ISSN 1857-064X
Categoria B

BULETINUL
ACADEMIEI DE ŞTIINŢE A MOLDOVEI
ŞTIINŢELE VIEŢII

ИЗВЕСТИЯ
АКАДЕМИИ НАУК МОЛДОВЫ
НАУКИ О ЖИЗНИ

JOURNAL
OF ACADEMY OF SCIENCES OF MOLDOVA
LIFE SCIENCES

3 (327)
2015

Chişinău

COLEGIUL DE REDACŢIE

Redactor-şef Teodor FURDUI, academician
Redactor-şef adjunct Ion TODERAŞ, academician
Secretar responsabil Alexandru CHIRILOV, doctor

Gheorghe DUCA, Maria DUCA, Victor LACUSTA, Valeriu RUDIC, Gheorghe ŞIŞCANU, Simion TOMA, Andrei URSU – academicieni

Marian-Traian GOMOIU, membru corespondent al Academiei Române
Victor ROMANENCO, academician al ANŞ a Ucrainei
Mihail ROSCEVSKII, academician al AŞ a FR

Vasile BOTNARI, doctor habilitat, conferenţiar cercetător
Petru CUZA, doctor habilitat, conferenţiar universitar
Murat KIZIL, profesor, Turcia
Laurenţia UNGUREANU - doctor habilitat, profesor cercetător
Larisa ANDRONIC, Liliana CEPOI, Valentina CIOCHINĂ, doctori

Ediţie susţinută de Consiliul Suprem pentru Ştiinţă şi Dezvoltare Tehnologică al AŞM

Adresa redacţiei:

MD - 2028, or. Chişinău, str. Academiei, l, etaj 3, birou 306.
Secţia de Ştiinţe Naturale şi Exacte a AŞM
tel. (+373 22) 72 50 71
E-mail: sbiochim@asm.md; biologia.asm@gmail.com

Tehnoredactare computerizată:
Victor CIOCÂRLAN

Format 70x108 1/16. Tiraj 200
Tipografia AŞM, str. Petru Movilă, 8. MD-2004;
Chişinău, Republica Moldova

COLECTIVELE DE REDACŢIE

FIZIOLOGIA ŞI SANOCREATOLOGIA

redactor – şef **Teodor FURDUI, academician**
redactor – şef adjunct **Valentina CIOCHINĂ, doctor, conferenţiar cercetător**
Victor LACUSTA, academician
Mihail ROSCEVSKII, academician al AŞ a FR (Rusia)
Eugen ŞTIRBU, doctor, conferenţiar cercetător

FIZIOLOGIA ŞI BIOCHIMIA PLANTELOR

redactor – şef **Simion Toma, academician**
secretar responsabil **Anastasia ŞTEFÂRŢĂ, doctor habilitat, profesor cercetător**
Gheorghe ŞIŞCANU, academician
Alexandru DASCALIUC, doctor habilitat, profesor universitar
Gheorghe TUDORACHE, doctor, conferenţiar cercetător

GENETICA, BIOLOGIA MOLECULARĂ ŞI AMELIORAREA

redactor – şef **Maria DUCA, academician**
redactor – şef adjunct **Nicolae BARBACAR, doctor habilitat, profesor cercetător**
secretar responsabil **Larisa ANDRONIC, doctor, conferenţiar cercetător**
Vasile BOTNARI, doctor habilitat, conferenţiar cercetător
Eugenia COTENCO, doctor, conferenţiar cercetător
Maria GONCEARIUC, doctor habilitat, profesor cercetător
Galina LUPAŞCU, doctor habilitat, profesor cercetător

ZOOLOGIA

redactor – şef **Ion TODERAŞ, academician**
redactor – şef adjunct **Laurenţia UNGUREANU, doctor habilitat, profesor cercetător**
secretar responsabil **Livia CALESTRU, doctor, conferenţiar cercetător**
Dumitru MURARIU, m. cor. al Academiei Române (România)
Valerii DERJANSCHI, doctor habilitat, profesor cercetător
Andrei MUNTEANU, doctor, profesor universitar
Serghei A. OSTROUMOV, doctor habilitat, profesor (Rusia)

MICROBIOLOGIA ŞI BIOTEHNOLOGIA

redactor – şef **Valeriu RUDIC, academician**
redactor – şef adjunct **Liliana CEPOI, doctor, conferenţiar cercetător**
secretar responsabil **Vera MISCU, doctor, conferenţiar cercetător**
Victor CROIRORU, doctor (Suedia)
Steliana CLAPCO, doctor, conferenţiar cercetător
Ludmila RUDI, doctor, conferenţiar cercetător
Leonid VOLOŞCIUC, doctor habilitat, profesor cercetător

ECOLOGIA ŞI GEOGRAFIA

redactor – şef **Petru CUZA, doctor habilitat**
redactor – şef adjunct **Maria SANDU, doctor, conferenţiar cercetător**
secretar responsabil **Vasile STEGĂRESCU, doctor, conferenţiar cercetător**
Nicolae BOBOC, doctor, conferenţiar universitar
Ion DEDIU, membru corespondent
Vladimir TODIRAŞ, doctor habilitat, profesor cercetător
Andrei URSU, academician

ARTICOLE DE FOND

РАЗВИТИЕ ПСИХОСАНОКРЕАТОЛОГИИ – ПОТРЕБНОСТЬ ПРАКТИКИ В ПСИХИЧЕСКОМ ОЗДОРОВЛЕНИИ ОБЩЕСТВА (Лекция на пленарном заседании XI-го Международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии”)

Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф.

Институт физиологии и санокреатологии Академии наук Молдовы

Rezumat

Necesităţile practicii în asanarea psihică a populaţiei a devenit o problemă extrem de actuală, ce impune soluţionarea sa ştiinţifică. Acest lucru este condiţionat de: rolul determinator al sănătăţii psihice în progresul tehnico-ştiinţific; tendinţa alarmantă de prevalenţă a tulburărilor psihice şi a bolilor mintale din secolul XX în Europa şi SUA şi prognoza lor dezamăgitoare pentru viitorul apropiat; indicele sporit al anilor de viaţă ajustaţi în funcţie de dezabilitate (DALY), ca rezultat al scăderii numărului de ani sănătoşi de viaţă din cauza bolilor neurologice şi psihiatrice, precum şi formarea spontană a sănătăţii psihice. Potrivit prognozei OMS în 2020 depresia se va plasa pe locul întâi în structura morbidităţii şi va ocupa poziţia de lider printre bolile neinvazive. În plus, ea are o influenţă semnificativă asupra evoluţiei *Homo sapiens*. Cele menţionate relatează despre necesitatea clară a practicii de o abordare nouă în rezolvarea problemei sănătăţii psihice – dezvoltarea direcţiei noi în sanocreatologie – psihosanocreatologia, scopul căreia constă în dezvoltarea bazelor ştiinţifice şi practice a formării şi menţinerii dirijate a sănătăţii mintale, care nu este moştenită, dar se formează în ontogeneză la interacţiunea organismului cu mediul social şi în procesul de învăţare.

