впливу сполук визначали енергію проростання насіння та біометричні показники (довжина, маса надземної частини та коренів) 5-добових проростків, розраховували фітотоксичний ефект (ФЕ) похідних [1]. Концентрація сполук становила 100 мкг/мл. Схема експерименту представлена нами раніше [6]. Повторність дослідів трьохкратна.

При обробці експериментальних даних розраховували середнє квадратичне відхилення. Як критерій оцінки достовірності змін, що спостерігали, використали t-критерій Ст'юдента [5]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили для рівня значимості 0,05.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати дослідження чутливості насіння крес-салату за енергією проростання в присутності семи сполук - похідних з орто- та мета-замісниками в арильному залишку 2-(1-арилтетразол-5-іл) сульфанил-1-тетралін-6-іл-етанону наведено в таблиці 1.

Енергія проростання насіння крес-салату за присутності похідних

Сполука	Енергія проростання, % щодо контролю
I	95,7±1,3*
II	98,6±0,8
III	100,0±2,2
IV	102,9±0,8
V	95,8±4,9
VI	102,8±4,9
VII	100,0±13,3

Примітка. Відмінності від контролю достовірні при * $p \leq 0,05$ ($t_{st}=2,0-2,6-3,4$)

Встановлено, що енергія проростання насіння за присутності досліджених похідних, крім сполуки I, знаходиться в межах контролю. Сполука I достовірно знизил енергію проростання насіння і ФЕ становить 4,4%.

Результати дослідження біометричних показників проростків крес-салату за присутності похідних наведено на рис. 2-5.

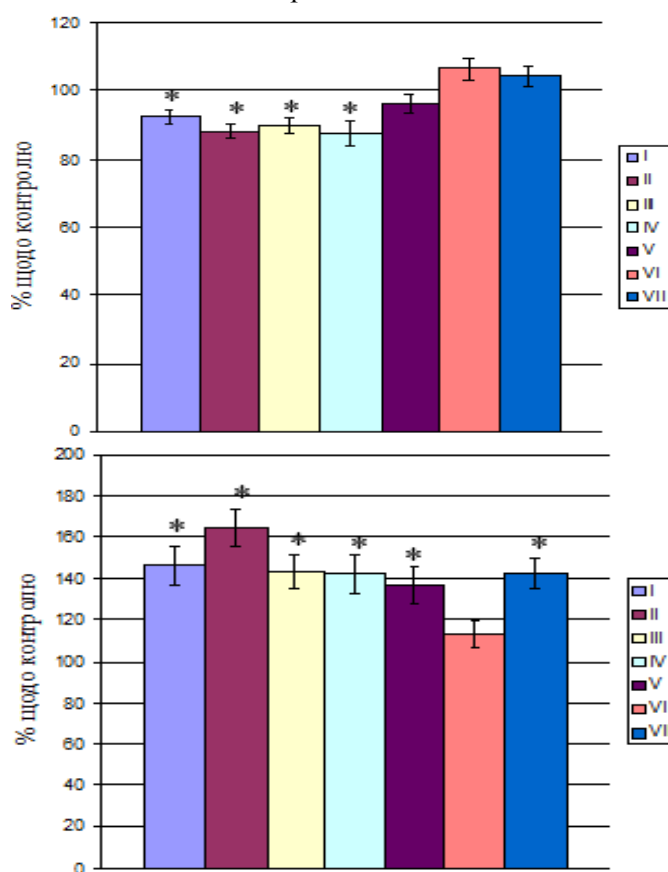


Рис. 2. Довжина надземної частини проростків крес-салату під впливом семи сполук - похідних з орто- та мета-замісниками в арильному залишку 2-(1-арилтетразол-5-іл)сульфаніл-1-тетралін-6-ілетанону

Примітка. Відмінності від контролю достовірні при * $p \leq 0,05$ ($t_{st}=2,0-2,6-3,4$)

Рис. 3. Довжина корінців проростків крес-салату під впливом семи сполук - похідних з орто- та мета-замісниками в арильному залишку 2-(1-арилтетразол-5-іл)сульфаніл-1-тетралін-6-ілетанону

Примітка. Відмінності від контролю достовірні при * $p \leq 0,05$ ($t_{st}=2,0-2,6-3,4$)

Відмічено, що сполука I (без замісників у фенільному радикалі) достовірно у 1,1 рази пригнітила ріст надземної частини проростків у порівнянні з контролем (рис. 2) (фітотоксичний ефект становить 7,3%), стимулювала ріст корінців (в 1,5 рази) та синтетичні процеси в них (в 1,2 рази) (рис. 3, 5). При цьому, на масу надземної частини проростків сполука I не вплинула (рис. 4).

Введення замісників в орто-положення фенільного залишку молекули (сполуки II, III, IV) не призвело до змін біометричних показників проростків тест-рослини у порівнянні зі сполукою I. Так, за присутності сполуки II (з метильним замісником в орто-положенні фенільного залишку) спостерігали достовірно пригнічення росту надземної частини проростків у 1,1 рази порівняно з контролем (рис. 2) (фітотоксичний ефект при цьому становив 11,7%), але відмічено достовірно стимулювання росту корінців (у 1,7 рази) (рис.5). На масу надземної

частини сполука не вплинула (рис.4), але достовірно збільшила порівняно з контролем масу корінців (у 1,1 рази) (рис.5).

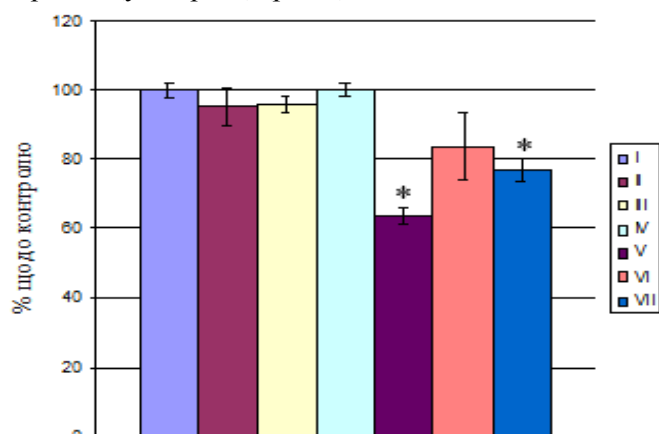


Рис. 4. Маса надземної частини проростків крес-салату під впливом семи сполук - похідних з орто- та мета-замісниками в арильному залишку 2-(1-арилтетразол-5-іл)сульфаніл-1-тетралін-6-іл-етанону

Примітка. Відмінності від контролю достовірні при * $p \leq 0,05$ ($t_{st}=2,0-2,6-3,4$)

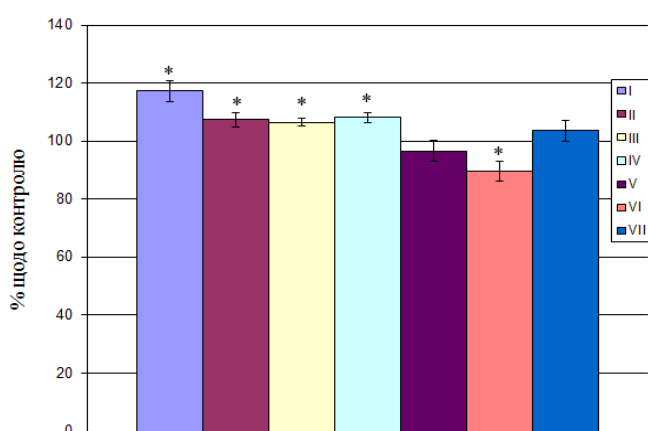


Рис. 5. Маса корінців проростків крес-салату під впливом семи сполук - похідних з орто- та мета-замісниками в арильному залишку 2-(1-арилтетразол-5-іл)сульфаніл-1-тетралін-6-іл-етанону

Примітка. Відмінності від контролю достовірні при * $p \leq 0,05$ ($t_{st}=2,0-2,6-3,4$)

Подібну тенденцію спостерігали під впливом сполук III (з метильними замісниками в 2,6-положенні фенільного залишку) та IV (з метокси-замісником в орто-положенні фенільного залишку). Зокрема відмічено достовірне зменшення довжини надземної частини у 1,1 рази в порівнянні з контролем (рис.2) (фітотоксичний ефект складає 10,2% та 12,2% відповідно) та достовірне збільшення (у 1,4 рази) росту підземної частини (рис.3). На масу стебла сполуки III та IV не вплинули (рис.4), але достовірно збільшили масу корінців у 1,1 рази порівняно з контролем (рис.5).

Введення замісників в мета-положення фенільного залишку (сполуки V, VI, VII) призвело до зміни біометричних показників проростків тест-рослини у порівнянні зі сполукою I. При цьому однакова тенденція в реакціях тест-рослин спостерігається за присутності сполуки V (з метильним замісником в мета-положенні фенільного залишку) та VII (з метоксильним замісником в мета-положенні фенільного залишку). Так, довжина надземної частини та маса корінців проростків крес-салату достовірно не змінилася (рис.2, 5), проте достовірно стимулювався ріст корінців - їх довжина в 1,4 рази більша порівняно з контролем (рис.3) та пригнітились синтетичні процеси в надземній частині (маса надземної частини виявилася меншою, ніж в контролі в 1,6 рази (сполука V) та 1,3 рази (сполука VII).

Під впливом сполуки VI (з метильними замісниками в 2,3-положенні фенілу) достовірних змін біометричних показників проростків не виявлено, крім зміни маси корінців (рис.5). При цьому встановлено, що сполука VI достовірно у 1,1 рази зменшила масу корінців проростків порівняно з контролем.

Висновки

Встановлено, що синтетичні 1-арилтетразольмістні похідні 1-тетралін-6-ілетанону мають рістрегулюючу активність щодо проростків *L. sativum*. Структурні особливості похідних в значній мірі визначають їх рістрегулюючу дію. Похідні з орто-замісником у фенільному

радикалі (сполуки II, III, IV) проявили властивості інгібіторів росту надземної частини з одночасною стимулюючою дією на ріст та синтетичні процеси у корені проростків крес-салату; похідні з мета-замісником – стимуляторів росту корінців з пригнічуючою дією на синтетичні процеси в надземній частині (сполуки V, VI) або коренях (сполука VI).

1. Багдасарян А.С. Биотестирование почв техногенных зон городских территорий с использованием растительных организмов: дис. ...канд.биол.наук: 03.00.16 / Багдасарян Александр Сергеевич. – Ставрополь, 2005. – 159 с.
2. Гапоник П.Н. N-замещенные тетразолы: Синтез, свойства, строение и применение: дис. ...докт.хим.наук: 05.17.05 / Гапоник Павел Николаевич. – Минск, 2000. – 317 с.
3. Демченко А.М. Синтез і властивості похідних 4Н-1,2,4-триазоліл-3-тіолу / А.М.Демченко, В.О.Янченко, Т.В.Шатиркіна, М.О.Лозинський // Фарм. журнал. – 2003. – №2. – С. 57–60.
4. Мельников Н.Н. Пестициды и регуляторы роста растений: справочное издание / Н.Н.Мельников, К.В.Новожилов, С.Р.Белан. – М.: Химия, 1995. – 574 с.
5. Плохинский Н.А. Биометрия / Плохинский Николай Александрович. – М.: Изд-во Московского ун-та, 1970. – 368 с.
6. Ткачук Н.В., Янченко В.О., Демченко А.М. Фітотоксичність деяких похідних 4-аміно-3,5-диметил-4Н-1,2,4-триазолію // Збірник статей за матеріалами Міжнародної наукової конференції «Фіторізоманія прикордонних територій України, Росії, Білорусі у постчорнобильський період» (17-18 грудня 2010 р., м. Чернігів). – С. 237–243.

А.В. Цехмистер, Л.А. Пинчук, Н.В. Ткачук, В.А. Янченко, А.М. Демченко
Черниговский национальный педагогический университет им.Т.Г.Шевченко, Украина

ПОКАЗАТЕЛИ РОСТА *LEPIDIUM SATIVUM* L. В ПРИСУТСТВИИ 1-АРИЛТЕТРАЗОЛСОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ 1-ТЕТРАЛИН-6-ИЛ-ЭТАНОНА

Исследована рострегулирующая активность производных с орто- и мета-заместителями в арильном остатке 2-(1-арилтетразол-5-ил)сульфанил-1-тетралин-6-ил-этанона относительно проростков *L. sativum*. Установлено, что производные с орто-заместителем в фенильном радикале проявили свойства ингибиторов роста надземной части с одновременным стимулирующим действием на рост и синтетические процессы в корне проростков; производные с мета-заместителем – стимуляторов роста корней с подавляющим действием на синтетические процессы в надземной части или корне.

Ключевые слова: рострегулирующая активность, фитотестирование, Lepidium sativum L., 1-арилтетразолсодержащие производные 1-тетралин-6-ил-этанона

A.V. Tsechmister, L.A. Pinchuk, N.V. Tkachuk, V.A. Yanchenko, A.M. Demchenko
Taras Shevchenko Chernihiv' Nation Pedagogical University, Ukraine

INDEXES OF THE GROWTH OF *LEPIDIUM SATIVUM* L. BY THE PRESENCE OF 1-ARILTETRAZOL-DERIVATIVES OF 1-TETRALIN-6-YL-ETANON

Is investigated the growth-regulating activity of derivatives with O- and M-deputies in Aril-deputy of 2-(1-ariltetrazol-5-yl)sul'fanil-1-tetralin-6-yl-etanon on *L. Sativum*. It is found that derivatives with O-deputy from Phenyl-radical have revealed properties of above-ground growth inhibitors while stimulant for growth and synthetic processes in roots of cuttings; derivatives with M-deputy have revealed properties with the oppressive effect as growth promoters of roots the synthetic processes of above-ground parts or roots.

Key words: growth-regulating activity, phytotest, Lepidium sativum L., 1-ariltetrazol-derivatives of 1-tetralin-6-yl-etanon

Рекомендує до друку
Н.М. Дробик

Надійшла 12.06.2012

УДК 593.16(477.41/42)

С. Ю. ШЕВЧУК

Житомирський державний університет ім. Івана Франка
вул. В. Бердичівська, 40, Житомир, 10008

НОВІ ДЛЯ ФАУНИ УКРАЇНИ ВИДИ ГЕТЕРОТРОФНИХ ДЖГУТИКОВИХ (*PROTISTA, EXCAVATA, KINETOPLASTEA*) РОДУ *VODO* ТА ЇХ ЕКОЛОГО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ

Наведено дані про знаходження на території центральної частини Українського Полісся 5 видів роду *Vodo*, що є новими для фауни України, а також відомості про їх особливості морфології та екології.

Ключові слова: протисти, гетеротрофні джгутикові, екологія, Українське Полісся, морфологія

Гетеротрофні джгутикові – це група протистів, що залишається однією з найменш вивчених в Україні. У роботах з вивчення гідрофауни територій України ці організми згадуються під спільною назвою „гетеротрофні джгутикові” без додаткових даних ні про видовий склад, ні про чисельність. Аналіз літературних даних щодо поширення гетеротрофних джгутикових на Україні свідчить про те, що знаходження цих протистів відбувалося, в основному, на території великих наукових осередків, зокрема, це Київська, Харківська та Одеська області [7]. Однією з об’єктивних причин такого стану є те, що це найдрібніші протисти, розміри яких часто близькі до розмірів бактерій [10], тому дослідник при роботі з флагелятами стикається з цілим рядом труднощів.

Світова фауна гетеротрофних джгутикових нараховує близько 3000 тис. видів (без дінофлагелят) [9], а фауна України біля 100 прісноводних видів [7]. Зрозуміло, що із 3000 тис. більшість це морські форми, але і так порівняння неспівставне.

Представники роду *Vodo* мешкають як в морських, так і в прісних водах. Вони характеризуються наявністю двох джгутиків, що відходять від передньої частини клітини. Один з джгутиків (плавальний) спрямований вперед, інший (рульовий) – назад і не приймає участі у русі. Характерною ознакою представників даного таксону є наявність кінетопласта. Зазвичай присутній оформлений ротовий отвір (цитостом). Здатні утворювати цисти. Живлення анімальне або осмотрофне [2].

Матеріал і методи досліджень

Неконцентровані проби води, відібрані в різних типах водойм Житомирської та Київської областях, об’ємом 5 мл розливали в чашки Петрі діаметром 6 см по три повторності з кожного місця збору матеріалу. Проби вивчали під світловим мікроскопом МИКМЕД з об’єктивом водної імерсії $\times 70$ і окуляром $\times 15$. В кожній чашці розглядали 15 полів зору.

Для ідентифікації видового складу джгутикових використовували роботи Жукова [2].

Температуру води визначали каліброчним ртутним термометром з ціною поділки 0,1 – 0,5°C. Вимірювання рН здійснювали електрометрично.

Оксигенізацію води визначали за кількістю розчиненого кисню у воді, що вимірюється в мг/л. Окиснювальність води – перманганатним методом [1].

Результати досліджень та їх обговорення

Нами на території центральної частини Українського Полісся [4] було знайдено 10 видів роду *Vodo*, з яких 5 виявилися новими для фауни України: *Vodo designis* Skuja, 1948, *Vodo edax* Klebs, 1893, *Vodo minimus* Klebs, 1893, *Vodo repens* Klebs, 1893, *Vodo spora* Skuja, 1956.