Natura ca şi cum, în special, a prevăzut posibilitatea formării sănătăţii psihice de către însuşi societate, drept dovadă la ce pot servi chiar şi modificarea adecvată a perceperii mediului extern şi de orientare în ontogeneză în procesul instruirii. Genotipul individului determină numai conturul potenţialităţii mentale, punerea în aplicare a căruia depinde de condiţiile istorice specifice ale vieţii sociale a subiectului. În absenţa aberaţiilor în programul genetic al organismului, este posibilă formarea dirijată a sănătăţii psihice şi a componentelor sale, prin intermediul unui sistem integrat special de relaţii sociale şi de învăţare. Acest lucru nu se referă la crearea unor şi aceloraşi tipuri de personalităţi, ci şi formarea unui astfel de nivel de sănătate psihică, care ar permite subiecţilor ca psihic uşor şi adecvat să reflecte mediul intern şi extern, să se orienteze corect în acest mediu, să manifeste capacităţi creative şi să reziste intenţiilor şi acţiunilor, ce pot provoca daune sie, societăţii sau naturii.

Cuvinte cheie: estimarea sănătăţii psihice, psihosanocreatologie, nivel de sănătate psihică, procese psihice.

Depus la redacţie 22 septembrie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Ciochină Valentina, Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028, Chişinău, Republica Moldova; e-mail: valentina.ciochina@gmail.com; tel. (+373 22) 73-71-42

Многоуважаемые участники Конгресса!

Считаю своим долгом поблагодарить председателя Оргкомитета Конгресса профессора Елену Владимировну Лосеву и Программный Комитет, за оказанную честь выступить с лекцией на пленарном заседании, которая, на наш взгляд, представляет интерес для всех Вас, ибо она посвящена развитию нового направления в санокреатологии – психосанокреатологии, имеющей своей целью разработку научных основ целенаправленного формирования и поддержания психического здоровья.

Развитие этого направления обусловлено потребностями практики в психическом оздоровлении общества, что стало актуальнейшей проблемой, требующей своего научного решения. Это обусловлено: детерминирующей ролью психического здоровья в развитии научно-технического прогресса; угрожающей тенденцией распространения психических нарушений и психических болезней в XX веке в странах Европы и Америки и неутешительным их прогнозом на ближайшее будущее; высоким индексом потери здоровой жизни (DALY) [8] в результате утраты здоровых лет жизни из-за неврологической и психиатрической патологии, а также, сохранившейся по настоящее время практикой спонтанного формирования психического здоровья. Согласно прогнозу ВОЗ к 2020 году депрессия выйдет на первое место в структуре общей заболеваемости и займет ведущее положение среди неинфекционных болезней. К тому же психическое здоровье оказывает значительное влияние на ход эволюции Homo sapiens. Сказанное свидетельствует об очевидной потребности практики в новом подходе к решению проблемы психического здоровья – развитию нового направления в санокреатологии - психосанокреатологии, задача которой состоит в разработке научных основ и практики целенаправленного формирования и поддержания психического здоровья, которое не передается по наследству, а формируется в онтогенезе при взаимодействии организма с социальной средой и научения.

На предыдущем конгрессе я приводил конкретные цифры психической заболеваемости населения и ее прогноз на будущее. Что бы убедить Вас в том, что практика психического оздоровления общества нуждается в другой концепции, другом подходе к ее решению, обращу Ваше внимание лишь на следующие факты.

Психические заболевания, по существу, охватили собой значительную часть населения планеты. В США они считаются «национальной» проблемой общественного здравоохранения №1. По сообщению Национальной ассоциации по борьбе с психическими заболеваниями в США в настоящее время, по меньшей мере, 1 из 10 человек «страдает какой-либо формой психического или нервного заболевания, требующего обращения к психиатру». Комитет по охране психического здоровья ВОЗ установил, что в странах Западной Европы и США число страдающих тяжелыми психическими расстройствами достигает 10% населения, в то время как другая группа – 10% - непсихотическими психическими расстройствами. По утверждению специалистов ВОЗ в современном мире общий уровень распространения всех психических болезней составляет более 200 случаев на каждую 1000 человек. Считается, что около 450 млн. жителей Земли страдают какой-нибудь психической болезнью. Только в США ежегодные

расходы на лечение психических больных составляют около 148 млрд. долларов, в Англии - 32 млрд. фунтов стерлингов.

По данным С.Б.Семичова (1987), в России психические расстройства были диагностированы у 20-25%, умеренные симптомы – у 40-62% и отсутствие каких-либо нарушений было у 13-35% обследованных людей [15].

Исследованиями Института физиологии и санокреатологии АН Молдовы было показано, что большая часть общества находится в состоянии хронического стресса, который вызывает психические нарушения [16; 17; 18; 19].

Высокая заболеваемость психическими болезнями и неблагоприятный прогноз ВОЗ на их будущее является убедительным доказательством несостоятельности существующей стратегии, методов профилактики и лечения психических заболеваний [2; 5; 6; 7; 9; 10; 11; 12; 13]. Другого результата нечего было и ожидать, ибо, как не покажется парадоксальным, однако, надо признать, что в XXI веке, как было нами доложено на одном из предыдущих конгрессов, даже не существует общепринятого представления о психическом здоровье, хотя это понятие широко используется не только в научном, но и общественном мире. К тому же общество не до конца осознало значимость психического здоровья для научно-технического и культурного развития общества и эволюции человека. Причин этому много, но главные на наш взгляд, обусловлены системой государственной организации социальной жизни общества, исключительной сложностью, уязвимостью самого феномена психического здоровья и отсутствием объективных методов его изучения. К тому же, как бы ни было прискорбно, необходимо признать, что современная система государственной организации общества, которая зиждется, главным образом, на базе конкуренции, получения прибыли и пр., сама по себе является психопатоформирующей, витально разрушающей системой, ибо она не ставит во главу своей деятельности обеспечение здоровья человека, как самое большое его достояние, а само выживание человека в этом обществе предполагает полную интеллектуальную, физическую отдачу, финансовую зависимость, неуверенность в завтрашнем дне и в своей жизненной безопасности, которые обуславливают у него развитие хронического стресса, фрустрацию и, как следствие, формирование больного общества.

Кроме того, надо признать, что современная медицина, по существу, будучи нозологической наукой, недостаточно заинтересована в решении проблемы психического здоровья, ибо она по сути заинтересована в наличии больных. Больные же ждут новых знаний, методов и способов, профилактики и направленного поддержания психического здоровья, альтернативы спонтанному формированию и поддержанию психического здоровья.

Да и само общество не до конца осознало исключительную значимость решения проблемы психического здоровья для поступательного развития, преимущества, которое оно создает в плане существования и выживания, распространения по всему земному шару и даже за его пределами, в плане умелого использования объективных законов природы, развития научно-технического прогресса, да и самой эволюции самого общества. Трудно найти оправдание современному обществу, достигшему фантастических научно-технических успехов и, оставив, по существу, вне поля зрения большой науки, проблему психического

здоровья, вследствие чего на сегодняшний день отсутствует даже общепринятое определение самого понятия «психическое здоровье», о чем было отмечено выше. Более того, само понятие «психика» понимается по-разному специалистами, работающими в этой области. Сошлюсь на некоторые из этих определений: 1) в Большой психологической энциклопедии (2007) авторами Л.А.Карпенко, А.В.Петровским и М.Г.Ярошевским психика определяется как «высшая форма взаимосвязи живых существ с предметным миром, выраженная в их способности реализовать свои побуждения и действовать на основе информации о нем» [4]; 2) в Большом психологическом словаре, изданным под редакцией Б.Г.Мещерякова и академика В.П. Зинченко (2003), психика определяется как «форма активного отображения субъектом объективной реальности, возникшая в процессе взаимодействия высокоорганизованных живых существ с внешним миром и осуществляющая в их поведении (деятельности) регулятивную функцию» [1]; 3) в книге «Психология» (1990) под психикой понимается «системное свойство высокоорганизованной материи, заключающееся в активном отражении субъектом объективного мира, в построении им неотчуждаемой от него картины мира и саморегуляции на этой основе своего поведения и деятельности» [14]; 4) в «Методологических основах психологии» (2010) В.В.Константинов представляет психику как «общее понятие, обозначающее совокупность всех психических явлений, изучаемых психологией» [3].

Даже при поверхностном ознакомлении с вышеуказанными определениями можно легко заметить не только отсутствие единого взгляда на такое важное в деятельности человека явление, как психика, составляющая основной предмет изучения психологии, но и то, что существующие определения далеко не раскрывают феномена субъективной жизни, обнаруживающего себя в поведении или сознании человека.

Не углубляясь в анализ каждого определения, отметим, что такие понятия, лежащие в основе этих дефиниций, как «свойство высокоорганизованной материи», «высшая форма взаимосвязи живых существ с предметным миром», «общее понятие, обозначающее все психические явления, изучаемые психологией» мало что дают для разъяснения сути психики и не ориентируют соответствующих специалистов в плане организации научной и практической деятельности.

Отсутствие четкой дефиниции понятия «психика» объясняется многими факторами, но главными из них, на наш взгляд, являются исключительная сложность и малоизученность психики, как таковой.

Вышесказанное, однако, не мешает и не является непреодолимым препятствием к научному исследованию конкретных аспектов психической деятельности. Однако, для проблемы психического здоровья, естественно, необходимо было определиться относительно сущности и самого понятия «психика», при этом мы понимали, что дать исчерпывающее определение такому сложному феномену как психика, это недостижимый идеал.

Разработанное нами новое видение феномена «психика» базируется на концепции, согласно которой психика, как таковая, с субъективно-переживаемыми процессами и состояниями, будучи идеальной и отражая как реальный, так и

идеальный мир, является основой поведения и деятельности человека, обусловлена протеканием нейро-физиологических и энерго-информационных процессов мозга.

С позиции этой концепции и основных положений психосанокреатологии предлагается следующее определение понятия «психика».

Психика - это совокупность субъективно-переживаемых, идеальных сознательных и бессознательных процессов и явлений, генерируемых при повседневной жизнедеятельности человека, обусловленных нейро-физиологическими и энерго-информационными процессами высшей нервной деятельности, проявляющиеся через ощущения, восприятия, мышление, сознание, мотивацию, принятие решения, сон и т.п. и активно отражающие непосредственно и опережающе реальный и идеальный мир, и на базе которых формируется представление о себе, об окружающем мире и организуются жизненные отправления, поведение и деятельность человека для удовлетворения постоянно возникающих потребностей и его жизнеобеспечения.

Естественно, возникает вопрос о том, в чем преимущество этого определения? Оно состоит в том, что предлагаемая дефиниция феномена «психика» раскрывает ее суть, конкретизирует главные ее составляющие и чем они обусловлены, уточняет, что психика отражает не только реальный мир, но и идеальный, что она формирует сознание, картину окружающего мира, поведение и повседневную деятельность, тем самым указывает путь целенаправленного влияния на нее.

Вышеуказанные уточнения определения фундаментальных феноменов психологии «психика» и «психическое здоровье» (данное на одном из предыдущих съездов) дали возможность с самого начала организовать целеориентированные исследования по решению проблемы психического здоровья. При этом было решено идти по пути разработки научных основ направленного формирования и поддержания психического здоровья, отказавшись от существующей стратегии стихийного его формирования. Дело в том, что стихийное формирование психического здоровья не обеспечивает тот уровень, который позволил бы человеку выдержать колоссальный психический пресс современного общества, вызывающий хронический стресс и фрустрацию, являющихся причиной нарушения психического здоровья со всеми вытекающими из этого негативными последствиями.

Учитывая сказанное, нами еще на VIII конгрессе были представлены обоснования, аргументирующие, почему нами на базе общей санокреатологии, занимающейся разработкой научных и практических основ целенаправленного формирования общего здоровья организма, являющейся альтернативой стратегии спонтанного формирования психического здоровья – было создано новое направление в психологии – психосанокреатология, с конкретной задачей – разработка теории и практики дирижирования создания и сохранения психического здоровья. Психосанокреатология ставит перед собой специфические цели – направленно создать и поддержать психическое здоровье, задачи, которые не ставились и не решались другими психологическими и медицинскими науками. Ее создание было обусловлено естественными потребностями практики в оздоровлении общества, в пересмотре существующей традиции спонтанно-

го формирования психического здоровья, в предупреждении преждевременной общепсихологической деградации, а также тем, чтобы и не дать возможность реализации неутешительного прогноза развития психических нарушений на будущее.

Современная цивилизация в условиях резкого ужесточения конкуренции за постоянно истощающиеся источники питания, энергии и пр., повышения влияющих на нее числа агрессивных, хронических стресс-факторов, не выживет, если психическое здоровье и его компоненты, в частности, креативность, будут и в дальнейшем формироваться стихийно, как это происходит в настоящее время, а не целенаправленно, как предлагает психосанокреатология. Психосанокреатология, а не утверждения будто «красота спасет мир», «культура спасет мир», «равноденствие добра и зла спасет мир» - предлагает путь, который может обеспечить саногенную эволюцию общества.