***Vodo designis* Skuja, 1948 (Рис. 1)**

Клітина яйцевидної форми з загостреним і злегка вигнутим до черевної сторони переднім кінцем ростром, задній кінець також загострений. Довжина тіла – 10-15 мкм. Джгутики відходять від основи роструму. Довжина плавального джгутика приблизно рівна довжині тіла, рульовий – у 2,5 рази довший. Ядро та скоротлива вакуоля в передньому кінці тіла. Під час

руху плавальний джгутик закручується навколо роструму. Плаває швидко, обертаючись навколо повздовжньої осі тіла [6].

Зустрічається часто, найбільше в водоймах з підвищеною сапробністю, відомий також для прісних та морських водойм, ґрунтів і очисних споруд [2].

Диференційний діагноз. Від інших видів роду відрізняється формою переднього та заднього кінців тіла та формою скручування плавального джгутика.

Чисельність цього виду в пробах могла сягати 4700 екз/мл. Значення гідрохімічних параметрів, при яких реєстрували вид варіювали в широких межах. Активна реакція водного середовища від 5,3 до 7,6. Вміст розчиненого у воді кисню – 2,6-24,5 мг/л. Вміст розчинених у воді органічних речовин - 4,7-85,4 мг O₂/л.

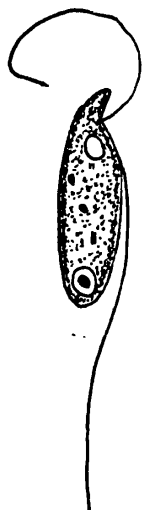


Рис. 1. *B. designis* (x 1050)

***Bodo edax* Klebs, 1893 (Рис. 2)**

Форма клітинного тіла яйцевидна з загостреним переднім кінцем. Черевна сторона має борозну. Довжина клітини до 15 мкм, ширина до 8 мкм. Плавальний джгутик рівний довжині тіла, рульовий в 2 рази довший. Ядро та скоротлива вакуоля знаходяться в передній частині тіла. Цей вид здатний заковтувати дрібніших за розмірами джгутикових.

Нами вид був знайдений в річках та ставках. Зазвичай надає перевагу мезосапробним та забрудненим водоймам [2, 3].

Диференційний діагноз. Від інших видів роду *Bodo* відрізняється наявністю борозни на черевній стороні тіла клітини.

Чисельність виду в пробах досягала 523 екз/мл. Значення гідрохімічних параметрів, при яких реєстрували вид були такими: активна реакція водного середовища близько 7; вміст розчиненого у воді кисню – 7-15,6 мг/л; вміст розчинених у воді органічних речовин 4,7-25 мг O₂/л.

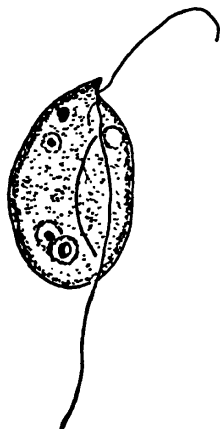


Рис. 2. *B. edax* (x 1050)

***Bodo minimus* Klebs, 1893 (Рис. 3)**

Клітина бобовидної форми. Довжина 5-6 мкм. Джгутики виходять з невеликого заглиблення (цитостома), розмішеного на передньому кінці тіла. Плавальний джгутик приблизно рівний довжині тіла, рульовий - у два рази довший. Ядро і скоротлива вакуоля розміщені в передній частині тіла.

Плаває рідко, рухається дуже повільно.

Нами вид був знайдений в р. Здвиж, смт. Брусилів при $t^{\circ}\text{C}=18$; $\text{pH}=7,32$; вміст розчинених кисню та органічних речовин (перманганатна окиснювальність) в воді 5,67 мг/л і 14,16 мг O_2 /л відповідно.

Є досить звичайним; зустрічається в водоймах мезосапробного типу, очисних спорудах, ґрунті [2, 3].

Диференційний діагноз. Серед видів роду *Bodo* вирізняється дрібними розмірами та бобовидною формою тіла клітини.



Рис.3. *B. minimus* (x 1050)

***Bodo repens* Klebs, 1893 (Рис. 4)**

Форма клітинного тіла овальна або близька до циліндричної. На передньому кінці тіла, в місці виходу джгутиків, є невелике заглиблення. Передній джгутик короткий, задній в 2 рази довший за довжину тіла. Ядро та скоротлива вакуоля знаходиться в передній частині клітини. Цитоплазма гранульована. При русі задній кінець тіла цього виду піднімається вгору. Рухається повільно, не плаває

Нами був знайдений у р. Тетерів, м. Радомишль при $t^{\circ}\text{C}=19$; $\text{pH}=6,93$; вміст розчинених кисню та органічних речовин (перманганатна окиснювальність) в воді 9,33 мг/л і 15,28 мг O_2 /л відповідно.

За літературними даними зустрічається в мезотрофних водоймах та очисних спорудах [2].

Диференційний діагноз. Серед видів роду *Bodo* відрізняється гранульованою цитоплазмою та циліндричною формою клітини.

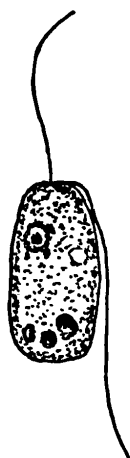


Рис. 4. *B. repens* (x 1050)

***Bodo spora* Skuja, 1956 (Рис. 5)**

Клітина овальної або кулястої форми. Інколи може метаболізувати. Довжина до 5 мкм, ширина 3-3,5 мкм. На передньому кінці є невеликий рострум, який погано видно в світловий мікроскоп. Трохи нижче від роструму відходять два джгутики. Плавальний джгутик може в 2-3 рази бути довшим за довжину тіла, а рульовий – до 15 мкм.

Зустрічається в мезосапробних водоймах.

Диференційний діагноз. Від інших видів роду *Bodo* відрізняється надмалими розмірами клітини та довжиною джгутиків.

Чисельність виду в пробах досягала 523 екз/мл. Значення гідрохімічних параметрів, при яких реєстрували вид були такими: активна реакція водного середовища близько 6,5; вміст розчиненого у воді кисню – 7-15,6 мг/л; вміст розчинених у воді органічних речовин 4,7-25 мг О₂/л.



Рис. 5. *B. spora* (x 1050)

Висновки

Отже, у водоймах центральної частини Українського Полісся нами було зафіксовано 5 нових для фауни України видів гетеротрофних жгутикових, тільки *B. designis* можна вважати масовим видом, оскільки його чисельність у пробах досягала 4700 екз/мл, для інших видів найвищим показником був 523 екз/мл.

1. *Алекин О. А.* Руководство по химическому анализу суши / О. А. Алекин, А. Д. Семенов, Б. А. Скопинцев. – М.: Гидрометеиздат, 1973. – 269 с.
2. *Жуков Б. Ф.* Атлас пресноводных гетеротрофных жгутиконосцев (биология, экология и систематика) / Б. Ф. Жуков. – Рыбинск: ИБВВ РАН, 1993. – 160 с.
3. *Косолапова Н. Г.* Сообщества планктонных гетеротрофных жгутиконосцев малых водных объектов: дис. ... кандидата биол. наук: 03 00 18 / Косолапова Наталья Геннадьевна. – Борок, 2005. – 205 с.
4. *Маринич О. М.* Українське Полісся / О. М. Маринич. – К.: Радянська школа, 1962. – 162 с.
5. *Серавин Л. Н.* Простейшие Что это такое? / Л. Н. Серавин. – Л.: Наука, 1984. – 176 с.
6. *Тихоненков Д. В.* Фауна, морфология и структура сообществ свободноживущих гетеротрофных жгутиконосцев в разнотипных пресноводных и морских биотопах: дис. ... кандидата биол. наук: 03 00 18; 03 00 33 / Тихоненков Денис Викторович. – Борок, 2006. – 397 с.
7. *Шевчук С. Ю.* Гетеротрофні жгутикові центральної частини Українського Полісся: дис. ... кандидата біол. наук: 03 00 08 / Шевчук Світлана Юріївна. – Житомир, 2008. – 148 с.
8. *Adl S.M.* The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists / Adl S.M., Simpson A.G.B., Farmer M.A. [et. al.] // J. Eucaryot. Microbiol. – 2005. – Vol. 52, №5. – P. 399–432.
9. *Finlay B.J.* The global diversity of protozoa and other small species / B.J. Finlay // Australian biologist. – 1997. – Vol. 10. – P. 131–151.
10. *Karpov S.A.* Ultrastructure and 18S rRNA gene sequence of a small heterotrophic flagellate *Siluania monomastiga* gen. et sp. nov. (Bicosoecida) / Karpov S.A., Kersanach R., Williams D.M. // Europ. J. Protistol. – 1998. – Vol. 34. – P. 415–425.

С. Ю. Шевчук

Житомирский государственный университет имени Ивана Франко, Украина

НОВЫЕ ДЛЯ ФАУНЫ УКРАИНЫ ВИДЫ ГЕТЕРОТРОФНЫХ ЖГУТИКОВЫХ (*PROTISTA*, *EXCAVATA*, *KINETOPLASTEIA*) РОДА *BODO* И ИХ ЭКОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Приведены данные о нахождении на территории центральной части Украинского Полесья 5 видов рода *Bodo*, которые оказались новыми для фауны Украины, а также ведомости об особенностях их морфологии и экологии.

Ключевые слова: протисты, гетеротрофные жгутиковые, экология, морфология, Украинское Полесье

S. Yu. Shevchuk

Zhytomyr Ivan Franko State University, Ukraine

NEW TO FAUNA OF UKRAINE SPECIES HETEROTROPHIC FLAGELLATES (*PROTISTA*, *EXCAVATA*, *KINETOPLASTEAE*) OF GENUS *BODO* AND THEIR FEATURES OF MORPHOLOGY AND ECOLOGY

Data are provided about finding on territory of central part of Ukrainian Polissya 5 species of genus *Bodo*, new to fauna of Ukraine, and information on their features of morphology and ecology.

Key words: protists, heterotrophic flagellates, ecology, morphology, Ukrainian Polissya.

Рекомендує до друку

Н.М. Дробик

Надійшла 25.07.2012

БІОХІМІЯ

УДК [612. 1 : 796.015] : 577.15

Н.В. БОГДАНОВСЬКА

Запорізький національний університет
вул. Жуковського, 66, Запоріжжя, 69600

ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ НА АКТИВНІСТЬ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ

Здійснено аналіз стану системи синтезу оксиду азоту, судинного ендотелію, фізичної працездатності юнаків і дівчат 20-25 років з різною мірою адаптації до фізичних навантажень. Показано, що високий рівень фізичної працездатності забезпечується вираженими позитивними перебудовами всіх ланок системи синтезу оксиду азоту та функціонального стану судинного ендотелію і є більш вираженими в осіб жіночої статі. Встановлена сильна кореляційна залежність між рівнем фізичної працездатності і біохімічними параметрами функціонального стану системи синтезу оксиду азоту.

Ключові слова: фізичні навантаження, синтаза оксиду азоту, кореляційна залежність, юнаки, дівчата, фізична працездатність

Наразі відомо, що фізичні навантаження сприяють оптимізації функціонального стану фізіологічних систем організму та забезпечують високий рівень фізичної працездатності [11].

Також показано важливу роль оксиду азоту в регуляції діяльності серцево-судинної, дихальної, нервової, ендокринної, імунної та інших систем організму, які значною мірою визначають поточний рівень фізичної працездатності та ступінь адаптації до фізичних навантажень [1, 3, 4, 5]. Крім цього, фізичні навантаження попереджають ендотеліальну дисфункцію у здорових осіб і сприяють її корекції в осіб із захворюваннями серцево-судинної системи [1, 3, 4, 5].

Тому висловлюється припущення про існування тісної функціональної залежності між станом системи синтезу оксиду азоту і рівнем фізичної працездатності організму.

У зв'язку з актуальністю та практичною значимістю зазначеної проблеми метою даного дослідження було визначення кореляційної залежності між рівнем фізичної працездатності та функціональним станом системи синтезу NO.

Матеріал і методи досліджень

У цьому дослідженні було проведено обстеження практично здорових юнаків і дівчат у віці 20-25 років, які були поділені на контрольну групу (нетреновані особи) з традиційним режимом рухової активності (дворазові заняття фізичною культурою у вищому навчальному закладі) та основну групу (треновані особи) зі стажем занять спортом більше 10 років – професійні спортсмени, члени збірних України з ігрових видів спорту.

Під час дослідження реєстрували показники фізичної працездатності, системи кровообігу, ендотелію судин, системи синтезу оксиду азоту та неокислювального метаболізму L-аргініну в плазмі крові. При проведенні дослідницької частини роботи морально-етичні норми відносно обстежених осіб були дотримані.

Рівень фізичної працездатності оцінювали за допомогою субмаксимального тесту PWC₁₇₀ на велоергометрі “Поляр” (випробуваний виконував 2 навантаження по 5 хвилин з інтервалом відпочинку між ними 3 хвилини) – розраховували абсолютну (aPWC₁₇₀, кгм·хв⁻¹) та відносну величини загальної фізичної працездатності (vPWC₁₇₀, кгм·хв⁻¹·кг⁻¹), абсолютну (aMCK, л·хв⁻¹) та відносну величини максимального споживання кисню (vMCK, мл·хв⁻¹·кг⁻¹) [6].

Оцінку функціонального стану судинного ендотелію здійснювали за величиною ендотеліозалежної вазомоторної реакції плечової артерії (ЕЗВДР) використовували пробу з реактивною гіперемією плечової артерії з ресстрацією таких показників: вихідні величини діаметра плечової артерії (Dpa, мм), лінійної (ЛШК, см·с⁻¹) і об’ємної (ОШК, мл·с⁻¹) швидкостей кровотоку, величини даних показників на піку розвитку реактивної гіперемії (відповідно Dpag, мм; ЛШКг, см·с⁻¹; ОШКг, мл·с⁻¹) і значення приросту зазначених параметрів при проведенні проби (відповідно ΔDpa, %; ΔЛШК, %; ΔОШК, %) [10].

Для оцінки функціонального стану системи синтезу оксиду азоту в плазмі крові визначали величини біохімічних показників, що характеризують інтенсивність синтезу оксиду азоту за двома альтернативними шляхами метаболізму – неокисному реутилізаційному і окислювальному de novo [2]. Інтенсивність окисної деградації аргініну, при якій утворюється оксид азоту de novo, оцінювали за активністю різних ізоформ NO-синтази – кальційзалежної конститутивної (визначалася сумарна активність eNOS + nNOS = cNOS, пмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка) і кальційнезалежної індукційної (iNOS, пмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка), а також за рівнем кінцевих метаболітів оксиду азоту – нітрит- (NO₂⁻, пмоль·мг⁻¹ білка) і нітрат- (NO₃⁻, пмоль·мг⁻¹ білка) аніонів. Інтенсивність реутилізаційного синтезу оксиду азоту оцінювали, визначаючи NADPH-залежну нітратредуктазну активність (нітратредуктаза, нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка). Інтенсивність неокислювального метаболізму L-аргініну оцінювали, визначаючи активність аргінази (Arg, нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка) [12].

Були розраховані співвідношення між біохімічними показниками:

- частку вмісту нітрит-аніона (% NO₂⁻, %), маркеру оксигенації крові в сумарному пулі циркулюючих стабільних метаболітів оксиду азоту, за формулою $\% \text{NO}_2^- = [\text{NO}_2^-] \times 100 / ([\text{NO}_3^-] + [\text{NO}_2^-])$;

- частку активності iNOS (% iNOS, %) у сумарній активності NO-синтази, за формулою $\% \text{iNOS} = \text{активність iNOS} \times 100 / \text{активність (iNOS + cNOS} = \Sigma \text{NOS})$.

Усі експериментальні матеріали, отримані в ході дослідження, були оброблені з використанням програми “Statistica-7”.

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз результатів, отриманих у дослідженні, дозволив встановити наявність істотних відмінностей у рівні фізичної працездатності та аеробних можливостей нетренованих і тренуваних осіб.

Для тренуваних юнаків та дівчат був характерний достовірно (p<0,001) більш високий рівень їхньої фізичної працездатності та аеробних можливостей у порівнянні з нетренованими однолітками. За відносними величинами PWC₁₇₀ тренувани хлопці та дівчата випереджали своїх однолітків відповідно на 48,08±2,29 % і 48,16±1,16 %, а за відносними величинами MCK – відповідно на 26,14±2,15 % і 20,26±1,10 % (табл. 1).

Отримані результати, а також відомі літературні дані про те, що основним фактором, що лімітує зростання фізичної працездатності, є стан системи кровообігу, дозволили припустити і більш оптимальний рівень функціонування серця, а це, у свою чергу, могло бути наслідком більш високого функціонального стану судинного ендотелію, у тому числі, можливо, за рахунок більш інтенсивного синтезу оксиду азоту в його клітинах.

На користь цього припущення свідчили як результати порівняльного аналізу результатів у пробі з реактивною гіперемією плечової артерії, так і дані біохімічних досліджень. Як відомо, величина реактивної гіперемії напряму залежить від синтезу оксиду азоту в ендотелії судин і відображає функціональний стан ендотелію, як клітин, що синтезують оксид азоту.