Психическое здоровье, учитывая, что оно не передается по наследству, как соматическое, которое достаточно жестко запрограммировано, а формируется в процессе онтогенеза, открывает огромные возможности его целенаправленного формирования и поддержания, в соответствии с потребностями общества и вектора эволюции *Homo sapiens*. Надо признать, что идея целенаправленного формирования психического здоровья уже давно витает в умах общества и даже были предприняты попытки ее реализовать: с 1926 по 1945 гг. в гитлеровской Германии была организована и действовала военизированная молодежная организация национал-социалистической партии гитлерюгенд, целью которой являлась психическая подготовка молодежи с 10-летнего возраста в духе беспрекословной преданности национал-социалистическим идеалам; в Японии на заключительном этапе войны (1945 г.) на Тихом океане была организована специальная психическая подготовка пилотов-смертников, ударных отрядов специальных атак – камикадзе; в наше время в некоторых исламских странах достаточно интенсивно специально готовятся смертники, «мученики за веру», жертвующие собой во имя Аллаха ради защиты своей веры и Родины.

Сегодня, как и в прошлом, мир – это поле битвы. «Холодные» и «горячие», информационные войны идут беспрестанно.

Одним словом, общество интуитивно чувствует необходимость отойти от существующей системы стихийного формирования психического здоровья к направленному ее созданию, с тем, чтобы будущий гражданин обладал высоким уровнем психического здоровья, креативностью, высокой логикой, умел создавать и управлять высокоинтеллектуальной техникой, саногенно существовать в конкурентном, потребительском обществе. Дальнейшая судьба цивилизации зависит от того, насколько своевременно она осознает необходимость перейти на направленную стратегию формирования психики и психического здоровья, осуществление которой призвана решить психосанокреатология.

Важно подчеркнуть, что развитие психосанокреатологии является не только естественной потребностью практики, но и имеются все предпосылки возможности решения ее основных задач - разработать научные и практические основы целенаправленного формирования и поддержания психического здоровья, доказательством чего служит то, что психическое здоровье, как

таковое, как было указано раньше, не передается по наследству, а формируется в онтогенезе при взаимодействии организма с социальными факторами и при научении, модификации адекватности восприятия внешней среды и ориентации в ней в онтогенезе по мере научения. Природа как бы сама предусмотрела возможность формирования психического здоровья по наитию общества. Дело в том, что генотип индивида детерминирует лишь «наметку» определенного количества психических потенций и способностей. Основные контуры индивидуального формирования психического здоровья, будут качественно реализованы или не реализованы, полностью или частично развиты и изменены зависит от конкретно-исторических социальных условий жизни индивида. Относительная независимость развития психики ребенка, его психического здоровья от генетического фактора создает большой простор для направленного формирования психического здоровья. Генетически полноценный ребенок с нормальным нейро-морфологическим статусом, имея все задатки человека, если он вырастет в депривированных социальных условиях, вне общества, то уровень развития его психики и психического здоровья ретардирует и он никогда не сможет адекватно психически отражать внешний мир и адекватно ориентироваться в окружающей среде. Ребенок может стать человеком со всеми его способностями, навыками и соответствующим интеллектом только живя в обществе и с помощью общества.

Если морфо-физиологический статус нервной системы не имеет каких-либо аберраций, то его генетическая программа психического развития не предопределяет однозначно и фатально эволюцию его психического здоровья, как онтогенез морфо-физиологическую организацию организма, который жестко детерминирован. Его наследственная программа выступает как возможность, формально определяющая те или иные задатки психического здоровья, которые могут наполняться различным реальным содержанием лишь под влиянием конкретных социальных условий жизни человека в онтогенезе.

Если при этом учесть возможности целенаправленного влияния в процессе онтогенеза на формирование сознания, мышления и др., то основная задача психосанокреатологии о целенаправленном формировании и поддержании психического здоровья становится реальной и выполнимой. Если при этом принять во внимание влияние психики на общее физиологическое состояние организма, то следует признать, что и формирование соматики, хотя и в меньшей степени, зависит от условий окружающей среды, также может стать объектом целенаправленного формирования и поддержания.

Приведенные факты и доводы о возможном направленном формировании психического здоровья и его компонента креативности, является серьезным основанием считать, что целенаправленное формирование личностей с выдающимися психическими способностями, которые, по существу, будут предопределять судьбу цивилизации, возможно, при условии отсутствия аберраций в генетической программе развития организма, за счет социальной среды, посредством специальной разработанной комплексной системы научения, а не путем селекции детей на стадии плода по объему структур мозга или по гену (геном), отвечающему за интеллектуальные способности.

Не отрицая роли генов в развитии интеллекта и психического здоровья, которые, кстати, детерминируются не каким-то несуществующим геном одаренности, а сочетанием активности множества генов, не каким-то объемом той или иной структуры мозга, и которые нельзя воспроизводить за счет клонирования, а, полагаясь на концепцию о том, что развитие психического здоровья обусловлено взаимодействием 2-х факторов – генетического и социального, и что генетический фактор составляет базальную подсистему, являющейся фундаментом развития психического здоровья, а социальный фактор – программирующую подсистему, формирующую психическое здоровье [19], становится очевидным, что социальной среде и научению принадлежит решающая роль в развитии психики и психического здоровья, т.е. людей с выдающимися способностями.

Говоря о необходимости направленного формирования психического здоровья, имеется в виду и предупреждение диссаногении психики, сопровождающейся не только страданиями, снижением качества жизни и реализации творческого потенциала, но и осложнением решения в целом задач общества по обеспечению благосостояния и саногенности населения, которое уже в настоящее время составляет более 7 млрд. человек. То, что каждая страна формирует свое население спонтанно, без учета возможностей обеспечения ей саногенных условий жизнедеятельности (продукты питания, жилищные условия, медицинское обеспечение, наличие современных технологий и др.), является предпосылкой развития массовых психических диссаногений и возможных голодных бунтов.

Нельзя исключить того, что эта масса людей, имеющая выраженную тенденцию к дальнейшему увеличению (уже к 2050 году составит 9 млрд.), у которой психическое здоровье, включая ценностную ориентацию, социальные потребности, поведение и др., формируется стихийно, в условиях глобальных катастроф, идеалогического и экономического противостояния, глобального мирового голода, всякого рода кризисов и других угрожающих существованию общества стрессогенных ситуаций, большая ее часть вместо солидарности и терпимости, может проявить неповиновение, эмигрировать в страны экономически более богатые, фактически означающий захват жизненного пространства других стран, осуществить контроль за источниками питании, энергии и др., за подчинение и доминирование одних над другими. То, что это может произойти, свидетельствует история многих веков, которая, по существу, даже в отсутствии каких-то причин, угрожающих существованию того или иного народа, состоит из войн в борьбе за подчинение одних народов другими, за жизненное пространство. Неповиновение массы людей, у которых психическое здоровье сформировалось стихийно, в условиях современного международного положения, для которого характерна социальная нестабильность между разными государствами, региональные войны, незащищенность малых народов, терроризм, борьба исламистов за расширение пространства и исповедуемой ими религии, доминирование мирового господства США и Китая и др. может стать причиной глобальной социальной катастрофы. В условиях, когда войны ведутся не только на пыльных полях, сотрясаемых от взрывов, но и в тиши офисов, где сидят десятки тысяч хакеров, единственной задачей которых является «влезть» в компьютер противника,

выудить из него полезную информацию, кибервзломы, вести войну за коммерческие секреты, дестабилизацию бизнес-связей, создается предпосылка психической дестабилизации общества и всякого рода межгосударственных конфликтов. При этом, отсутствие методов определения психического уровня здоровья и при его стихийном формировании не исключается возможность прихода к власти субъектов с нарушенным психическим здоровьем и, проводящих политику фанатизма, религиозной нетерпимости, травли одного народа против другого, примеров которых в истории много (напомню лишь руководство 80-х годов государства Лаоса и руководство, недавно созданного исламского государства).

Эти и другие опасения для общества, обусловленные дезорганизацией психического здоровья, как и то, что преступниками, террористами, убийцами, шахидами, фанатами не рождаются, а становятся таковыми под влиянием социальной среды, свидетельствует о надобности разработки на глобальном уровне перечня психических качеств и свойств, составляющих феномен психического здоровья, и которые необходимо импринтировать в процессе научения в плане формирования людей с саногенным типом поведения и соответствующей ценностной ориентацией.

Рассматривая проблему целенаправленного формирования психического здоровья, следует подчеркнуть, что при этом не имеется в виду создание однотипных личностей, роботов, киборгов, зомби, бесхарактерных, лишенных воли людей, поведением которых легко манипулировать, а формирование у них такого уровня психического здоровья, который позволил бы им психически легко и адекватно отражать свой внутренний мир и окружающую среду, адекватно ориентироваться в ней, проявлять креативные способности и противостоять побуждениям, наносящих вред себе, обществу или природе.

В заключении следует указать еще на одну потребность практики в развитии психосанокреатологии: она состоит в том, что движущей силой эволюции Homo sapiens с развитием у него сознания, в отличие от животного мира, является не борьба за существование и естественный отбор, а психическое здоровье с его компонентами: опережающее отражение и осознанная деятельность, креативность, адекватное ориентирование в окружающем мире, которые, по существу, детерминируют прогрессивную эволюцию человеческого общества. Одним словом, и эволюция человеческого общества в значительной степени зависит от саногенного уровня его психического здоровья. Человек выделился из среды животного мира и поднялся на самую высшую ступень древа эволюции и стал не только осваивать окружающий мир, но и, управлять им, благодаря психическому здоровью.

Столь много времени сосредоточил Ваше внимание на аргументации необходимости отказа от традиционной концепции стихийного формирования психического здоровья и разработки новой стратегии – направленного ее формирования и поддержания, т.е. развитие психосанокреатологии, и меньше всего на собственных данных в этом плане, лишь потому, что на наш взгляд, проблема психического здоровья общества, будучи значимой для организации повседневной деятельности человека и имеющая глобальный характер, его стихийное формирование, угрожает дальнейшей прогрессивной эволюции

общества, предполагает вовлечение для ее решения усилий ученых и специалистов не только одной страны. Искренне хотелось Вас убедить в том, что стало очевидным наличие предпосылок и крайняя необходимость развития психосанокреатологии – разработка теории и практики целенаправленного формирования и поддержания психического здоровья.

Учитывая важность указанных задач, не только для современного, но и будущего общества, Институт физиологии и санокреатологии Академии наук Молдовы, направил свои усилия на их решение. Среди наиболее значимых научных результатов следует отметить следующие: разработаны комплексная концепция о психическом здоровье, методологический и понятийный аппараты психосанокреатологии; определены нейро-психические блоки, формирующие психическое здоровье; пути направленного формирования психического здоровья; нейро-психические процессы и феноменология их экстериоризации; основные психогенные факторы, влияющие на формирование психического здоровья; созданы система классификации индивидуальных уровней психического здоровья и предварительный алгоритм их определения и др.

В заключении нам хотелось бы подчеркнуть, что, хотя в процессе проведения психосанокреатологических исследований в Институте физиологии и санокреатологии Академии наук Молдовы, мы встретились со многими трудностями теоретического, методического и практического характера, однако, убедились в том, что решение проблемы психического здоровья возможно за счет самопожертвования коллектива Института и вовлечения в проведение исследований новых коллективов и, что значимость и перспективность решаемых психосанокреатологией задач, стоит того, чтобы посвятить себя ее преуспеванию.

Спасибо за внимание.

Литература

1. Большой психологический словарь. //под ред. Б.Г. Мещерякова и В.П. Зинченко, 3-е изд., М.: Прайм-ЕВРОЗНАК. 2003. 672с.

2. *Дубровина В.И.* Психическое здоровье детей и подростков в контексте психологической службы //Москва, изд. Деловая книга, 2000 г., 176 с.

3. *Карпенко Л.А., Петровский А.В., Ярошевский М.Г.* Психика. Большая психологическая энциклопедия. Под ред. Н. Дубенюк. Москва, Эксмо; 2007, 544 с.

4. *Константинов В.* Методологические основы психологии. СПб.: Питер, 2010. - 240 с.

5. Краткий психологический словарь //Под общей ред. А.В. Петровского и М.Г. Ярошевского; / ред.-составитель Л.А. Карпенко, - М.: Политиздат, 1985. - 431с.

6. *Малейчук Г.И.* Психологическое здоровье личности: попытка определения понятия/ Псіхалогія “Адукацыя і выхаванне”, 2004. №3. С.16-21.

7. *Малейчук Г.И.* Методика диагностики степени идентичности как критерия психологического здоровья //Психологический журнал. – 2009. – № 4. – С. 35-41.

8. Питание и здоровье в Европе: новая основа для действий. Региональные публикации ВОЗ, Европейская серия, № 96. 2005. с. 11-115.

9. Психическое здоровье: укрепление психического здоровья. //ВОЗ, Информационный бюллетень №220, 2007 г.

10. Психическое здоровье населения Европейского региона ВОЗ //Факты и цифры ЕРБ ВОЗ/03/03, Копенгаген, Вена, 8 сентября 2003г.

11. Психическое здоровье: отвечая на призыв к действиям (Доклад Секретариата) //ВОЗ, 55-я сессия А55/18 Всемирной Ассамблеи Здравоохранения 11 апреля 2002 г.