Таблиця 1

Величини загальної фізичної працездатності (вРWC₁₇₀) і аеробної продуктивності (вМСК) у нетренованих та тренуваних юнаків та дівчат (M±m)

Показники	Нетреновані	Треновані	Δ%
дівчата			
аРWC ₁₇₀ , кгм·хв ⁻¹	731,84±43,13 середній	1405,32±49,19*** вище середнього	92,03±1,52
вРWC ₁₇₀ , кгм·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	13,61±0,97 середній	20,24±0,58*** вище середнього	48,68±1,16
аМСК, л·хв ⁻¹	2,68±0,95 середній	4,16±0,11*** високий	55,28±1,52
вМПК, мл·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	49,88±2,75 середній	59,99±1,27** вище середнього	20,26±1,1
юнаки			
аРWC ₁₇₀ , кгм·хв ⁻¹	1224,39±51,30 середній	2575,19±178,55*** високий	110,32±3,62
вРWC ₁₇₀ , кгм·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	18,33±0,72 середній	27,14±1,49*** високий	48,08±2,29
аМПК, л·хв ⁻¹	3,76±0,11 середній	6,74±0,39*** високий	78,96±3,62
вМПК, мл·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	56,39±1,71 середній	71,14±3,26*** високий	26,14±2,15

Примітки: ** - p<0,01; *** - p<0,001 порівняно з показниками, зареєстрованими в нетренованих осіб; Δ% – величина відносної різниці (у %) між абсолютними значеннями показників у нетренованих і тренуваних.

Вдалося встановити, що в тренуваних осіб, незалежно від статі, був більш високий функціональний стан судинного ендотелію, про що свідчили достовірно вищі величини приросту, на піку проби реактивної гіперемії, діаметра плечової артерії (ΔD_{па}, на 70,43±3,02 % серед дівчат і на 18,51±1,20 % серед юнаків), лінійної (ΔЛШК, відповідно на 68,80±1,27 % і на 27,68±1,33 %) і об'ємної (ΔОШК, відповідно на 18,98±1,28 % і на 8,23±1,07 %) швидкостей кровотоку, а також достовірно нижчі величини загального периферичного опору судин (ЗПОС, відповідно на 21,47±1,06 % і на 26,85±1,12 %) (табл. 2).

Таблиця 2

Показники судинної реакції в нетренованих і тренуваних юнаків та дівчат 20-25 років на піку проби реактивної гіперемії (M±m)

Показники	Дівчата		Юнаки	
	нетреновані (n=78)	тренувані (n=87)	нетреновані (n=81)	тренувані (n=72)
ΔD _{па} , %	19,94±1,27	33,98±3,62***	24,62±1,08	29,18±0,72**
ΔЛШК, %	65,81±6,34	111,09±4,95***	34,54±2,62	44,10±2,32**
ΔОШК, %	141,47±10,69	168,32±8,55*	154,47±5,67	167,19±2,14*
ЗПОС, дин ² ·с·см ⁻⁵	2021,16±55,24	1587,31±19,08**	2919,91±200,39	2135,97±101,73**

Примітки: * - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001 порівняно з нетренованими особами.

Переконливими були й результати порівняльного аналізу стану системи синтезу оксиду азоту в осіб із різним рівнем тренуваності і, як уже було показано, різним рівнем фізичної працездатності та функціонального стану серцево-судинної системи (табл. 3).

Було встановлено, що в тренуваних осіб, незалежно від статі, відзначалася більш висока інтенсивність кальційзалежного de novo синтезу оксиду азоту з L-аргініну за участю конститутивної NO-синтази (сNOS) та його ресинтезу при відновленні стабільних окислених метаболітів оксиду азоту (нітрит- та нітрат-аніонів), і, навпаки, більш низька інтенсивність окисного кальційнезалежного шляху синтезу NO de novo за участю індукційної NOS (іNOS) та неокислювального аргіназного шляху метаболізму L-аргініну за участю аргінази, що конкурує з сNOS за спільний субстрат (L-аргінін).

Величини показників системи синтезу оксиду азоту в крові нетрениваних і тренуваних дівчат і юнаків 18-20 років (M±m)

Показники	Дівчата		Юнаки	
	нетренувані (n=78)	тренувані (n=87)	нетренувані (n=81)	тренувані (n=72)
iNOS, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	13,83±1,47	8,54±1,47*	14,44±1,08	12,34±0,87*
cNOS, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	28,35±2,18	48,01±4,5***	40,11±3,23	58,49±3,85**
Сумарна NOS, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	42,18±2,90	56,55±5,42*	54,55±2,91	70,83±4**
Нітратредуктаза, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	3,78±0,23	4,62±0,25*	3,47±0,19	3,77±0,15
Аргіназа, $\mu\text{моль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	2,69±0,32	0,99±0,27***	2,09±0,28	1,21±0,16**
NO_2^- , $\mu\text{моль}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	168,62±28,29	296,87±36,22**	177,12±18,1	324,54±20,56***
NO_3^- , $\mu\text{моль}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка	7,76±0,82	1,36±0,14***	9,30±0,69	1,67±0,15***
% iNOS, %	32,75±2,59	14,83±1,78***	27,11±2,55	17,75±1,30**
% нітриту, %	1,878±0,398	6,702±0,264***	1,648±0,207	6,592±0,237***

Примітка. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ порівняно з нетрениваними особами.

У тренуваних юнаків і дівчат ми спостерігали статистично значимо більш високі, ніж у їхніх нетрениваних однолітків, значення активності cNOS (на $69,34 \pm 2,29$ % серед дівчат і на $45,81 \pm 1,56$ % серед юнаків), сумарної NOS (відповідно на $34,06 \pm 2,12$ % і на $29,84 \pm 1,70$ %), нітратредуктази (відповідно на $22,31 \pm 1,49$ % і на $8,05 \pm 1,61$ %), вмісту нітрит-аніона (відповідно на $76,50 \pm 1,62$ % і на $83,23 \pm 1,51$ %), їхні частки в сумарному пулі стабільних метаболітів оксиду азоту (відповідно на $345,88 \pm 1,70$ % і на $300,01 \pm 1,52$ %) і, навпаки, статистично значимо більш низькі величини активності iNOS (відповідно на $38,27 \pm 1,41$ % і на $14,55 \pm 1,29$ %), її частки в сумарній активності NOS (відповідно на $54,71 \pm 1,21$ % і на $34,52 \pm 1,12$ %), більш низькі величини концентрації нітрат-аніона (відповідно на $82,43 \pm 1,01$ % і на $82,02 \pm 1,02$ %) та активності аргінази (на $63,20 \pm 1,31$ % серед дівчат і на $42,11 \pm 1,15$ % серед юнаків).

Крім цього, з урахуванням результатів проби з реактивною гіперемією, можна було припустити, що підвищення активності конститутивної NOS (cNOS) забезпечувалося, в основному, за рахунок підвищення активності ендотеліальної NOS (eNOS).

Істотним підтвердженням вищесказаного стали результати кореляційного аналізу між величинами загальної фізичної працездатності обстежених осіб та показниками, що характеризують стан системи синтезу оксиду азоту (табл. 4).

Отримані при обстеженні тренуваних юнаків та дівчат коефіцієнти кореляції переконливо засвідчили високий ступінь функціональної залежності рівня фізичної працездатності від активності лише конститутивної, але не індукційної NO-синтази, від активності нітратредуктази та величини пулів і частки нітрит-аніонів у загальному пулі стабільних метаболітів оксиду азоту.

Навпаки, підвищеним рівням фізичної працездатності відповідали більш низькі величини активності не лише індукційного синтезу оксиду азоту (активності iNOS), але також і активності аргінази, яка конкурує з cNOS за субстрат.

Важливо вказати на те, що високий ступінь функціональної залежності між рівнем фізичної працездатності та показниками системи синтезу NO був зареєстрований нами і серед нетрениваних юнаків та дівчат.

Коефіцієнти кореляції між рівнем фізичної працездатності (вPWC170) і показниками системи синтезу NO в нетренованих і тренуваних юнаків та дівчат (M±m)

Показники	Дівчата		Юнаки	
	нетреновані (n=78)	тренувані (n=87)	нетреновані (n=81)	тренувані (n=72)
iNOS	-0,59±0,22	-0,64±0,23*	-0,55±0,22	-0,71±0,16*
cNOS	0,68±0,18	0,63±0,22*	0,63±0,20	0,66±0,19*
Аргіназа	0,67±0,18	0,66±0,19*	0,56±0,23	0,62±0,21*
Нітратредуктаза	0,33±0,30	0,63±0,22*	0,59±0,22	0,69±0,18*
NO ₂	0,56±0,23	0,69±0,17*	0,43±0,27	0,65±0,19*
NO ₃	0,54±0,23	-0,27±0,31	-0,28±0,31	-0,27±0,31
Сумарна NOS	0,56±0,23	0,64±0,23*	0,68±0,18	0,66±0,19*
% iNOS	-0,80±0,12	-0,67±0,18*	-0,59±0,22	-0,75±0,15**
%NO ₂	0,40±0,28	0,71±0,16*	0,58±0,22	0,66±0,19

Примітка. *, ** - достовірність коефіцієнту кореляції R (p<0,05, p<0,01).

У цілому, результати комплексного обстеження тренуваних юнаків і дівчат дозволили констатувати, що процес довготривалої адаптації серцево-судинної системи їхнього організму забезпечується за рахунок підвищення інтенсивності конститутивного *de novo* і реутилізаційного шляхів синтезу оксиду азоту, вмісту циркулюючого нітрит-аніона і зниження рівню циркулюючого нітрат-аніона, що сприяє зниженню судинного опору, підвищенню реактивності судин, і, як наслідок, підвищенню рівня фізичної працездатності організму.

Перспективи подальшого дослідження зумовлюють довести важливу роль оксиду азоту в забезпеченні адаптації до фізичних навантажень серед здорових осіб різної статі та з різним рівнем фізичної працездатності, визначити особливості стану системи синтезу NO в осіб з різним рівнем адаптації до фізичних навантажень та основні закономірності змін у даній системі при зміні фізичної працездатності.

Висновки

Аналіз результатів дослідження дозволив констатувати існування сильного кореляційного зв'язку між рівнем фізичної працездатності і дослідженими біохімічними параметрами, що характеризують функціональний стан системи синтезу оксиду азоту: для високотренованих осіб, незалежно від статі, характерним є сильний позитивний кореляційний зв'язок вPWC₁₇₀ з величинами активності конститутивної та сумарної NOS, нітратредуктази, концентрації нітрит-аніона, їхньої частки в загальному пулі стабільних метаболітів оксиду азоту (R=+0,6 – +0,7) і сильний від'ємний зв'язок зі значеннями активності індукційної NOS, аргінази, частки індукційної NOS у загальному пулі NO-синтази і вмісту нітрат-аніона (R= -0,6 – -0,7).

1. *Абакумов М.М.* Оксид азота и свертывающая система крови в клинике / М.М. Абакумов, П.П. Голиков // Вестник Российской АМН. – 2005. – № 10. – С. 53–56.
2. *Богдановська Н.В.* Особливості обміну аргініну й синтезу оксиду азоту в юнаків при адаптації до фізичних навантажень у тренувальному та змагальному періоді / Н.В. Богдановська, А.В. Коцюрба, М.В. Маліков // Фізіологічний журнал. – 2011. – Т. 57, № 1. – С. 37–40.
3. *Братусь В.В.* Оксид азота как регулятор защитных и гомеостатических реакций организма / В.В. Братусь // Український ревматологічний журнал. – 2003. – № 4 (14). – С. 3–11.
4. *Гавриш А.С.* Морфология дисфункции сосудистого эндотелия при хроническом стрессе и атерогенезе / А.С. Гавриш // Український кардіологічний журнал. – 2005. – № 1. – С. 91–95.
5. *Журавлева И.А.* Роль окиси азота в кардиологии и гастроэнтерологии / И.А. Журавлева, И.А. Мелентьев, Н.А. Виноградов // Клин. мед. – 1997. – Т. 75. – № 4. – С. 18–21.
6. *Карпман В.Л.* Спортивная медицина: учеб. для ин-тов физ. культ. / В.Л. Карпман – М.: Физкультура и спорт, 1980. – 349 с.
7. *Марков Х.М.* Оксид азота и сердечно-сосудистая система / Х.М. Марков // Успехи физиологических наук. – 2001. – Т. 32. – № 3. – С. 49–65.
8. *Митьков В.В.* Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике / В.В. Митьков, В.А. Сандрикова. – М.: Видар, 1998. – 360 с.

9. *Реутов В.П.* NOсинтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина // Биохимия – 1998. – Т. 63, вып. 7. – С. 1029–1040.
10. *Deedwania P.C.* Endothelin? The bad actor in the play: a marker or cardiovascular disease / P.C. Deedwania // J Am. Coll Cardiol. – 1999. – № 33. – P. 939–942.
11. *Haram P.M.* Adaptation of endothelium to exercise training: insights from experimental studies / P.M. Haram, O.J. Kemi, U. Wisloff // Front Biosci. – 2008. – Jan 1;13. – P. 336–346.
12. *Moncada S.* The L-arginine – nitric oxide pathway / S. Moncada, A. Higgs // New Engl. J. 1993. – 329, № 27. – P. 2002–2012.

Н.В. Богдановская

Запорожский национальный университет, Украина

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК НА АКТИВНОСТЬ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ

Проведен анализ состояния системы синтеза оксида азота, сосудистого эндотелия, физической работоспособности юношей и девушек возрастом 20-25 лет с различной степенью адаптации к физическим нагрузкам. Показано, что высокий уровень физической работоспособности организма обеспечивается выраженными положительными перестройками всех звеньев системы синтеза оксида азота и функционального состояния сосудистого эндотелия и это более выражено у лиц женского пола. Установлена сильная корреляционная зависимость между уровнем физической работоспособности и биохимическими параметрами функционального состояния системы синтеза оксида азота.

Ключевые слова: физические нагрузки, синтазы оксида азота, корреляционная зависимость, юноши, девушки, физическая работоспособность

N.V. Bogdanovskaya

Zaporizhian National University, Ukraine

EFFECT OF PHYSICAL ACTIVITY ON THE ACTIVITY OF ENDOTHELIAL NO-SYNTHASE

The analysis of the nitric oxide synthesis system, vascular endothelium, physical performance of boys and girls 20-25, with varying degrees of adaptation to physical stress. Shown that high levels of physical performance of organism ensured by positive reconstruction of all parts of the nitric oxide synthesis system and the functional state of the vascular endothelium. And it is more pronounced in females. Is established a strong correlation between the level of physical performance and biochemical parameters of the functional state of nitric oxide synthesis system.

Key words: physical stress, nitric oxide synthase, correlation, boys, girls, physical performance

Рекомендує до друку

О.Б. Столяр

Надійшла 26.06.2012

ВПЛИВ ВІТАМІНУ А У РАЦІОНІ ПТИЦІ НА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД КУРЯЧОГО ЯЙЦЯ

Збільшення рівня вітаміну А в раціоні курей батьківського стада сприяло зменшенню в жовтку інкубаційних яєць кількості сумарного вмісту насичених жирних кислот і збільшенню вмісту ненасичених жирних кислот порівняно з контрольною групою. Істотних змін у складі ліпідів жовтка яєць дослідних груп зазнають пальмітинова, лінолева, докозапентаєнова і ейкозапентаєнова жирні кислоти.

Ключові слова: вітамін А, жирні кислоти, індекс насиченості ліпідів, жовток яйця

Вітамін А є ліпофільною сполукою. Проникаючи в клітини, він структурно включається в ліпідну фазу мембран, проявляючи модифікуючу дію на мембранні ліпіди [1]. Нестача цього вітаміну в тканинах тварин порушує секрецію ліпопротеїнів печінки, знижує їх рівень і негативно позначається на обміні ліпідів у організмі в цілому [10, 12]. Крім цього, дефіцит вітаміну А або його попередників у раціоні курей у репродуктивний період є причиною ряду патологій ембріонального періоду розвитку [12].

Відомо, що яйце формується в репродуктивних органах курей як цілісна біологічна система, біохімічний склад якої значною мірою визначає забезпечення енергетичних та пластичних потреб ембріона в процесі його розвитку [9]. Слід відзначити, що найбільш цінним і поживним у інкубаційному яйці вважається жовток [11], в якому містяться близько 99% усіх ліпідів яйця та усі жиророзчинні вітаміни [3].

Тому дослідження особливостей жирнокислотного складу жовтка інкубаційних яєць залежно від рівня вітаміну А у раціоні курей становить науковий і практичний інтерес.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на 4-х групах курей-аналогів 220-добового віку породи Шавер-579 на базі ТзОВ «Чортківська племптахофабрика». Утримання курей кліткове, з вільним доступом до корму і води. Основні параметри мікроклімату в приміщенні: температура повітря 17 °С; відносна вологість повітря 65 %; освітленість тривалістю 17 год в добу з інтенсивністю 17 лк. У кожній групі в окремій клітці було 10 курок і 1 півень.