12. Психическое здоровье: информация и научные исследования //Европейская конференция ВОЗ на уровне министров по охране психического здоровья / Хельсинки, Финляндия, 12-15 января 2005 г.

13. Психическое здоровье и профессиональная жизнь //Европейская конференция ВОЗ на уровне министров по охране психического здоровья / Хельсинки, Финляндия, 12-15 января 2005 г.

14. Психология: Учебник.—М.: Изд-во МГУ, 1990, 367 с.

15. Семичов С.Б. Предболезненные психические расстройства. Л.: «Медицина». 1987. 183с.

16. Фурдуй Ф.И. Проблемы стресса и преждевременной биологической деградации человека. Санокреатология. Их настоящее и будущее. //Современные проблемы физиологии и санокреатологии и санокреатологии, Кишинев, 2005, с. 16-36.

17. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф. и др. Санокреатологическая теория психического здоровья. I. Основные современные представления о психическом здоровье. //Известия АН Молдовы. Науки о жизни, 2012, №1 (316), с. 4-14.

18. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф. Психосанокреатология и уровни психического здоровья. 1. Предпосылки разработки системы классификации психического здоровья. (Лекция на пленарном заседании X-го Международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии). //Известия Академии Наук Молдовы. Науки о жизни. 2014, № 2 (323), с.4-11.

Furdui T.I., Ciochina V., Furdui V.T. Development of psychosanocreatlogy – practical need to improve the society's psychic health. In: Proceedings of the XI International Congress „Neuroscience for medicine and psychology". Sudak, Crimea, June 2-12, 2015, p.408-40

MECANISME GENETICO-MOLECULARE ALE REZISTENŢEI PLANTELOR LA STRESUL BIOTIC

Şestacova Tatiana, Tabără Olesea

Centrul universitar Biologie Moleculară,
Universitatea Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

Controlul bolilor la plante este un obiectiv major al ameliorării, programelor de monitorizare a patologiilor şi chimiei agricole. Plantele au dezvoltat pe parcursul evoluţiei mecanisme de apărare **constitutive**, pre-existente, reprezentate de barierele mecanice (peretele celular, cuticula etc.) sau compuşi secundari antimicrobieni pre-existenţi – fitoanticipine, şi **induse**, determinate de atacul patogenilor, cum ar fi fortificarea peretelui celular sau inducerea sintezei fitoalexinelor, substanţelor fenolice ş.a. Reacţia de răspuns a plantelor se manifestă prin procese biochimice şi fiziologice similare, indiferent de tipul rezistenţei, însă inducerea acestei este diferită.

Articolul prezintă o analiză a datelor recente, privind diferite tipuri de rezistenţă şi mecanismele de apărare cunoscute la plante sub aspectul genetico-molecular.

Cuvinte cheie: rezistenţă specifică, rezistenţă nespecifică, SAR, gene de rezistenţă, răspuns hipersensibil.

Depus la redacţie 24 septembrie 2015

Adresă pentru corespondenţă: Şestacova Tatiana, Universitatea Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 3/2, MD 2028 Chişinău, Republica Moldova; E-mail: tatiana.shestacova@gmail.com; tel. (+373 22) 737431.

Introducere

Pe parcursul evoluţiei plantele au dezvoltat mecanisme complexe de recunoaştere şi răspuns la infecţii provocate de un număr mare de agenţi patogeni [29]. Sunt descrise mai multe tipuri de rezistenţă la plante: non-gazdă, specifică, nespecifică, locală dobândită, sistemică dobândită, sistemică indusă ş.a. În articolul respectiv însă ne vom axa pe cele trei tipuri de bază: specifică, nespecifică şi sistemică dobândită.

Rezistenţa specifică este determinată de interacţiunea între genele R (*Resistance*) ale plantei şi genele Avr (*Avirulence*) ale patogenului [18]. Recunoaşterea efectorilor patogenului declanşează activarea unor cascade de semnalizare, care asigură răspunsul de apărare [18, 29, 35].

Rezistenţa nespecifică sau **cantitativă** este determinată de efectul cumulativ al genelor de rezistenţă minore, şi de condiţiile de mediu [16, 51].

Rezistenţa sistemică dobândită (*Systemic Acquired Resistance – SAR*) este asociată cu inducerea expresiei genelor codificatoare de proteine asociate cu patogeneza (*Pathogenesis-Related – PR*) şi are efect durabil la un spectru larg de patogeni [16].

Actualmente, se observă o tendinţă clară de unificare a conceptelor în descrierea diverselor tipuri de rezistenţă, întrucît mecanismele defensive sunt similare, dar se activează în mod diferit în dependenţă de tipul rezistenţei [24, 51].

Rezistenţa specifică la plante

Unul dintre obiectivele de bază în controlul bolilor la plante este obţinerea soiurilor, hibrizilor şi varietăţilor cu gene de rezistenţă majore. Acest tip de rezistenţă este uşor de obţinut prin ameliorare, cu un nivel înalt de eficienţă până ce nu se dezvoltă rase de agenţi patogeni mai agresivi. În cazul cînd se identifică o altă genă, care determină rezistenţă la rasele noi ale patogenului, aceasta poate fi introdusă în alte genotipuri de perspectivă. Astfel, amelioratorul aplică principiul ipotezei "genă-pentru-genă" (*gene-for-gene hypothesis*), propusă de Flor (1956), ca cea mai simplă explicaţie a rezultatelor unor studii, privind moştenirea patogenităţii la rugina inului *Melampsora lini*. Pentru fiecare gena de rezistenţă (**gena *R***) la gazdă există o genă corespunzătoare la parazit care condiţionează patogenitatea acestuia (**gena *Avr***). Fiecare genă a unui membru al sistemului gazdă-parazit poate fi identificată doar de către omologul său în alt membru al sistemului [18].

Genele de rezistenţă asigură o reacţie selectivă faţă de genele de virulenţă din populaţia parazitului [64]. Rezistenţă specifică mai este numită şi rezistenţă verticală [60] sau rezistenţă diferenţială [1]. Alte denumiri similare sunt: rezistenţa monogenică, oligogenică, majoră, rasială [64].

În majoritatea cazurilor identificarea diferitor gene R şi a proteinelor efectoare corespunzătoare, a stimulat cercetările privind baza moleculară ale rezistenţei de tipul „genă-pentru-genă" [9, 34]. Majoritatea proteinelor R sunt clasificate în cinci clase, formate în primul rând pe combinarea unui număr limitat de motive structurale [35].

Clasa 1 include un singur reprezentant, gena *Pto* de la tomate, care are o regiune catalitică kinazei serină/treonină şi un motiv de miristoilare la capătul N-terminal [35, 36].

Clasa 2 cuprinde un număr mare de proteine, caracterizate prin prezenţa unei regiuni de repetări bogate în leucină "*leucine-rich repeats*" (LRR), unui *site* de legare a nucleotidelor "*nucleotide binding site*" (NBS sau NB), şi la capătul N-terminal "*leucine-zipper*" (LZ) sau altor secvenţe cu structura elicei duble "*coiled-coil*" (CC). [35].

Clasa 3 este similară cu clasa 2, dar domenul CC în proteinele respective este înlocuită la capătul N-terminal cu secvenţa similară receptorilor *Toll* şi *Interleucină 1* (IL-1R) animalelor, care este numită regiune TIR. Proteinele R din primele trei clase se caracterizează prin lipsa domenelor transmembranare (TM) şi toate sunt localizate intracelular. [35].

Clasa 4 include *Cf* proteine, care au fost descrise la tomate. Acestea se deosebesc prin lipsa site-ului NBS, deşi au domeniul transmembranar (TM), repetarea LRR extracelulară şi o coadă mică fără motive evidente, care posibil are o localizare citoplasmatică [13, 35].

Clasa 5 include proteină *Xa21* de la orez, care are în afară de o repetare LRR extracelulară şi un domen TM, o regiune citoplasmatică caracteristică kinazei serină/treonină. Unele proteine R nu se încadrează în clasele descrise [35].

Există şi alte clasificări ale genelor R [63]. Astfel, Gerben van Ooijen şi colaboartorii evidenţiază patru clase caracteristice proteinelor R: clasa CNL (**C**C-**N**B-**L**RR proteine, analogul clasei 2), TNL (**T**IR-**N**B-**L**RR proteine, analogul clasei 3), RLP (**R**eceptor-**L**ike **P**roteins, analogul clasei 4) şi RLK (**R**eceptor-**L**ike **K**inases, analogul clasei 5) şi alte proteine, care nu se includ în clasele respective(Fig. 1) [63].

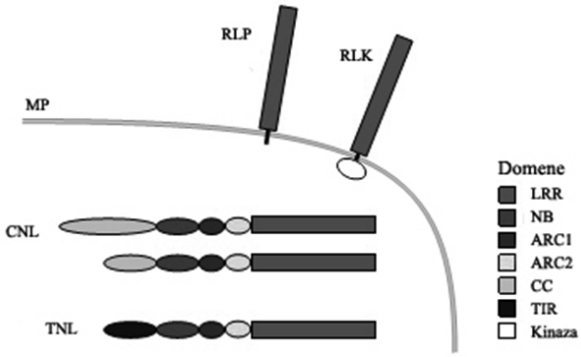


Fig. 1. Reprezentarea schematică a celor patru clase a proteinelor R. Sunt indicate domenele proteice şi localizarea lor prezumptivă [63].

Utilizarea sistemelor model plantă-patogen a contribuit în mare măsură la clonarea şi caracterizarea genelor R [20]. Numai pînă în anul 2007 au fost identificate şi clonate mai mult de 55 gene R, care asigură rezistenţă specifică la diferite plante mono- şi dicotelidonate [63].

Majoritatea genelor R au fost izolate de la *Arabidopsis*. Numeroase gene R, au fost izolate de la speciile din familia *Solanaceae* (tomate, cartof, ardei şi tutun) [63], orz, orez şi in. Importanţa utilizării unei game largi de specii de plante pentru studiul genelor R este evidentă, reieşind din faptul că, până în prezent, nu există nici o genă R la *Arabidopsis* clonată, care să se încadreze în clasele 1, 4 şi 5. Cu toate acestea, genele omoloage pentru fiecare dintre aceste gene sunt prezente la *Arabidopsis* şi este posibil

că ele între ele vor activa ca gene ale rezistenţei. De exemplu, FLS2 de la *Arabidopsis*, nu este o proteina R, deşi are o similaritate cu *Xa21* şi joacă un rol în recunoaşterea flagelinei bacteriene [20].

Preponderent au fost identificate şi descrise genele R la specii dicotelidonate şi doar câteva gene R au fost clonate din cele monocotiledonate (*Xa21*, *Rpg1*, seria *Mla*) [5, 22, 68]. Analiza bazelor de date EST (*Expressed Sequence Tags*) la plante a relevat că plantele monocotiledonate nu au proteine similare cu TIR-NBS-LRR [38, 48] şi acest lucru sugerează ideea că ar putea exista unele diferenţe fundamentale în mecanismele de rezistenţă între speciile di- şi monocotiledonate.

Genetica clasică demonstrează tendinţa genelor de rezistenţă spre clusterizare/grupare în cadrul genomului. Primele studii preponderent au fost focusate pe un singur patogen, însă apariţia hărţilor genetice complexe bazate pe markeri moleculari a permis cartarea genelor R multiple unul faţă de altul. Locusul *R* poate să prezinte o singură genă cu mai multe variante alelice. Exemple de acest tip sunt locusul *L* la in (13 alele) şi *RPM1* la *Arabidopsis* (2 alele). Cel mai des, genele R sunt organizate în clustere şi arată un nivel variabil de recombinare între genele din componenţa grupurilor. Genele dintr-un singur cluster pot determina rezistenţa la patogeni foarte diferiţi [39].

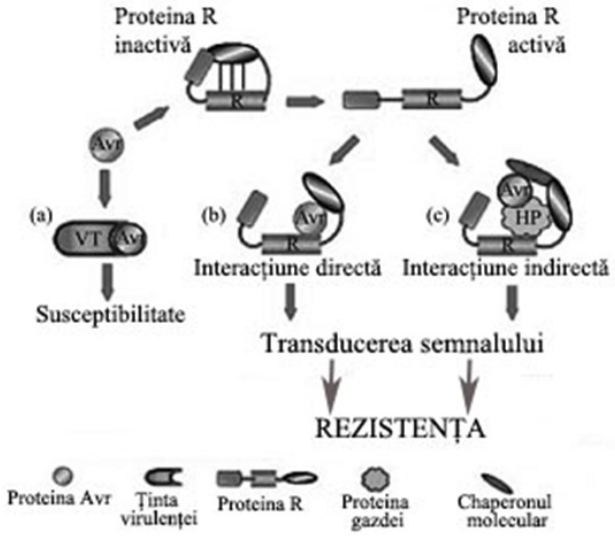


Fig. 2. Mecanisme de interacţiune a genelor R cu genele Avr.