Птиця упродовж дослідного періоду отримувала стандартний комбікорм, збалансований усіма елементами живлення відповідно до норм [7], з додаванням добавки вітаміну А до раціону курей на 1 тонну в кількості 10 млн. ІО – 2 група, 20 млн. ІО – 3 група, 40 млн. ІО – 4 група, 1 група курей не отримувала добавок вітаміну А і служила як контрольна.

У дослідженнях використовували вітамін А «Мікровіт™ А Супра 500» фірми «Adisseo» у вигляді добавки до комбікорму. Дослідний період тривав 90 днів. Об'єктом дослідження був жовток інкубаційних яєць. Жирнокислотний склад визначали методом газорідинної хроматографії [8]. Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням *t*-критерію Стьюдента [5].

Результати досліджень та їх обговорення

У табл.1. наведено дані щодо впливу вітаміну А в раціоні курей на жирнокислотний склад ліпідів жовтка яєць. Вони свідчать про те, що для ліпідів жовтка яєць, одержаних від курей дослідних груп, характерним було зменшення кількості сумарного вмісту насичених жирних кислот та збільшення вмісту ненасичених жирних кислот у порівнянні з контрольною групою.

Так, вміст насичених жирних кислот у складі ліпідів жовтка яєць 2-ї, 3-ї та 4-ї піддослідних груп по відношенню до контрольної групи зменшувався на 3,3; 8,8 та 11,7 %, тоді як вміст ненасичених жирних кислот зростав на 2; 5,4 та 7,2 % відповідно. Суттєвих змін у

БІОХІМІЯ

складі ліпідів жовтка яєць дослідних груп зазнають пальмітинова ($C_{16:0}$), лінолева ($C_{18:2}$), докозапентаєнова ($C_{22:5}$) та ейкозапентаєнова ($C_{20:5}$) жирні кислоти.

У жовтку яєць дослідних груп порівняно з контрольною групою спостерігається зменшення величини співвідношення насичених жирних кислот до ненасичених, що характеризує індекс насиченості ліпідів [4].

Таблиця 1

Жирнокислотний склад ліпідів жовтка яєць піддослідних груп курей, % ($M \pm m, n=4$)

Код жирної кислоти	Групи			
	1	2	3	4
12:0	0,18±0,02	0,18±0,03	0,18±0,01	0,17±0,03
14:0	0,46±0,03	0,45±0,04	0,44±0,07	0,44±0,02
16:0	27,38±0,7	26,26±0,7	24,26±0,8*	23,21±0,6**
16:1 ω-7	0,48±0,21	0,52±0,14	0,53±0,18	0,56±0,22
18:0	9,83±0,53	9,74±0,39	9,68±0,29	9,62±0,43
18:1 ω-9	40,56±1,02	40,61±0,82	41,26±0,89	42,36±0,79
18:2 ω-6	13,28±0,93	14,13±0,71	15,32±0,76	15,18±0,54
18:3 ω-3	1,06±0,02	1,09±0,03	1,14±0,02*	1,18±0,02**
20:0	0,32±0,03	0,28±0,03	0,27±0,02	0,25±0,01
20:1 ω-9	0,48±0,02	0,52±0,03	0,53±0,03	0,56±0,02*
20:2 ω-9	0,23±0,02	0,24±0,02	0,23±0,02	0,24±0,03
20:3 ω-9	0,37±0,04	0,39±0,03	0,42±0,03	0,42±0,05
20:4 ω-6	1,91±0,08	1,89±0,05	1,86±0,06	1,87±0,06
20:5 ω-3	0,33±0,03	0,39±0,02	0,41±0,02	0,44±0,03*
22:5 ω-3	0,45±0,01	0,58±0,03**	0,65±0,03***	0,67±0,02***
22:6 ω-3	2,12±0,15	2,21±0,08	2,32±0,1	2,35±0,12
24:1 ω-9	0,56±0,02	0,52±0,03	0,5±0,02	0,48±0,01*
Насичені	38,17	36,91	34,83	33,69
Ненасичені	61,83	63,09	65,17	66,31
Мононенасичені	42,08	42,17	42,82	43,96
Поліненасичені	19,75	20,92	22,35	22,35
Індекс насиченості ліпідів	0,62	0,59	0,53	0,51

Примітки: зірочками позначено статистично вірогідні різниці показників дослідних груп відносно контролю: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; – *** – $P < 0,001$

Проведені нами дослідження [2] показали, що рівень вітаміну А у раціоні курей-несучок впливає на загальний вміст ліпідів і фосфоліпідів у сироватці крові та печінці. Відповідно, зростання рівня ненасичених жирних кислот у курячому яйці може бути пов'язано із посиленням синтезом ліпопротеїнів плазми крові у печінці та їх транспортом у яйцепровід, в якому проходить формування яйця.

Висновки

Збільшення рівня вітаміну А в раціоні курей батьківського стада сприяло зростанню в жовтку інкубаційних яєць рівня лінолевої, докозапентаєнної та ейкозапентаєнної ненасичених жирних кислот. Перспективи подальших досліджень вбачаємо у вивченні жирнокислотного складу залишкового жовтка ембріонів та активності десатуразних ферментів за впливу вітаміну А.

1. *Афанасьев Ю.И.* Витамин А – регулирующий фактор процессов гистогенеза / Ю.И. Афанасьев, В.И. Ноздрин, Ю.Т. Волков // *Успехи современной биологии* . – 1990. – Т.110, № 3. – С. 410–418.
2. *Дух О. І.* Сумарний вміст ліпідів та фосфоліпідів у крові та печінці курей при додатковому введенні вітаміну А до раціону/ О. І. Дух, С. О. Вовк // *Вісник Львів. ун-ту. Сер. біологічна*. – 2010. – Вип. 53. – С. 3–8.

3. Дядичкина Л. Качество яиц – залог успешной инкубации / Л. Дядичкина // Птицеводство. – 2008. – № 3. – С. 21–23.
4. Кольман Я. Наглядная биохимия. 2-е изд.: Пер. с нем./ Я. Кольман, К.-Г. Рём – М.: Мир, 2004. – 469 с.
5. Кучеренко М. Є. Сучасні методи біохімічних досліджень/ М. Є. Кучеренко, Ю. Д. Бабенюк, В. М. Войціцький. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 424 с.
6. Прокудина Н.А. Методы биологического контроля в инкубации/ Н.А. Прокудина, А.Б. Артеменко, Н.С. Огурцова. – Борки. – 2006. – 107 с.
7. Рекомендації з нормування годівлі сільськогосподарської птиці / Під ред. Ю. О. Рябоконя. – Бірки : НТМТ. – 2005. – 101 с.
8. Тонкослойная и газожидкостная хроматография липидов. Методические указания / [М. Б. Стефаник, В. И. Скороход, О. Г. Елисеєва и др.]. – Львов, 1985. – 27 с.
9. Фисинин В.И. Эмбриональное развитие птицы/ В.И. Фисинин, И.В. Журавлев, Т.Г. Айдинян – М.: ВО «Агропромиздат», 1990. – 239 с.
10. Oliveros L.B. Vitamin A deficiency modifies lipid metabolism in rat liver/ L.B. Oliveros, M.A. Domeniconi, V.A. Vega // Br. J Nutr. – 2007. – V. 97, N. 2. – P. 263–272.
11. Speake B.K. The utilization of yolk lipids by the chick embryo/ B.K. Speake, R.C. Noble, A.M.B. Murray // World's Poultry. Science Journal. – 1998. – V. 54, N 3. – P. 319–334.
12. Vega V. A. Effect of nutritional vitamin A deficiency on lipid metabolism in the rat heart: Its relation to PPAR gene expression/ V. Vega, A. Anzulovich, S. Varas // Nutrition. – 2009. – V. 25, N.7. – P. 828–838.

О.И. Дух

Кременецкий областной гуманитарно-педагогический институт им. Тараса Шевченко

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА А В РАЦИОНЕ ПТИЦЫ НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ КУРИНОГО ЯЙЦА

Увеличение уровня витамина А в рационе кур родительского стада способствовало уменьшению в желтке инкубационных яиц количества суммарного содержания насыщенных жирных кислот и увеличению содержания ненасыщенных жирных кислот по сравнению с контрольной группой. Существенных изменений в составе липидов желтка яиц опытных групп испытывают пальмитиновая, линолевая, докозапентаеновая и эйкозапентаеновая жирные кислоты.

О. I. Dukh

Kremenets regional humanitarian-pedagogical institute named after Taras Shevchenko, Ukraine

INFLUENCE OF VITAMIN A IN THE DIET OF POULTRY ON FATTY ACID COMPOSITION OF EGG

It has been established that the increase of Vitamin A amount in the diet of hens' parent brood caused the reduction of the total content of saturated fatty acids in egg-yolks of embryos and the increase of the amount of unsaturated fatty acids as compared to the control group. Palmitic, linoleic, docosapentaenoic, eicosapentaenoic fatty acids undergo significant changes in the structure of the egg-yolk's lipids. The decrease of amount of correlation of saturated fatty acids to unsaturated is observed in the egg-yolks of experimental groups as compared to the control group and characterizes the index of lipid saturation.

Key words: vitamin A, fatty acids, saturation, index of lipids, egg-yolk

Рекомендує до друку

О.Б. Столяр

Надійшла 11.04.2012

УДК: 616-002.77:612.1:57.088.6

У.П. ЄФРЕМОВА, Н.Е. ЛИЧКОВСЬКА, Р.В. ФАФУЛА, З.Д. ВОРОБЕЦЬ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, Львів, 79010

ОСОБЛИВОСТІ НІТРООКСИДСИНТАЗНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ АНКІЛОЗИВНОМУ СПОНДИЛОАРТРИТІ

У статті наведено результати досліджень по вивченню ензиматичної активності нітрооксидсинтази лімфоцитів периферичної крові у донорів і хворих на анкілозивний спондилоартрит. Показано, що за умов розвитку ревматичної патології активність ендотеліальної форми ензиму знижується, а індукцйбельної – різко зростає в порівнянні з практично здоровими донорами. Після проведеного лікування хворих у стаціонарі спостерігається наближення NO-синтазної активності до її контрольних значень.

Ключові слова: NO-синтаза, оксид азоту, ревматичні захворювання, анкілозивний спондилоартрит, лімфоцити

Ревматичні захворювання (РЗ) у всьому світі розглядають як одну з найпоширеніших патологій сучасного суспільства. За тяжкістю перебігу та вибору адекватного лікування вони одні з найскладніших [16]. Більшість хронічних запальних РЗ опосередковані в тому чи іншому ступені імунними порушеннями. Імунокомплексний процес багатокomпонентний, зв'язаний з особливостями і біологічними властивостями антигену і антитіл, їх співвідношенням і фізико-хімічними характеристиками. В основі цього процесу лежать генетично детерміновані аутоімунні процеси, виникненню яких сприяє дефіцит Т-супресорної функції лімфоцитів. Розвиток імунокомплексних процесів завжди супроводжується різноманітністю циркулюючих і локально депонуючих імунних комплексів (ІК). Однак, загальні закономірності механізмів імунокомплексних процесів зберігають визначальне значення, а специфіка хвороби залежить від властивостей ІК.

Проведені наукові дослідження останнього часу засвідчують, що процеси утворення та відкладання імунних комплексів залежать від рівня оксиду азоту (NO) в організмі та індукції активних форм кисню [18]. Тому імунорегуляторна роль оксиду азоту в імунокомплексних процесах та її вплив на міжклітинну кооперацію ефektorних і мішеневих клітин є об'єктом ґрунтового вивчення участі NO-залежних механізмів у розвитку РЗ.

Утворення NO в організмі людини здійснюється в результаті окиснення атому азоту, що входить до складу амінокислоти L-арґініну під дією ензиму - нітрооксидсинтази (NOS). Виділяють три її ізоформи: нейрональну – NOS I (nNOS), індукцйбельну (макрофагальну) - NOS II (iNOS) й ендотеліальну - NOS III (eNOS). Конститутивні ізоформи синтази NO (nNOS, eNOS) забезпечують синтез NO в фізіологічних умовах. iNOS в фізіологічних умовах неактивна. Синтез її відбувається у відповідь на дію патогенних стимулів [6, 9, 11, 12, 15, 19, 21]. Тому особливості функціонування і механізми регуляції індукцйбельної ізоформи NOS залежать від характеру паталогічного процесу і ураженого органу [15].

Як конститутивні, так і індукцйбельна ізоформи NO-синтази мають відношення до продукції оксиду азоту в ранній фазі запалення, при цьому проявляється їх прозапальний ефект. Пізня фаза запалення зв'язана з локальною лейкоцитарною активністю та інфільтрацією. В її розвиток вносить вклад тільки NO, продукований за участю iNOS, локалізованої в лейкоцитах [15].

Дослідження ензиматичного ряду лімфоцитів широко використовують при вивченні аутоімунних, імунодіфіцитних, лімфопроліферативних та інших захворювань. Тому лімфоцити периферичної крові (ЛПК) можуть бути актуальною моделлю для вивчення певних патоморфологічних і біохімічних змін, які мають місце при ревматичних захворюваннях.

Мета роботи – оцінити зміни ензиматичної активності ендотеліальної та індукцибельної ізоформ NO-синтази у лімфоцитах периферичної крові донорів та хворих на анкілозивний спондилоартрит (АС) до та після лікування.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на лімфоцитах периферичної крові хворих, які перебували на стаціонарному лікуванні у ревматологічному відділенні Львівської обласної клінічної лікарні. Групу контролю становили практично (клінічно) здорові донори, репрезентативні за віком і статтю

Моноядерні ЛПК людини виділяли з гепаринізованої свіжоотриманої венозної крові хворих і донорів у градієнті густини фікол-тріумбразу ($\rho = 1,08 \text{ г/см}^3$) [17]. Підраховували клітини у камері Горяєва, використовуючи як барвник 0,1% трипановий синій. Цілісність і життєздатність лімфоцитів, яка в усіх дослідах становила не менше 95%, оцінювали за забарвленням трипановим синім [20].

Визначення ензиматичної активності NO-синтази проводили на пермеабілізованих сапоніном ЛПК. Сапонін належить до групи речовин амфільної природи, що здатні зв'язуватися з мембранними білками гідрофобними зв'язками, одночасно взаємодіючи полярними групами з водою [3]. Це дає змогу молекулам детергенту розпушувати мембрану, водночас не порушуючи структури і функцій транспортувальних систем [14]. Для пермеабілізації мембран ЛПК та розкриття активності NO-синтази до суспензії лімфоцитів додавали сапонін доведеної до кінцевої концентрації 0,2%. Дана методика ґрунтується на роботах, виконаних на еритроцитах, лімфоцитах і сперматозоїдах по вивченню йон-транспортувальних систем клітини раніше [8, 10]. Така модель також була успішно апробована при вивченні транспортувальних систем ЛПК (Na^+ , K^+ -АТФази, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази) та інших клітин [7].

Для тестування активності NO-синтази аліквоти пермеабілізованих сапоніном лімфоцитів інкубували в субстратній суміші наступного складу: трис- HCl – 0,08 М (рН 7,4), CaCl_2 – 10 мМ, L-аргінін – 0,15 мМ, $\text{NADPH}(\text{H}^+)$ – 0,12 мМ. Контрольні та безсубстратні зразки готували аналогічно до дослідних, але вони замість $\text{NADPH}(\text{H}^+)$ та L-аргініну містили бідистильовану воду. Дослідні проби спектрофотометрували проти контрольних та безсубстратних зразків при 340 нм, після чого їх інкубували протягом 20 хв при 37°C. Реакцію зупиняли внесенням до реакційного середовища HClO_4 (1,5 М). Активність NO-синтази виражали в наномолях окисненого $\text{NADPH}(\text{H}^+)/\text{хв}$ на 1 мг загального протеїну у пробі [5]. Вміст білка у лімфоцитарній суміші визначали методом Лоурі [22].

Експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики. Варіаційно-статистичне опрацювання отриманих результатів проводили з використанням критерію Ст'юдента (t) за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 2003.

Результати досліджень та їх обговорення

На сьогодні доказана ключова роль NO в регуляції імунних реакцій організму і його участь практично на кожному етапі розвитку запалення. NO здійснює як прозапальну, так і протизапальну роль. Це зв'язано з тим, що розвиток запалення детермінований генерацією NO, синтезованого за участю iNOS. Одночасно NO-синтаза контролює біосинтез IL4, IL11, IL13, які відносяться до інгібіторів запальної реакції. Зміни інтенсивності синтезу NO притаманні організмам за дії різних факторів і змін умов середовища, оскільки ця багатофункціональна ефекторна молекула в багатьох випадках сприяє адаптації різних систем організму до шкідливих факторів впливу [2].

Різними авторами показана значна варіабельність ензиматичної активності NO-синтази ЛПК, що може бути обумовлено різноманітними методологічними підходами до вивчення активності ензиму [2, 4, 13].

В результаті проведених нами раніше досліджень з вивчення активності аргінази в ЛПК, яка конкурує з NO-синтазою за L-аргінін, у хворих на АС встановлено [1] зростання активності ензиму у 3,7 раза порівняно зі здоровими донорами. Після проведеного курсу лікування активність аргінази дещо знижується і наближається до її контрольних значень.

В результаті проведених досліджень з вивчення активності NO-синтази ЛПК встановлено, що активність даного ензиму ЛПК у практично здорових осіб становить $74,6 \pm 6,38$ нмоль NADFH(H⁺)/хв·мг білка (n=15). Так як iNOS в нормі практично відсутня, можна стверджувати про активність eNOS в ЛПК донорів. У хворих на АС ензиматична активність eNOS знижена стосовно донорів і становить $42,2 \pm 4,35$ нмоль NADFH(H⁺)/хв·мг білка (n=15) (рисунок). Одночасно iNOS зростає до $64,2 \pm 6,22$ нмоль NADFH(H⁺)/хв·мг білка.

NO-синтазну активність ЛПК хворих на АС визначали повторно після проведення лікування у стаціонарі. Спостерігається деяке зростання активності eNOS та значне зниження ензиматичної активності iNOS ЛПК хворих на АС. Так, значення eNOS після проведеного лікування становить $60,5 \pm 5,78$ нмоль NADFH(H⁺)/хв·мг білка, а iNOS - $21,67 \pm 2,86$ нмоль NADFH(H⁺)/хв·мг білка (рисунок). Таким чином, можна зробити припущення, що зниження активності iNOS свідчить про незначне відновлення у функціонуванні лімфоцитів як імунокомпетентних клітин після проведеного лікування хворих у стаціонарі.

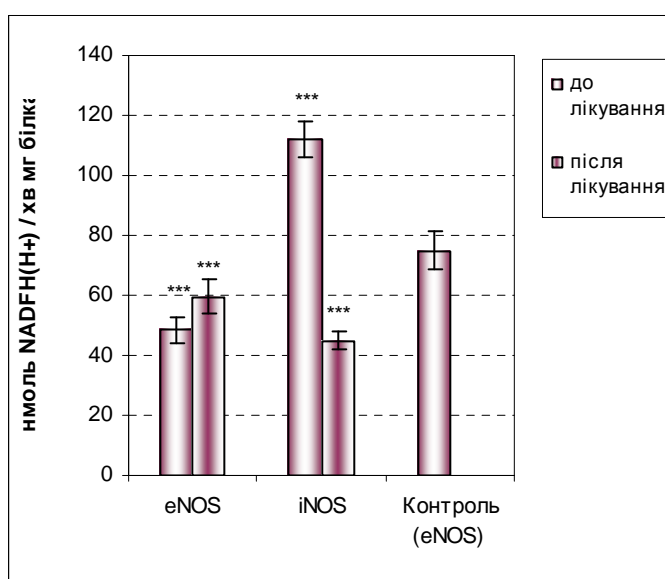


Рис. NO-синтазна активність лімфоцитів периферичної крові у хворих на анкілозивний спондилоартрит, нмоль NADFH(H⁺)/хв·мг білка. (M ± m; n=15); *** різниця статистично достовірна (P<0,001) стосовно величин у лімфоцитах в осіб групи порівняння та стосовно величин у хворих на момент поступлення у стаціонар (у ряді після лікування)

Дослідниками показано, що за умов розвитку ревматичної патології спостерігається достовірне зниження Ca²⁺, Mg²⁺-АТФ-ази плазматичної мембрани та ендоплазматичного ретикулуму в 1,4 раза, що свідчить про зростання концентрації йонізованого кальцію в цитозолі [7]. Зміни ензиматичної активності NOS лімфоцитів периферичної крові у хворих на анкілозивний спондилоартрит може свідчити про зміни функціональної активності лімфоцитів, зумовлені порушеннями метаболічних процесів або можуть опосередковуватись через інші регуляторні механізми клітини.

Висновки

В результаті проведених досліджень встановлено достовірне зниження активності ендотеліальної форми та зростання індукцибельної форми NOS в ЛПК хворих на АС у порівнянні з практично здоровими донорами. Спостерігається відновлення ендотеліальної і зниження індукцибельної форми ензиму після лікування, що може свідчити про незначне відновлення функціональної активності лімфоцитів до нормального фізіологічного стану.

На сьогоднішній час ведеться активний пошук селективних інгібіторів індукцибельної NO-синтази та індукторів конститутивної NO-синтази, сполук, здатних пролонгувати ефект оксиду азоту и забезпечувати його транспорт до різних органів і тканин. Адекватна корекція гострих запальних процесів інгібіторами NO-синтази має принципове значення, оскільки NO може опосередковано впливати на розвиток ряду хронічних запальних та аутоімунних захворювань, зокрема, ревматичних. Подальше дослідження активності NO-синтази та ролі NO

в нормі та при патології приведе до поглиблення знань про патогенез ревматичних захворювань і появи нових критеріїв їх діагностики і лікування.

1. *Активність* аргінази в лімфоцитах периферичної крові у хворих на ревматоїдний артрит та анкілозивний спондилоартрит / Н.Е. Личковська, Р.В. Фафула, У.П. Єфремова [та ін.] // Світ біології та медицини. – 2011. – № 2. – С. 125–129.
2. *Активність* NO-синтази та вміст стабільних метаболітів оксиду азоту у лейкоцитах периферичної крові щурів при введенні L-аргініну за умов хронічного рентгенівського опромінення / Л. Дацюк, Ю. Перетятко, У. Старанко [та ін.] // Вісник Львівського університету. – 2009. – № 51. – С. 37–42.
3. *Болдырев А.А.* Введение в биомембранологию / А.А. Болдырев. – М.: Изд.-во МГУ, 1990. – 208 с.
4. *Воробець Д.З.* Аналіз змін активності аргінази та NO-синтази в лімфоцитах периферичної крові при порушенні сексуальної функції у чоловіків / Д.З. Воробець, О.В. Коноварт // Практ. медицина: наук.-практ. журн. – 2010. – Т. 16, № 6. – С. 44–49.
5. *Вплив* L-аргініну на функціональну активність ендотелію за умов експериментального цукрового діабету / В. Сагач, О. Присяжна, М. Ткаченко [та ін.] // Фізіол. журн. – 2005. – Т. 51, № 2. – С. 3–7.
6. *Горен А.К.Ф.* Универсальная и комплексная энзимология синтазы оксида азота / А.К.Ф. Горен, Б. Манер // Биохимия. – 1998. – Т.63, № 7. – С. 870–880.
7. *Ензиматична* активність Ca²⁺-транспортувальної, Mg²⁺-залежної АТФази лімфоцитів периферичної крові у хворих на ревматоїдний артрит / Р.В. Фафула, Н.Е. Личковська, У.П. Єфремова [та ін.] // Мед. хімія. – 2011. – Т. 13, № 4(49). – С. 69–72.
8. *Кімакович О.В.* Дія кватеру та пірензепіну на активність транспортних АТФ-аз лімфоцитів периферичної крові / О.В. Кімакович, Н.О. Підковка, З.Д. Воробець // Практична медицина. – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 86–89.
9. *Костогрыз В.Б.* Особенности метаболизма оксида азота у пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемической этиологии с имплантированным электрокардиостимулятором: возможности медикаментозной коррекции блокаторами бета-адренорецепторов / В.Б. Костогрыз, Т.В. Туровская // Укр. мед. часопис. – 2010. – № 5(79). – С. 81–84.
10. *Кочешкова Н.С.* Еозин-чутлива АТРазна активність у сперматозоїдах чоловіків як біохімічний тест на олігозооспермію / Н.С. Кочешкова, З.Д. Воробець // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 2. – С. 45–55.
11. *Манухина Е.Б.* Оксид азота в сердечно-сосудистой системе: роль в адаптационной защите / Е.Б. Манухина, И.Ю. Малышев, Ю.В. Архипенко // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С.16–21.
12. *Манухина Е.Б.* Роль окиси азота в сердечно-сосудистой патологии: взгляд патофизиолога / Е.Б. Манухина, И.Ю. Малышев // Рос. кардиол. ж. – 2000. – № 5. – С. 55–63.
13. *Перетятко Ю.В.* Особливості аргіназного та NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну в лейкоцитах периферичної крові щурів за хронічного рентгенівського опромінення / Ю.В. Перетятко, Н.О. Сибірна // Укр. біохім. журн. – 2009. – Т. 81, № 2. – С. 40–48.
14. *Підковка Н.О.* Дослідження деяких властивостей АТФаз у лімфоцитах крові людини / Н.О. Підковка, З.Д. Воробець, А.Б. Зіменковський // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2002. – Т. 7, № 1. – С. 38–41.
15. *Смирнов В.В.* Рольоксида азота в физиологии и патологии органов и систем / В.В. Смирнов, Г.Е. Горбунов // Педиатрия. – 2010. – Т.89, № 6. – С. S182–S188.
16. *Шуба Н.М.* Невідкладні стани у пацієнтів із ревматичними хворобами: сучасні підходи до лікування / Н.М. Шуба // Укр. ревмат. журн. – 2008. – № 3. – С. 41–48.
17. *Boyum A.* Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood / A. Boyum // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 1968. – V. 21, N 97. – P. 77–79.
18. *Förstermann U.* Endothelial Nitric Oxide Synthase in Vascular Disease / U. Förstermann, T. Münzel // Circulation. – 2006. – V.113. – P. 1708–1714.
19. *Ignarro L.J.* Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview / L.J. Ignarro // J. Physiol. Pharmacol. – 2002. – V.53. – P. 503–514.
20. *Mishell B.B.* Selected Methods in Cellular Immunology / B.B. Mishell, S.M. Shiigi, W.H. Freeman [et al.]. – San Francisco: W.H. Freeman and Company, 1980. – 486 p.
21. *Michel T.* Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? / T. Michel, O.J. Feron // Clin. Invest. – 1997. – V.100. – P. 2146–2152.
22. *Protein* measurement with the Folin phenolreagent / O.H. Lowry, N.L. Rosebrough, A.L. Farr [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265–275.
23. *Role* of arginine metabolism in immunity and immunopathology / E. Peranzoni, I. Marigo, L. Dolcetti [et al.] // Immunobiology. – 2007. – V. 212, N 9–10. – P. 795–812.

У.П. Ефремова, Н.Е. Личковская, Р.В. Фафула, З.Д. Воробець

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина

ОСОБЕННОСТИ НИТРООКСИДСИНТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ АНКИЛОЗИРУЮЩЕМ СПОНДИЛОАРТРИТЕ

В статье приведены результаты исследований по изучению энзиматической активности нитрооксидсинтазы лимфоцитов периферической крови у доноров и больных анкилозирующим спондилоартритом. Показано, что при развитии ревматической патологии активность эндотелиальной формы энзима снижается, а индуцибельной - резко возрастает по сравнению с практически здоровыми донорами. После проведенного лечения больных в стационаре наблюдается приближение NO-синтазной активности к ее контрольным значениям.

Ключевые слова: NO-синтаза, оксид азота, ревматические заболевания, анкилозирующий спондилоартрит, лимфоциты

U.P. Efremova, N.E. Lychkovska, R.V. Fafula, Z.D. Vorobets

Lviv National Medical University, Ukraine

THE PECULIARITIES OF NO-SYNTASE ACTIVITY IN PERIFERAL BLOOD LYMPHOCYTES OF PATIENTS WITH ANKYLOSING SPONDYLITIS

The results of researches concerning enzymatic activity of NO synthase in peripheral blood lymphocytes in donors and patients with ankylosing spondylitis are presented in article. It was shown that under conditions of rheumatic pathology the activity of NOS endothelial form decreases and NOS inducible form drastically increases in comparison with practically healthy donors. After the patients treatment in the hospital the activity of NO synthase activity approaches to its control values.

Key words: NO-synthase, nitric oxide, rheumatic disease, ankylosing spondylitis, lymphocytes

Рекомендує до друку

Надійшла 25.04.2012

О.Б. Столяр

УДК 546.76:678.048

Р.Я. ИСКРА, В.В. ВЛІЗЛО

Інститут біології тварин НААН України

вул. Василя Стуса, 38, Львів, 79034

СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНА, КАТАЛАЗНА ТА NO-СИНТАЗНА АКТИВНІСТЬ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА ВПЛИВУ ЦИТРАТУ ХРОМУ

Досліджували вплив цитрату хрому в дозі 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла щурів на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів, активність ензимів антиоксидантної системи та NO-синтаз у тканинах. Виявлено, що за дії сполуки хрому активність супероксиддисмутази, на противагу вмісту ТБК-активних продуктів перекисного окиснення ліпідів, зменшувалась у мозку і селезінці та збільшувалась в легенях, серцевому і скелетному м'язях. Активність каталази зростала у всіх тканинах тварин дослідної групи. За дії цитрату хрому зростала активність NO-синтаз у тканинах щурів, що обумовлено, в основному, активацією конститутивної NO-синтази. Загалом, сполука хрому проявляла здатність посилювати прооксидантні процеси на початкових етапах своєї дії, що в подальшому супроводжувалося збільшенням активності ензимів антиоксидантного захисту та NO-синтаз та, відповідно, і зниженням рівня продуктів ПОЛ.

Ключові слова: щур, оксид нітрогену, конститутивна NO-синтаза, індукційна NO-синтаза, антиоксидантна система

Оксид нітрогену (NO) синтезується в організмі тварин та людини ензиматично за участю трьох основних ізоформ NO-синтаз: двох конститутивних (cNOS) – нейрональної (nNOS), ендотеліальної (eNOS) і однієї індукційної (iNOS). Він є одним із потужних біорегуляторів, той чи інший ефект якого визначається, передусім, його концентрацією. Фізіологічна кількість NO, яка синтезується cNOS, необхідна для забезпечення процесів вазодилатації, нейротрансмісії, внутрішньоклітинної сигналізації та ін. Значне зростання вмісту цього метаболіту, спричинене активацією iNOS, характерно для реалізації імунної відповіді, розвитку запалення та патологічних процесів, які супроводжуються оксидативним стресом [2].

Встановлено, що інсулін збільшує експресію eNOS в ендотеліальних клітинах аорти людини та стимулює при цьому вивільнення оксиду нітрогену [9]. Підвищений рівень глюкози – гальмує утворення NO. В свою чергу NO опосередковує значну кількість ефектів інсуліну, зокрема стимуляцію транспортування та окиснення глюкози [12]. Показано, що зв'язування інсуліну з рецепторами супроводжується активацією синтезу NO ендотеліальною NOS [14].

Було виявлено, що інсулінорезистентність на клітинному рівні характеризується порушенням передачі інсулінового сигналу на рівні фосфатидилінозитол-3-кінази та протеїнкінази Akt, участь яких є необхідною для транслокації транспортного протеїну GLUT4 і генерації NO. Порушення активності протеїнкінази Akt інактивує дигідроптеринредуктазу і ГТФ-циклогідролазу, що призводить до зниження вмісту тетрагідробіоптерину (BH4) – коензиму, який бере участь у взаємодії NOS з субстратом [8].

Встановлено, що зв'язування інсуліну з рецепторами на поверхні клітин покращує олігопептид хромодулін, у складі якого міститься хром (Cr^{3+}) [23]. Таким чином, хром опосередковано регулює вміст глюкози в крові. Високий рівень глюкози активує процеси ліпопероксидації, змінює активність ензимів антиоксидантного захисту, а також впливає на стан компонентів NO-синтазної системи. Крім цього, хром як метал зі змінною валентністю, може ініціювати як пероксидні процеси [16], так і підвищувати активність антиоксидантної системи [20]. Подвійна дія Cr^{3+} як антиоксиданта, так і прооксиданта може бути обґрунтована його здатністю брати участь в окисно-відновних реакціях [23]. Проте, механізми безпосереднього впливу Cr^{3+} на активність ензимів АОС та NOS мало з'ясовані та потребують вивчення. Тому метою досліджень було встановити вплив цитрату хрому на активність NOS та стан про- і антиоксидантної системи у тканинах щурів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на 12 самцях білих лабораторних щурів масою 180–200 г, згідно з вимогами біоетики, передбаченими положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Тварини перебували у віварії за відповідних умов освітлення, температурного режиму та стандартного раціону. Щурі були поділені на дві експериментальні групи – контрольну і дослідну, по 6 тварин у кожній. Самцям щурів дослідної групи, на відміну від контрольної, до питної води додавали розчин цитрату хрому, з розрахунку 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла. На 30 добу експерименту тварин виводили з експерименту під ефірним наркозом. Матеріалом для досліджень служили тканини щурів: печінка, нирки, мозок, м'язи, легені, серце, селезінка.

Визначення інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) проводили за накопиченням ТБК-активних продуктів (МДА), як описано в роботі [4]. Активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) в гомогенатах щурів визначали за ступенем зниження відновлення нітросинього тетразолію у присутності NADH та феназинметасульфату методом [3], активність каталази (КФ 1.11.1.6) – за швидкістю розпаду пероксиду водню [5]. Сумарну активність NO-синтаз (КФ 1.14.13.39) визначали за кількістю утвореного після інкубації нітрит-аніону (NO_2^-), що визначався за методом Грін [13]. Активність cNOS розраховували як різницю активності сумарної NOS та iNOS.

Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено виражений вплив цитрату хрому в дозі 10 мкг Cr³⁺/кг маси тіла щурів на перебіг перекисних процесів, які оцінювалися за швидкістю і кількістю кінцевих продуктів окиснення – ТБК активних продуктів. Так, за дії сполуки хрому зростає вміст ТБК-активних продуктів (табл. 1) у печінці (на 13,3 %), нирках (на 30,2 %) та селезінці (на 49,1 %). Отримані нами дані підтверджують дослідження інших авторів, які виявили, що хром (Cr³⁺), у зв'язку із здатністю брати участь в окисно-відновних процесах, може викликати збільшення утворення активних форм кисню та розвиток окисного стресу [16]. За таких умов важливе значення має взаємодія супероксид-аніону із NO з утворенням високотоксичного пероксинітриду (ONOO⁻) та зменшення кількості субстрату для функціонування супероксиддисмутази реакції.

Активність супероксиддисмутази (СОД) – антиоксидантного ензиму, що знешкоджує супероксидний радикал, зростає в легенях (на 37,8 %), серцевому (на 11,5 %) та скелетному (на 44,5 %) м'язах.

Відомо, що серцеві та скелетні м'язи є інсулінозалежними тканинами, у клітинах яких відбувається інсулін-стимульоване поглинання глюкози. Взаємодія інсуліну з рецептором спричиняє активацію фосфатидилінозитол-3-кінази та фосфорилування субстрату інсулінового рецептору, що здійснює транслокацію GLUT4 [7]. Таким чином, хром, опосередковано через інсулін, підвищує активність антиоксидантного ензиму – СОД.

Таблиця 1

Показники перекисного окиснення ліпідів та активність ензимів антиоксидантного захисту в тканинах щурів за дії цитрату хрому в дозі 10 мкг Cr³⁺/кг маси тіла (M±m, n=6).

Тканина	Група	ТБК – активні продукти, нмоль / г протеїну	СОД, ум. од	Каталаза, мкмоль/хв на 1 мг протеїну
Печінка	К	3,53±0,23	21,91±2,48	3,70±0,18
	Д	4,07±0,05*	20,81±4,83	6,02±1,02*
Нирки	К	6,10±0,71	12,16±3,18	4,03±0,26
	Д	8,74±0,62**	10,23±3,88	7,45±0,63**
Мозок	К	6,62±0,58	23,03±1,54	6,06±0,75
	Д	7,88±0,56	13,47±3,03*	9,42±0,54*
Селезінка	К	3,17±0,88	15,69±1,85	4,72±0,36
	Д	6,23±0,22*	7,33±0,59**	8,15±1,21*
Легені	К	5,05±0,82	12,29±0,82	4,52±0,25
	Д	3,89±0,39	19,76±2,84**	8,25±0,11***
Серце	К	3,40±0,095	20,15±0,25	4,91±0,32
	Д	3,03±0,21	22,75±0,94**	9,23±0,72**
Скелетні м'язи	К	3,95±0,42	13,76±1,33	3,82±0,64
	Д	3,32±0,33	24,77±1,73**	6,85±0,24**

Примітки: у цій і наступній таблицях: 1) К - контрольна група, Д – дослідна група; 2) вірогідність різниць показників порівняно до контролю: * - p < 0,05; ** - p < 0,01-0,025; *** - p < 0,001.

Проте, активність СОД за дії цитрату хрому знижується у мозку (на 41,5 %) та селезінці (на 53,2 %) (табл. 1). Зниження активності СОД може бути викликане як лігандною блокадою іонів міді чи марганцю відповідно до форми ензиму, так й інгібуванням її синтезу як субстратіндуцибельного ензиму через використання супероксид радикалу на утворення пероксинітриду [1]. Крім цього встановлено, що H₂O₂ впливає на фрагментацію білка-ензиму СОД [19]. Зниження СОД також може бути пов'язане із впливом пероксинітриду, який посттрансляційно модифікує СОД за тирозиновими залишками з утворенням стабільного протеїнозв'язаного комплексу [21].

Динаміка утворення продуктів ПОЛ контролюється іншим ензимом антиоксидантної системи – каталазою, яка розщеплює H₂O₂, що утворюється в результаті дисмутації супероксидного радикалу. У результаті проведених досліджень встановлено вплив цитрату хрому на зростання активності каталази в тканинах щурів (табл. 1). Так, активність ензиму зростає у

печінці (на 38,5 %), нирках (на 45, 9 %), мозку (на 35,7 %), селезінці (на 42,1 %), легенях (на 45,2 %), серці (на 46,8 %) та скелетних м'язах (на 44,2 %). У дослідженнях інших авторів також встановлено, що Cr^{3+} підвищує активність каталази в селезінці щурів з гіперліпідемією [10]. Крім цього, було доведено, що Cr^{3+} виявляє регуляторний вплив на експресію генів цього ензиму [11].

Експериментально показано існування складних шляхів регуляції NO-синтазної активності. Встановлено, що всі активні форми NO інгібують функціональну активність NOS протягом каталізу [6]. На противагу цьому, NO_2^- , NO_3^- , L-цитрулін і НАДФ⁺ є у цьому сенсі неефективними. Припускають, що нейрональна NOS зазнає автоінгібування такими ендogenous генерованими молекулами, як NO або прекурсор NO (нітроксил-аніон – NO^-) [15]. Генерований NO^- перетворюється в NO за участі супероксиддисмутази, розкладається до N_2O або реагує з киснем з утворенням $ONOO^-$. Крім цього, встановлено, що NOS можуть інактивуватися H_2O_2 [6]. Каталаза, руйнуючи H_2O_2 , стабілізує NOS.

У проведених експериментальних дослідженнях за дії сполуки хрому встановлено зростання загальної активності NOS у печінці щурів на 94,8% (табл. 2). Таке збільшення обумовлене вірогідною зростаючою активністю cNOS (на 68,5 %) та незначним зростанням iNOS у цій тканині. Зростання активності cNOS, очевидно, може привести до підвищення рівня циклічних нуклеотидів, що супроводжуватиметься позитивними змінами функціональної активності гепатоцитів, моноцитів та ендотеліоцитів. Проведені дослідження показали, що цитрат хрому, очевидно, покращує біохімічний стан гепатоцитів і виявляє імуносупресивний, протизапальний, цитопротекторний і ендотеліостабілізуючий ефекти.

Таблиця 2

Активність NO-синтаз в тканинах щурів за дії цитрату хрому в дозі 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла, пмоль NO_2^- mg^{-1} протеїну xv^{-1} ($M \pm m$, $n=6$).

Тканина	Група	NOS	iNOS	cNOS
Печінка	К	3,49±0,44	1,11±0,30	2,38±0,21
	Д	6,80±0,31***	1,81±0,35	4,01±0,45**
Селезінка	К	5,11±0,52	1,27±0,05	3,84±0,49
	Д	5,70±0,61	1,91±0,26	3,92±0,36
Нирка	К	1,76±0,33	0,34±0,04	1,42±0,28
	Д	3,97±0,39***	0,81±0,16**	2,60±0,24**
Легеня	К	9,90±0,75	1,21±0,26	8,68±0,61
	Д	12,71±0,86*	2,01±0,28	10,70±0,67*
Мозок	К	19,01±1,12	1,98±0,41	17,02±1,22
	Д	28,54±1,24***	2,14±0,27	26,46±1,27***
Серце	К	15,04±1,28	1,21±0,01	13,81±1,27
	Д	12,58±1,42	1,33±0,45	10,60±1,46
Скелетні м'язи	К	19,82±1,28	1,51±0,64	18,30±1,13
	Д	21,60±1,24	2,05±0,10	19,54±1,13

Як відомо, оксид нітрогену, синтезований cNOS, відповідальний за забезпечення нормального кровотоку та міжклітинної взаємодії у тканині печінки, у той час як NO, що продукується iNOS, може бути причетним до її пошкодження. Так, у хворих на алкогольний цироз печінки, вірусний гепатит та холестаза не спостерігалось істотних змін активності cNOS у тканинах печінки, проте суттєво зростала активність iNOS [17].

У селезінці щурів – паренхіматозній тканині, яка відіграє важливу роль у кровотворенні та захисних реакціях організму, за дії цитрату хрому не спостерігалось вірогідних змін активності NOS (табл. 2).

У нирках активність загальної NOS у тварин дослідної групи збільшується на 125,5 %, що обумовлено зростанням активності cNOS (на 83,1%) та iNOS (на 138,2 %) у цій тканині (табл. 2).

Відомо, що в нирках cNOS залучена в процеси гемодинаміки, а її дисфункція може викликати інтрагломерулярну гіпертонію [22]. Таким чином, зростання активності cNOS за дії Cr^{3+} свідчить про покращення циркуляції крові в нирках та їх функціональної здатності. У той

же час підвищення активності iNOS свідчить про стимуляцію її синтезу медіаторами запалення.

Оксид нітрогену, який синтезується iNOS, переважно перетворюється у пероксинітрил, який одночасно з іншими радикалами (супероксидним, гідроксильним, радикалами жирних кислот та іншими) активізує процеси ПОЛ, про що свідчить підвищення вмісту ТБК-активних продуктів у печінці, селезінці, нирках і мозку.

У легенях щурів за дії цитрату хрому спостерігаємо зростання активності загальної NOS на 28,4%, cNOS – на 23,3 % та iNOS – на 66,1 % (табл. 2). Необхідно сказати, що оксид нітрогену, синтезований у фізіологічних кількостях cNOS, спрямовується на підтримку визначеної рівноваги в синтезі й перетворенні NO у легенях, у той час як NO, що є продуктом iNOS, підсилює запальні зміни в дихальних шляхах [18]. Таким чином, NO відіграє важливу роль у регуляції функцій легень і патофізіології захворювань системи дихання.

У мозку щурів за дії цитрату хрому активність cNOS зросла на 55,5% (табл. 2), що, очевидно, буде посилювати функціональну активність нейронів. Збудження нейронів спричиняє підвищення внутрішньоклітинного рівня Ca^{2+} /кальмодулін, що активують cNOS та стимулюють утворення NO, які в свою чергу, сприяють синтезу цГМФ, здатного впливати на провідність іонних каналів і, таким чином, змінювати електрогенез нейронів [7].

У серцевому та скелетному м'язах щурів активність NOS вірогідно не змінюється за дії сполуки хрому. Проте у скелетному м'язі тварин дослідної групи спостерігається тенденція до зростання активності NOS. Очевидно, незначне підвищення рівня цГМФ за дії NO у м'язі призводить до зниження рівня іонів кальцію в цитозолі клітин і ослаблення зв'язку між міозином і актином, що дозволяє клітинам розслаблятися, тобто приймати початкову форму і розміри.

Результати проведених досліджень вказують, що за дії цитрату хрому в дозі 10 мкг Cr^{3+} /кг маси тіла у тканинах щурів відбуваються системні зміни інтенсивності процесів ліпопероксидації, активності ензимів антиоксидантного захисту та NO-синтазної системи.

Висновки

1. Зростання вмісту ТБК-активних продуктів перекисного окиснення ліпідів у печінці, нирках і селезінці щурів за дії цитрату хрому свідчить про посилення прооксидантних процесів в тканинах на початкових етапах дії сполуки.
2. Зростання активності супероксиддисмутази в легенях, серці та скелетних м'язах і каталази в усіх досліджуваних тканинах тварин дослідної групи, очевидно, може обумовлюватися зростанням експресії генів антиоксидантних ензимів та впливом хрому на їх активність.
3. Зростання активності NO-синтаз за дії цитрату хрому в печінці, нирках, легенях і мозку обумовлено підвищенням активності конститутивної NO-синтази, яка, в свою чергу, регулюється інсуліном. Активація NO-ергічної системи за дії цитрату хрому може забезпечити ефективний антистресорний захист та підвищити адаптаційні можливості організму.

1. Годованець О.І. Стан прооксидантної системи та системи антиоксидантного захисту ротової рідини у дітей із клінічними проявами гінгівіту за умов надмірного надходження в організм нітратів / О.І. Годованець, М.М. Рожко, А.М. Ерстенюк // Буковинський медичний вісник. – 2007. –11, №2. – С. 31-33.
2. Гула Н. М. Вплив N-стеароїлетаноламіну на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в аорті та серці щурів із стрептозотоніндукованим діабетом / Н. М. Гула, Г. В. Косякова, А. Г. Бердишев // Укр. біохім. журн. – 2007. – 79, № 5. – С.153–158.
3. Дубинина Е. Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, Л. Я. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // Лаб. дело. – 1983. – № 10. –С. 30–33.
4. Коробейникова С. Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК / С. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. –№ 7. – С. 8–9.
5. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А.Королюк, Л. И. Иванова, И . Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. –С. 16–18.
6. Сибірня Н. О. Молекулярні механізми депонування оксиду азоту в еритроцитах / Н. О. Сибірня, М. Я. Люта, Н. І. Климишин //Біологічні Студії. – 2010. – 4, №1 – С. 143–160.
7. Сосунов А. А. Оксид азота как межклеточный посредник / А.А. Сосунов // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – 6, № 12. – С. 27–34

8. *Akamine E.H.* Correction of endothelial dysfunction in diabetic female rats by tetrahydrobiopterin and chronic insulin / E.H. Akamine, E.M. Kawamoto, C. Scavone [et al] // *J. Vasc. Res.* – 2006. – 43, №4. – P. 309–320.
9. *Aljada A.* Effect of insulin on human aortic endothelial nitric oxide synthase/ A. Aljada, P. Dandona // *Metabolism.* –2000. – 49. –P.147–150.
10. *Atac I.A.* The effect of combined treatment with niacin and chromium (iii) chloride on the different tissues of hyperlipemic rats. drug and chemical toxicology / I.A. Atac, A. Peksela, R. Yanardag [et al] // *Drug and chemical toxicology.* – 2006. – 29, № 40. – P. 363–377.
11. *Chen W.Yi.* Chromium attenuates hepatic damage in a rat model of chronic cholestasis / W.Yi. Chen, C. Ju. Chen, J.W. Liao. [et al] // *Life Sciences.* – 2009. – Vol. 84. – P. 606–614.
12. *Gao F.* Nitric Oxide Mediates the Antiapoptotic Effect of Insulin in Myocardial Ischemia-Reperfusion / F. Gao, E. Gao, T. L. Yue [et al] // *Circulation.* – 2002. – 105 (12). – P. 1497–1502.
13. *Green L. C.* Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids / L.C. Green, A.W. David, J. Glogowski [et al] // *Anal. Biochem.* – 1982. – Vol. 126, № 1. – P. 131–138.
14. *Kahn N. N.* Nitric oxide: The “second messenger” of insulin / N. N. Kahn, K. Acharya, S. Bhattacharya [et al] // *IUBMB Life.* – 2000. – 49. – P. 440–450.
15. *Kotsonis P.* Autoinhibition of neuronal nitric oxide synthase: distinct effects of reactive nitrogen and oxygen species on enzyme activity/ P. Kotsonis, A. Frey, L. Frohlich [et al] // *Biochem. J.* – 1999. – 340. –P. 745–752.
16. *Lushchak O.V.* Trivalent chromium induces oxidative stress in goldfish brain / O.V. Lushchak, O.I. Kubrak, I.M. Torous [et al] // *Chemosphere.* – 2009. – 75 – P. 56–62.
17. *Mc.Naughton L.* Distribution of nitric oxide synthase in normal and cirrhotic human liver / L. Mc.Naughton, L. Puttagunta, M.A. Martinez-Cuesta [et al] // *PNAS.* – 2002. – 99, №26. – P. 17161–17166.
18. *Moncada S.* The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway/ S. Moncada, A. Higgs // *N. Engl. J. Med.* – 1993. – 329. – P. 2002–2012.
19. *Ookawara T.* Site-specific and random fragmentation of Cu,Zn-superoxide dismutase by glycation reaction. Implication of reactive oxygen species / T. Ookawara, N. Kawamura, Y. Kitagawa // *J. Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 267, № 26. – P.18505–18510.
20. *Preuss H.G.* Comparative effects of chromium, vanadium and gymnema sylfestre on sugar-induced blood pressure elevations in SHR. / H.G. Preuss, S.T. Jarrell, R.Scheckenbach [et al] // *J. Am. Coll. Nutr.* – 1998. – 17. – P. 116–123.
21. *Schiropoulos I.* Biological selectivity and functional aspects of protein tyrosine nitration / I. Schiropoulos // *Biochem. Biophys Res. Commun.* – 2003. – 305, № 3. – P. 776–783.
22. *Shelton J. L.* Inducible NO synthase (iNOS) in human neutrophils but not pulmonary microvascular endothelial cells (PMVEC) mediates septic protein leak in vitro/ J. L. Shelton, L.Wang, G. Cepinskas [et al] // *Microvasc. Res.* – 2007. – Vol. 74, № 1. – P. 23–31.
23. *Vincent J. B.* The Nutritional Biochemistry of Chromium (III) / Vincent J. B. – Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. – 277 p.

Р.Я. Искра, В.В. Влизло

Институт биологии животных НААН, Львов, Украина

СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНАЯ, КАТАЛАЗНАЯ И NO-СИНТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ТКАНЯХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ЦИТРАТА ХРОМА

Исследовали влияние цитрата хрома в дозе 10 мкг Cr³⁺/кг массы тела крыс на содержание продуктов перекисного окисления липидов, активность ферментов антиоксидантной системы и NO-синтаз в тканях. Установлено, что при действии соединения хрома активность супероксиддисмутазы, в противоположность содержанию ТБК-активных продуктов перекисного окисления липидов, уменьшалась в мозге и селезенке и увеличивалась в легких, сердечной и скелетной мышцах. Активность каталазы возрастала во всех тканях животных опытной группы. При действии цитрата хрома возрастала активность NO-синтазы в тканях крыс, которая обусловлена, в основном, активацией конститутивной NO-синтазы. В общем, цитрат хрома проявляет способность усиливать прооксидантные процессы на начальных этапах своего действия, которые в дальнейшем сопровождаются увеличением активности ферментов антиоксидантной защиты и NO-синтазы, и соответственно и снижением уровня продуктов ПОЛ.

Ключевые слова: крыса, оксид азота, конститутивная NO-синтаза, индуцибельная NO-синтаза, антиоксидантная система

R.Ja. Iskra, V.V. Vlislo

Institute of Animal Biology NAAN, Lviv, Ukraine

SUPEROXIDE DISMUTASE, CATALASE AND NO-SYNTHASE ACTIVITY IN RAT TISSUES UNDER IMPACT OF CHROMIUM CITRATE

The effect of chromium citrate (dose of 10 $\mu\text{g Cr}^{3+}$ / kg body weight) on the content of lipid peroxidation products, activity of antioxidant enzyme systems, as well as NO-synthase in tissues was studied. Under the experimental exposure of chromium compounds superoxide dismutase activity, in contrast to MDA-active products of lipid peroxidation, decreased in brain and spleen, and increased in the lungs, heart and skeletal muscle. Catalase activity increased in all tissues of animals of research group. In experimental condition the activity of NO-synthase increased in rat tissues, which is caused mainly by activation of constitutive NO-synthase. Generally, the effect of chromium citrate shows the ability to enhance oxidative processes in the early stages of exposure in the following accompanied by increasing of enzyme activity of antioxidant protection, NO-synthase activity and correspondingly decreasing of the level of lipid peroxidation products.

Key words: rat, nitrogen oxide, constitutive NO-synthase, inducible NO-synthase, antioxidant system

Рекомендує до друку

О.Б. Столяр

Надійшла 26.01.2012

ІСТОРИЯ НАУКИ. ПЕРСОНАЛІЇ

ЕРАСТ АНАТОЛІЙОВИЧ ГОЛОВКО: НАУКОВА СПАДЩИНА (до 75-річчя від дня народження)



ПРОФЕСОР ЕРАСТ АНАТОЛІЙОВИЧ ГОЛОВКО

«Безліч людей шукають свій життєвий шлях, та небагатьом вдається не лише знайти його, а й зберегти відданість обраній справі». Повною мірою ця думка, висловлена стародавнім філософом, стосується талановитої та непересічної особистості – Ераста Анатолійовича Головка.

9 травня 2012 р. виповнилось би 75 років від дня народження відомому вченому-фізіологу рослин і мікробіологу, доктору біологічних наук, професору Головку Ерасту Анатолійовичу.

Е.А. Головка народився в 1937 р. в м. Біла Церква Київської області в сім'ї службовця, де праця завжди була в пошані. Змалечку батьки прищепили відповідальність та працьовитість своєму синові.

У 1954 р. Ераст Анатолійович закінчив Білоцерківську середню школу №9. Трудову діяльність розпочав хроміровщиком Білоцерківського ремонтно-механічного заводу "Сільмаш". В 1961 р. закінчив Білоцерківський сільськогосподарський інститут за фахом "агрономія" і здобув кваліфікацію "вчений агроном". Впродовж трьох років майбутній учений обіймав посаду заступника головного агронома Шрамківського цукрового комбінату Черкаського цукрбуряктресту (с.м.т. Шрамково Драбовського району, Черкаської області). У 1963 р. Е.А. Головка вступив до аспірантури при Полярно-альпійському ботанічному саду Кольського філіалу АН СРСР (м. Кіровськ, Мурманська обл.), керівником дисертаційної роботи призначено професора М.Б. Ройзіна. Після закінчення аспірантури Ераст Анатолійович працював молодшим науковим співробітником лабораторії мікробіології та ґрунтознавства цієї ж установи. У 1969 р. у Ленінградському сільськогосподарському інституті захистив кандидатську дисертацію на тему "Активизация биологических процессов в торфяных почвах Кольского полуострова как основа повышения их плодородия" і отримав науковий ступінь кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю "ґрунтова мікробіологія".

Е.А. Головка наполегливо підвищував свою кваліфікацію. В 1972 р. закінчив Вищі курси з патентознавства і винахідництва. У 1970–1973 рр. разом із співробітниками наукових установ Кольського філіалу АН СРСР брав участь у виконанні розділу науково-дослідної роботи "Інтенсифікація вилуговування кольорових металів із мідно-нікелевих руд". Зокрема, він досліджував роль тіонових бактерій у вилугованні сульфідних мідно-нікелевих руд і розробляв технологію для напівпромислових випробувань на комбінаті "Північнікель" (м. Манчегорське) Кольського півострова. Отримані результати стали підставою щодо проектування, будівництва і випробування дослідно-промислових установок для вилуговування кольорових металів.

Окриленим повертався у 1973 р. Е.А. Головка на Україну, де продовжив наукову діяльність. Сказано – лиш наполегливому щастить. Так, деякий час (1973–1974 рр.) він працював молодшим науковим співробітником УНДІ спиртової промисловості, а з 1974 р. і до останніх днів життя – у Центральному республіканському ботанічному саду АН УРСР (нині Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України). Тут він обіймав посади молодшого наукового співробітника лабораторії алелопатії відділу фізіології рослин, старшого наукового співробітника, а з 1978 р. по 2005 р. – завідувача відділу фізіології рослин, який пізніше було перейменовано у відділ алелопатії. В 1982 р. йому було присвоєно вчене звання старшого наукового співробітника за спеціальністю "мікробіологія".

Впродовж багатьох років науковий світогляд Е.А. Головка формувався під впливом видатного вченого-фізіолога рослин і ботаніка з світовим ім'ям, фундатора алелопатичної школи в Україні, доктора біологічних наук, академіка АН УРСР, професора Гродзинського Андрія Михайловича. Результати наукових досліджень Ераста Анатолійовича узагальнено у докторській дисертації "Фізіолого-біохімічні основи взаємодії вищих рослин і мікроорганізмів в природних та штучних екосистемах", яку він успішно захистив у 1985 р. і отримав наукову ступінь доктора біологічних наук за двома спеціальностями "фізіологія рослин" та "мікробіологія".

У 1995 р. Ерасту Анатолійовичу було присвоєно вчене звання професора зі спеціальності "фізіологія рослин". Вимогливість і впевненість керівника професор Е.А. Головка поєднував з почуттям власного обов'язку перед людьми. Задля підвищення ефективності роботи завжди

шукав нові форми і методи. Не боявся ламати стереотипи і впроваджувати новації. Робив це впевнено і рішуче.

Під керівництвом і за безпосередньою участю Ераста Анатолійовича вирішено низку наукових та науково-методичних завдань. Вперше отримано нові знання щодо загальної чисельності і ґрунтового складу мікрофлори польових культур, вирішено ряд комплексних науково-прикладних аспектів алелопатичної ґрунтової монокультури сільськогосподарських рослин, а також конструювання надійних та високопродуктивних агрофітосистем. Показано значення мікроскопічних грибів в утворенні фітотоксичних речовин, які накопичуються в ґрунті і негативно впливають на системи життєдіяльності рослин.

Професором Е.А. Головком розроблено програму розвитку фундаментальних напрямів алелопатії і її використання в агроекології. Запропоновано актуальні напрямки науково-дослідних робіт із збереження і відтворення родючості чорноземних ґрунтів України для Національної програми України, а також вивчення алелопатичних властивостей овочевих і ароматичних рослин з метою їх використання як складових компонентів замкнених екосистем.

Вагомим науковим здобутком ученого є обґрунтування перспектив і шляхів створення на основі алелопатично активних сполук вищих рослин й мікроорганізмів фіторегуляторів з гербіцидподібною дією для контролю чисельності сеgetальних видів рослин. У наукових монографіях і статтях висвітлено закономірності формування степових рослинних асоціацій, принципи донорно-акцепторної взаємодії рослин через кореневі виділення, фітонциди та продукти життєдіяльності ґрунтових мікроорганізмів. У роботах Е.А. Головка знайшла втілення у практику його наукова ідея щодо пошуку і реалізації нових сучасних методів й підходів, що сприяло подальшому розвитку фундаментальних напрямків в алелопатії та суміжних галузях біології рослин. Прикладні аспекти алелопатії нині використовують для оздоровлення прикореневого середовища вищих рослин, вивчення наслідків інтенсивної хімізації рослинництва, здійснення екологічної боніфікації основних типів ґрунтів України.

Ераст Анатолійович проводив вагому науково-організаційну і педагогічну роботу. Впродовж багатьох років був членом спеціалізованих вчених рад із захисту докторських (кандидатських) дисертацій при Інституті фізіології рослин і генетики НАН України, Інституті агроекології і біотехнології УААН, Національному ботанічному саду НАН України, заступником академіка-секретаря Відділення загальної біології АН УРСР, віце-президентом, членом Ради Президії, головою секції "Фізіологія живлення рослин" Українського товариства фізіологів рослин, членом товариства мікробіологів України, Ради ботанічних садів і дендропарків України, редколегії журналів "Физиология и биохимия культурных растений", "Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія", ученим секретарем секції "Біологія" Комітету з Державних премій України в галузі науки і техніки, членом Міжнародної алелопатичної асоціації, головою Комітету з присудження Міжнародної премії А.М. Гродзинського за кращу монографію з алелопатії.

Професор Е.А. Головка постійно піклувався про збереження домінуючих наукових напрямків алелопатії в Україні і за її межами. Він був одним із засновників Міжнародного алелопатичного товариства (International Allelopathy Society - IAS, Нью-Делі, Індія, 1994), Міжнародного журналу з алелопатії (Journal of Allelopathy), брав участь у роботі I Міжнародного симпозіуму "Алелопатія в сільському господарстві і в навколишній природі" (Індія, Нью-Делі, 1994), I і III Всесвітніх конгресах з алелопатії (Іспанія, 1996 і Японія, 2002), 210 Національному конгресі Американського хімічного товариства (Чикаго, 1995), Міжнародній конференції Американського фітопатологічного товариства (Роджестер, 1997), IX Тихоокеанському Міжнародному конгресі (Тайвань, Тайпей), Міжнародній конференції Американського товариства ґрунтознавців (США, Міннеаполіс, 2000), тісно співпрацював з вченими США, Чехії, Словачки, Індії, Польщі, зокрема з професором Дж. Уоллером з Оклахомського університету (США). Учений був керівником трьохмісячного стажування професора агрономії Хіранського сільськогосподарського університету С. Нарвала (Індія), приймав професора Мельбурнського університету Р. Вілліса (Австралія) з метою інтенсифікації досліджень у галузі алелопатії.

Е.А. Головка на високому науково-методичному рівні читав лекції з фізіології рослин і мікробіології студентам Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка, Житомирського, Білоцерківського, Уманського аграрних університетів та Уманського педагогічного університету.

Найголовніші риси вченого – відданість науці, ентузіазм, невичерпність енергії, працелюбність, доброзичливість, оптимізм, високий професіоналізм, прагнення нового, сумлінне виконання своїх службових обов'язків, унікальна самоорганізованість, милосердне ставлення до людей та природи. Він любив плекати сад, захоплювався велоспортом, лижами, мистецтвом, історією України, користувався великим авторитетом та повагою в усіх, хто знав його, хто спілкувався з ним й по роботі, і в різних життєвих ситуаціях. Разом з тим Ераст Анатолійович завжди був відкритий для обговорення наукових проблем, умів вислухати своїх опонентів і приділяв їм увагу незалежно від їхнього рангу та позиції. Ніщо не змінило сутність людини, яка усміхалася набагато частіше, ніж гнівалася, яка забувала про себе, коли хтось потребує допомоги.

Е.А. Головка створив визнану школу фізіологів рослин, а вплив його непересічної особистості сприяє зростанню талановитої молоді. Він збагатив науку працями першорядного значення, самостійно і в співавторстві опублікував майже 200 наукових праць, серед яких 7 монографій і навчальний посібник. Е.А. Головку за монографію "Микроорганизмы в аллелопатии высших растений" присуджено Премію ім. М.Г. Холодного АН України, нагороджено медалями "В память 1500-летия Киева", "За трудовую доблесть", "Ветеран труда", багатьма грамотами.

Пішов з життя професор Е.А. Головка 13 грудня 2005 р. у вирі духовного натхнення й творчих задумів і був прийнятий небом, де його зірка буде сяяти вічно. Але він залишився живим в своїх наукових публікаціях, серцях своїх учнів, послідовників, друзів. Автори цих рядків безмежно вдячні долі, що дарувала їм роки плідної праці і спілкування з вченим великої і світлої душі, який збагатив науку новими теоретичними та практичними здобутками. Науково-педагогічна спадщина Е.А.Головка використовується, нею послуговуються нові покоління науковців і студентів.

Порядність, працелюбність, уважне ставлення до людей, прагнення робити добро заслуговують найвищої оцінки і є прикладом наслідування новими поколіннями студентів та молодих науковців.

Пам'ять про знаного українського вченого фізіолога рослин і мікробіолога, професора Головка Ераста Анатолійовича лине щедрістю любові й добра до людей, вона продовжує жити поміж нас, творячи красу людських душ.

170 книг із бібліотеки Е.А. Головка після смерті професора передано до фондів бібліотеки Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України. Тут також можна познайомитись із науковим спадком професора, який у каталозі представлений 117 найменуваннями, наводимо найвагоміші із них.

МОНОГРАФІЇ

1. Головка Э.А., Розенталь А.К., Седельников В.А., Суходрев В.М. Химическое и бактериальное выщелачивание медно-никелевых руд. – Л.: Наука, 1978. – 199 с.
2. Гродзинский А.М., Богдан Г.П., Головка Э.А., Дзюбенко Н.Н., Мороз П.А., Прутенская Н.И. Аллелопатическое почвоутомление. – К.: Наук. думка, 1979. – 247 с.
3. Головка Э.А. Микроорганизмы в аллелопатии высших растений. – К.: Наук. думка, 1984. – 207 с.
4. Головка Э.А., Гродзинский А.М., Горобец С.А. и др. Экспериментальная аллелопатия. – К.: Наук. думка, 1987. – 236 с.
5. Гродзинский А.М., Головка Э.А., Безменов А.Я. и др. Взаимодействие летучих выделений в замкнутой экосистеме – Киев: Наук. думка, 1992. – 127 с.

АВТОРСЬКІ СВДОЦТВА

1. Гродзинський А.М., Безменов А.Я., Головка Э.А. и др. А.с. №1266490, А 017/00. Способ оценки газоустойчивости растений.
2. Гродзинський А.М., Головка Э.А., Безменов А.Я. и др. А.с. №1327835, А 017/00. Способ подбора растений для замкнутой агробиосистемы.

ПАТЕНТИ

1. Деклараційний патент № 200441007991 на корисну модель “Спосіб оцінки симбіотичної азотфіксуючої активності у сортів люпину білого”/ Пида С.В., Головка Е.А., Григорюк І.П., Машковська С.П. – опубл. Бюл. №10. – 17.10.2005. – 4 с.

НАВЧАЛЬНІ ПОСІБНИКИ

1. Гродзинський А.М., Головка Э.А. Биологическое значение почвенных газов – летучие фитотоксины, почва и растения // Роль организмов в газообмене почв: Учебн. пособие. – М., 1986. – С.40–56.

НАУКОВІ СТАТТІ

1. Головка Э.А., Егоров В.И. Физиологические свойства и применение местного штамма *Thiobacillus ferrooxidans* в выщелачивании никеля, меди из забалансовых руд Кольского полуострова // Прикладная биохимия и микробиология, 1972. – Вып.5. – С. 745–751.
2. Головка Э.А. Влияние высших растений на биологическую активность торфяной почвы // Биол. процессы и минеральный обмен в почвах Кольского полуострова. Сб. науч. тр.– 1974. – С. 70–93.
3. Головка Э.А., Егоров В.И. Промышленное испытание бактериального выщелачивания никеля, меди и других компонентов из забалансированных руд Кольского полуострова // Проблемы геотехнологии. – П., – М., 1975. – С. 351–357.
4. Дзюбенко Н.Н., Головка Э.А., Степаненко А.Я., Горобец С.А., Крупа Л.И. Биологическая активность почвы и продуктивность растений в севообороте и бессменных посевах // Проблемы аллелопатии. – К.: Наук. думка, 1978. – С. 80–92.
5. Буколова Т.П., Головка Э.А., Гродзинский А.М. Изучение косвенной аллелопатии: Динамика эпифитной микрофлоры и состав медвяной росы у лип кавказской и мелколистной // Проблемы аллелопатии. – К.: Наук. думка, 1978. – С. 135–145.
6. Гродзинский А.М., Юрчак Л.Д., Головка Э.А., Панчук М.А., Шроль И.С. Сравнительная оценка методов изучения аллелопатического почвоутомления // Фитотоксические свойства почвенных микроорганизмов. – Л., 1978. – С. 53–63.
7. Головка Э.А., Дзюбенко Н.Н. фитотоксичность пожнивных остатков полевых культур // Фитотоксические свойства почвенных микроорганизмов. – Л.: Изд-во ВИСХМ, 1978. – С. 187 – 197.
8. Головка Э.А. Роль микроорганизмов в устойчивом функционировании агрофитоценозов // Проблемы агробиогеоценологии. Сб. тр. – М., 1979. – С. 50–53.
9. Бойко П.І., Головка Е.А., Дзюбенко Н.Н., Поліщук І.С. Вплив біологічних факторів родючості ґрунту на продуктивність культур у сівозміні й безмінних посівах // Землеробство. – 1980. – Вип.51. – С. 84–90.
10. Головка Э.А., Шроль Т.С. Антифунгальная активность фитонцидов некоторых лекарственных растений // Фитонциды. – К.: Наук. думка, 1981. – С. 104–109.
11. Гайдамак В.М., Макаренко П.И., Головка Е.А. Влияние корневых остатков некоторых древесных и кустарниковых растений на рост сеянцев дуба черешчатого // Химическое взаимодействие растений. – К.: Наук. думка, 1981. – С. 71–81.
12. Головка Э.А., Логвинова М.М. Влияние растительных остатков плодовых культур на биологические свойства почвы // Химическое взаимодействие растений. – К.: Наук. думка, 1981. – С. 123–135.
13. Головка Э.А., Шроль Т.С. Динамика ризосферной микрофлоры при непрерывном выращивании овощных культур в искусственных условиях// Химическое взаимодействие растений. – К.: Наук. думка, 1981. – С. 136–145.
14. Кострома Е.Ю., Хохлова И.Г., Головка Э.А. Методика определения фитотоксичности экзометаболитов микроскопических грибов рода *Aspergillus* // Химическое взаимодействие растений. – К.: Наук. думка, 1981. – С.180–186.
15. Головка Э.А., Кострома Е.Ю., Хохлова И.Г. Фитотоксические свойства грибов рода *Aspergillus* // Фитонциды. – К.: Наук. думка, 1981. – С. 163–165.
16. Головка Э.А., Элланская И.А., Кострома Е.Ю. Аллелопатическое почвоутомление и фитотоксические свойства почвенных микроорганизмов // Аллелопатия в естественных и искусств. фитоценозах. – К.: Наук. думка, 1982. – С. 86–95.
17. Головка Э.А., Водопьян Н.С., Приходькова Л.П., Шроль Т.С. Видовой состав водоростей и динамика микроорганизмов в условиях искусственного выращивания растений // Аллелопатия в естественных и искусств. фитоценозах. – К.: Наук. думка, 1982. – С. 77–86.
18. Головка Э.А., Гриб Н.И., Степаненко А.Я. Влияние бессменного выращивания растений на жизнедеятельность микробоценоза // Роль аллелопатии в растениеводстве. – К.: Наук. думка, 1982. – С. 104–118.

19. Гродзинський А.М., Головка Э.А., Безменов А.Я., Барановський В.И. Воздушная аллелопатия сельдерея и капусты листовой Хибинской при выращивании в замкнутом объеме // Докл. АН УССР, Сер. Б. – 1982. – №9. – С. 56–59.
20. Элланская И.А., Головка Э.А., Кострома Е.Ю., Соколова Е.В. Микрофлора ризосферы озимой пшеницы в условиях монокультуры и севооборота // Структура и функции микробных сообществ с различной антропогенной нагрузкой. – К.: Наук. думка. – 1982. – С. 70–73.
21. Головка Э.А., Элланская И.А., Кострома Е.Ю., Хохлова И.Г. Микрофлора ионитной почвы и ее фитотоксические свойства // Микробиол. журнал, 1982. – 44, №4. – С. 44–48.
22. Головка Э.А., Горобец С.А., Яхно В.С. Субстратуотомление и минерализация пожнивных остатков // Роль аллелопатии в растениеводстве. – К.: Наук. думка, 1982. – С. 118–128.
23. Гродзинський А.М., Головка Э.А. Аллелопатические проблемы почвоутомления // Почвоведение. – 1983. – №1. – С. 74–81.
24. Гродзинский А.М., Головка Э.А., Горобец С.А., Мазорчук Л.И. Биологическая активность почвозаменителя (перлита) в условиях искусственного выращивания растений // Докл. АН УССР, Сер. Б. – 1983. – №10. – С. 69–71.
25. Головка Э.А., Дзюбаненко Г.Н., Шроль Т.С., Чернишова М.О. Влияние пожнивных остатков озимых культур на динамику колинов и численности микроорганизмов в черноземной почве / Роль токсинов растит. микробиального происхождения в аллелопатии. – К.: Наук. думка. – 1983. – С. 47–60.
26. Бойко П.И., Головка Э.А. Особенности микробных сообществ ризосферы бессменных посевов полевых культур Лесостепи УССР // Роль токсинов растительного происхождения в аллелопатии. – К.: Наук. думка, 1983. – С. 30–41.
27. Головка Э.А., Горобец С.А., Яхно В.С. Роль микроорганизмов в субстратуотомлении // Роль токсинов растительного и микробиального происхождения в аллелопатии. – К.: Наук. думка, 1983. – С. 9–30.
28. Гродзинский А.М., Головка Э.А. Биологическое значение почвенных газов. Почва – адсорбент и катализатор // Почвенно-агротим. исследования в бот. садах СССР.– Апатиты, 1984. – С. 24–37.
29. Головка Э.А., Горобец С.А., Мазорчук Л.И. Роль органического вещества во взаимодействии высших растений и микроорганизмов в искусственных экосистемах // Физиология и биохимия культ. растений, 1984. – 16, №3. – С. 273–279.
30. Гродзинський А.М., Головка Э.А., Мар'юшкіна В.Я. Антропогенний вплив і ґрунтового кома в степових фітоценозах // Укр. бот. журн. – 1985. – 42, №1. – С. 34–38.
31. Гродзинський А.М., Кваша В.В., Кострома Е.Ю., Головка Э.А. Генетическая активность экзометаболитов высших растений и микроорганизмов в связи с аллелопатией // Докл. АН УССР. Сер. Б. – 1985. – №9. – С. 61–64.
32. Головка Э.А. Физиолого-биохимические основы взаимодействия высших растений и микроорганизмов в естественных и искусственных экосистемах: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук. – 1985. – К.: Институт физиологии растений АН УРСР. – 35 с.
33. Горобец С.А., Головка Э.А. Аллелопатические взаимоотношения в корнеобитаемой среде экологически замкнутых систем // Экспериментальная аллелопатия. – К.: Наук. думка, 1987. – С. 137–174.
34. Головка Э.А., Кострома Е.Ю., Шроль Т.С. Высшие растения и микрофлора в системе биотических взаимоотношений // Экспериментальная аллелопатия. – К.: Наук. думка, 1987. – С. 175 – 206.
35. Головка Э.А. Аллелопатія рослин: історія, теорія, пріоритет // Вісник АН УРСР, 1989. – №8. – С. 38–46.
36. Головка Э.А., Деревянко В.А., Мазорчук Л.И. Биохимический и продукционный аспекты использования конденсата жилого отсека (КЖО) в оранжерейных установках // Физиология и биохимия культ. растений.– 1989. – 21, №6. – С. 548–554.
37. Гродзинський А.М., Миркин В.П., Головка Э.А., Туганев В.В. Методологические проблемы аллелопатии. Сб. науч. тр. – К.: Наук. думка, 1989. – С. 15–28.
38. Головка Э.А., Колосов В.И., Шроль Т.С. Физиологические аспекты функционирования замкнутых экосистем // Методологические проблемы аллелопатии. Сб. науч. тр. – К.: Наук. думка, 1989. – С. 131–145.
39. Головка Э.А., Козеко В.Г., Грахов В.П., Бречко В.Л. Вивчення специфічних речовин ґрунту при моделюванні різної густоти осоту польового (*Cirsium arvense* (L.) Scop.) // Доп. АН УРСР. – 1990. – №5. – С. 71–73.
40. Головка Э.А. Ганс Молиш и современная аллелопатия // Аллелопатия и продуктивность растений. Сб. науч. тр. – К.: Наук. думка, 1990. – С. 14–23.

41. Головкин Э.А., Петренко С.В., Горобец С.А., Крупа Л.И. Изменение некоторых физиолого-биохимических показателей сахарной свеклы в условиях монокультуры // Аллелопатия и продуктивность растений: Сб. науч. тр. – К.: Наук. думка, 1990. – С. 63–68.
42. Марьюшкина В.Я., Головкин Э.А. Роль аллелопатического фактора во взаимоотношениях амброзии полынолистной с горохом посевным // Докл. АН УССР. – 1991. – №6. – С. 148–151.
43. Головкин Э.А. Микробиологические аспекты агрофитоценологии // Круговорот аллелопатически активных веществ в биогеоценозах: Сб. науч. тр. – Киев: Наук. думка, 1992. – С. 9–21.
44. Головкин Э.А., Кавеленова Л.М. О концепции аллелопатической толерантности растений // Физиология и биохимия культ. растений. – 1992. – 24, №5. – С. 439–447.
45. Головкин Э.А., Ельченко Н.А., Кострома Е.Ю. и др. Аллелопатическая и антифунгальная активность сортов озимой пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. – 1993. – 25, №6. – С. 553–558.
46. Головкин Э.А., Кавеленова Л.М. Вплив алелопатично активних речовин на активність та ізоферментний спектр пероксидази у алелопатично чутливих і толерантних рослин // Физиология и биохимия культ. растений. – 1993. – 25, №2. – С. 181–186.
47. Головкин Э.А., Старченков Ю.П., Пида С.В. та ін. Вплив ризоторфіну та мінерального азоту на симбіотичні властивості люпину жовтого // Физиология и биохимия культ. растений. – 1993. – 25, №4. – С. 352–356.
48. Грахов В.П., Козеко В.Г., Головкин Э.А. Моделирование аллелопатических взаимодействий за лабораторных умов // Укр. бот. журн. – 1993. – 50, №1. – С. 86–93.
49. Головкин Э.А., Быстрицкий В.С., Устьяк С.А., Стройванс Л.Т. Особенности минерального питания сельскохозяйственных растений в условиях радионуклидного загрязнения почв Полесья Украины // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – 26, №2. – С. 160 – 165.
50. Головкин Э.А. Від класичної фізіології рослин до сучасної алелопатії: історико-аналітичний погляд // Наукові записки Тернопільського нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2002. – №3 (18). – С. 92–101.
51. Головкин Э.А., Машковська С.П. Динаміка алелопатичної активності деяких видів *Tagetes L.* // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 1999. – №3 (6). – С. 22–26.
52. Головкин Э.А., Пузик В.К. Аллелопатия и дизайн ландшафтных композиций // Интродукция растений. – 2003. – №1. – С.149–157.
53. Машковська С.П., Головкин Э.А., Григорюк І.П. Фенолкарбонові кислоти видів роду Чорнобривці (*Tagetes L.*) // Доповіді НАН України. – 2003. – №5. – С. 158–161.
54. Головкин Э.А., Пида С.В., Машковська С.П. Донорно–акцепторна взаємодія між кореневими ексудатами проростків люпину і видів родин Злакові та Бобові // Агроєкологічний журнал. – 2003. – №2. – С. 58–60.
55. Машковська С.П., Головкин Э.А., Григорюк І.П., Ніколайчук В.І. Антимікробна активність летких екзометаболітів деяких видів роду Чорнобривці (*Tagetes L.*) // Науковий вісник Ужгородського національного університету. Серія: Біологія. – 2003. – № 9. – С. 199–202.
56. Машковська С.П., Головкин Э.А. Алелопатична активність та біохімічний склад кореневих виділень інтродукованих видів роду *Tagetes L.* // Физиология и биохимия культ. растений. – 2004. – 36, №4. – С.307–314.
57. Пида С.В., Головкин Э.А., Машковська С.П., Григорюк І.П. Акумуляція флавоноїдів у листках сортів люпину білого і жовтого на фоні інокуляції насіння штамми бульбочкових бактерій // Доповіді НАН України. – 2004. – №11. – С. 179–184.
58. Щербаківа Т.О., Головкин Э.А. Фенолкарбонові кислоти видів *Echinacea Moench* та їхня алелопатична активність // Физиология и биохимия культ. растений. – 2004. – 36, №2. – С. 156 – 160.
59. Орел Л.В., Головкин Э.А., Заєць І.М. Алелопатично активні сполуки бур'янових рослин та наукові принципи розробки фіторегуляторів з гербіцидною дією // Интродукция растений. – 2005. – №1. – С. 94–99.
60. Мищенко О.В., Головкин Э.А., Поспелов С.В. Особенности аллелопатической активности эхинаеи пурпурной первого и второго годов вегетации // Интродукция растений. – 2005. – №4. – С. 88–92.
61. Golovko E.A., Grakhov V.P., Shcherbakova T.O. Bioactive Components of Three Purple Cone-Flower Species (*Echinacea*) Cultivated in Ukraine // Euromedia Hannover 2005. Intern. Congress & Exhibit. Hannover. – 2006. – P. 29 – 30.

*С.В.Пида, доктор сільськогосподарських наук
С.П. Машковська, кандидат біологічних наук
І.П.Григорюк, доктор біологічних наук,
член-кореспондент НАН України*

АВТОРИ НОМЕРА

- Барна М.М.** — доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри ботаніки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка (ТНПУ).
- Бобровницький Ю.А.** — аспірант відділу клітинної біології та анатомії Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІБ НАНУ).
- Богдановська Н.В.** — доктор біологічних наук, професор кафедри фізичної реабілітації Запорізького національного університету.
- Влізло В.В.** — академік НААН України, доктор ветеринарних наук, професор, директор Інституту біології тварин НААН України.
- Воробець З.Д.** — доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри медичної біології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (ЛНМУ).
- Гирич В.К.** — старший викладач кафедри зоології Житомирського державного університету імені Івана Франка (ЖДУ).
- Голунова Л.А.** — асистент кафедри біології Вінницького державного педагогічного університету (ВДПУ).
- Григорюк І.П.** — доктор біологічних наук, член-кореспондент НАН України, професор кафедри фізіології, екології рослин і біомоніторингу Національного університету біоресурсів і природокористування України.
- Грубінко В.В.** — доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри загальної біології ТНПУ.
- Гурська О. В.** — асистент кафедри біології та загальної екології Кременецького обласного гуманітарно-педагогічного інституту імені Тараса Шевченка.
- Демченко В.О.** — кандидат біологічних наук, завідувач міжвідомчої лабораторії моніторингу екосистем Азовського басейну Одеської філії Інституту біології південних морів.
- Дух О.І.** — кандидат біологічних наук, декан природничо-технологічного факультету Кременецького обласного гуманітарно-педагогічного інституту імені Тараса Шевченка.
- Єфремова У.П.** — аспірант кафедри медичної біології ЛНМУ.
- Іскра Р.Я.** — кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник лабораторії біохімії, адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН України.
- Клоченко П.Д.** — доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу екологічної фізіології водних рослин ІБ НАНУ.
- Козеко Л.Є.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу клітинної біології та анатомії ІБ НАНУ.
- Кордюм Є.Л.** — доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу клітинної біології та анатомії ІБ НАНУ.
- Кур'ята В.Г.** — доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри біології ВДПУ.
- Курант В.З.** — доктор біологічних наук, професор, декан хіміко-біологічного факультету ТНПУ.
- Личковська Н.Е.** — пошукувач кафедри медичної біології ЛНМУ.
- Луців А.І.** — аспірант кафедри загальної біології ТНПУ.
- Ляврін Б.З.** — аспірант кафедри хімії ТНПУ.

АВТОРИ НОМЕРА

Мацюк О.Б. — аспірант кафедри ботаніки ТНПУ.

Машковська С.П. — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу квітникарства Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України.

Овчаренко Ю.В. — молодший науковий співробітник відділу клітинної біології та анатомії ІБ НАНУ.

Пида С.В. — доктор сільськогосподарських наук, професор кафедри ботаніки ТНПУ.

Ружицька О.Ю. — асистент кафедри медичної біології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.

Семенюк Н.Є. — кандидат біологічних наук, науковий співробітник Інституту гідробіології НАН України.

Сеник Ю.І. — аспірант кафедри хімії ТНПУ.

Синюк Ю.В. — кандидат біологічних наук, асистент кафедри загальної біології ТНПУ.

Стадниченко А.П. — доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри зоології ЖДУ.

Стецула Н.О. — кандидат біологічних наук, викладач кафедри біології Дрогобицького державного педагогічного університету імені І.Франка.

Фафула Р.В. — викладач кафедри біофізики, пошукувач кафедри медичної біології ЛНМУ.

Хоменчук В.О. — кандидат біологічних наук, доцент кафедри хімії ТНПУ.

Шевчук С.Ю. — кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри зоології ЖДУ.

Яворівський Р.Л. — асистент кафедри ботаніки ТНПУ.



Здано до складання 3.09.2012. Підписано до друку 11.09.2012. Формат 60 x 84/18. Папір друкарський.
Умовних друкованих аркушів — 10.4 Обліково-видавничих аркушів — 12.2. Замовлення № 7.
Наклад 300 прим. Видавничий відділ ТДПУ 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2
Свідоцтво про держреєстрацію: КВ № 15884-4356Р від 27.10.2009