(a) La plante lipsesc genele R, proteina Avr se leagă cu ţinta de virulenţă (virulence target (VT)). (b) Cînd plantele dispun de gene R, însă nu sunt atacate de patogeni, proteina R apare în celule gazdă în configuraţie inactivă. Cînd proteina Avr este introdusă în celule de la patogen, proteina R este activată prin două modele pentru asigurarea transferului semnalului de rezistenţă: proteina Avr interacţionează cu proteina R direct, declanşînd răspunsul de rezistenţă (b), sau indirect prin intermediu proteinei-gazdă (host protein, HP), precum, şi unui şaperon molecular MC), formînd complexul R-Avr şi inducînd rezistenţa(c) [29].

Astfel, pentru genele R sunt cunoscute două tipuri de organizare genomică: variaţie alelică şi tandemurile cromozomiale sau clustere de gene strâns linkate. Această distribuţie a locilor R în genomurile vegetale pune în evidenţă două probleme importante: originea acestui tip de organizare a genelor şi distribuirea lor, precum şi evoluţia locilor R [39].

Pentru înţelegerea mai profundă a rezistenţei specifice este necesară cunoaşterea mecanismului de interacţiune a genelor R cu cele Avr. Astfel, a fost stabilit că în

modelul genă-pentru-genă, interacţiunea între părţile sistemului are loc după modelul receptor-ligand. Se presupune că proteinele R acţionează în calitate de receptori, care recunosc proteinele Avr ale patogenului, formând un complex R-Avr pentru activarea diverselor răspunsuri defensive (Fig. 2) [18].

Actualmente, sunt cunoscute două mecanisme alternative, ce explică modul de acţiune în cadrul acestui model: interacţiune directă şi indirectă. Interacţiunea directă sugerează că efectorul patogenului Avr este legat direct de produsul genei R pentru declanşarea semnalizării în cadrul rezistenţei mediate de gene R. De exemplu, a fost arătat că gena R de la orez *Pita* interacţionează direct cu *AVR-Pita* de la *Magnaporthe grisea*, însă în cazul alelei genei *Pi-ta* asociate cu susceptibilitate interacţiunea lipseşte [23]. O asemenea interacţiune directă, specifică de alelă este cunoscută pentru alele *L* la in, care corespund genelor Avr a ruginii inului [15].

Totodată, majoritatea datelor pun în evidenţă modelul indirect de asemenea numit "*ipoteza de gardă*" (*"guard hypothesis"*) (fig. 2) [10, 24, 58, 59]. În acest model proteina R joacă rolul unui *"supraveghetor"* (*"guardee"*), care monitorizează modificarea proteinelor gazdei după legarea cu efectorul Avr corespunzător. Pentru prima dată acest model a fost aplicat în explicarea semnalizării de apărare asigurate de *AvrPto/AvrPtoB-Pto-Prf* [58]. În conformitate cu acest model, *Prf* reprezintă o genă R, care codifică proteina LZ-NBS-LRR ce determină activitatea *Pto*, o parte componentă a complexului R-Avr şi ţinta *AvrPto* [24]. Un alt exemplu ce denotă "ipoteza de gardă", este ghidarea activităţii proteinelor RPM1 şi RPS2, care interacţionează cu trei efectori diferiţi de tip III *AvrRpm1/AvrB* şi *AvrRpt2* de la *Pseudomonas syringae* [30, 31].

Rezistenţă nespecifică. Mecanisme de rezistenţă a plantelor la stresul biotic

Rezistenţa nespecifică reprezintă un sistem de protecţie, care întârzie ciclul sau capacitatea de reproducere a unui patogen. Planta-gazdă încearcă să se protejeze prin dezvoltarea de bariere împotriva invaziei şi a capacităţii patogenului de a creşte, de a se extinde şi reproduce. Rezistenţa nespecifică este, în general, un sistem de protecţie complex - morfologic, histologic şi metabolic - depinzând de condiţiile de mediu şi cele ontogenetice. Complexitatea ei oferă siguranţă şi durabilitate, dar implică dificultăţi de manipulare, evaluare, acumulare şi transfer. Întrucât rezistenţa nespecifică se realizează împotriva tuturor raselor sau izolatelor patogenului, nu există interacţiuni specifice soi-rasă [64].

Rezistenţa nespecifică este considerată de tip orizontal [60] sau uniformă [1], fiind denumită şi poligenică, multigenică, generală, parţială sau rezistenţă de câmp. O astfel de rezistenţă are o durată mai lungă, fiind mai greu de învins de rasele noi ale patogenului. Rezistenţa orizontală sau uniformă este controlată poligenic de gene nespecializate, implicând numeroşi factori pe care gazda rezistentă îi opune pătrunderii parazitului în ţesuturile gazdă [64].

Mecanismele constituitive *sau de* ***apărare pasivă*** includ barierele morfologice, structurale şi chimice şi reprezintă primul obstacol, care trebuie să fie depăşit de patogen. Un exemplu bine cunoscut de bariere morfologice este dimensiunea osteolelor stomatelor [26]. Astfel, unii fungi, ce produc rugina la plante, posedă mecanisme de detectare fină a dimensiunelor osteolelor plantelor susceptibile. Astfel, atunci când hifele găsesc o osteolă de dimensiune corespunzătoare, acestea sunt programate să fie

supuse unui proces de dezvoltare, care rezultă cu formarea de structuri invazive, ce pătrund în stomate şi încep colonizarea interiorului frunzei.

Barierele structurale, cum ar fi ceara, cutina, suberina, lignina, celuloza, caloza şi proteinele peretelui celular, sunt rapid fortificate în timpul procesului infecţional [26]. Totodată, plantele constitutiv produc o multitudine de metaboliţi secundari şi proteine antifungice majoritatea cărora acţionează ca compuşi antimicrobieni în timpul apărării împotriva microorganismelor [26]. Acestea includ fenoli de diferită structură, saponine, terpenoizi şi steroizi. Unii compuşi constitutivi posedă acţiune toxică, în timp ce alţii apar ca conjugate, cum ar fi glicozidele care nu sunt toxice în sine, dar îşi capătă toxicitatea în urma distrugerii conjugatului. De exemplu, la invazia patogenului glicozidele plantelor sunt adesea hidrolizaţi de glicozidaze vacuolare, eliberând agliconii care pot fi destul de toxici, nu numai pentru fitopatogen, dar şi pentru celulele plantelor locaizate în vecinătate [26].

Mecanismele de rezistenţă induse *sau* ***active*** includ sisteme, care necesită consum de energie pentru recunoaşterea specifică a patogenului, care în cele din urmă, determină producerea proteinelor sau a metaboliţilor antagonişti invadatorului [26]. Ele sunt considerate al doilea obstacol la invazia patogenului. Mecanismele de apărare induse au mai multe avantaje, cum ar fi reducerea costurilor biosintetice de apărare sau evitarea faptul că alte organisme pot exploata apărarea în beneficiul propriu [8, 67].

Răspunsurile de apărare induse sau active includ stresul oxidativ, moartea celulelor locală, acumularea fitoalexinelor, sinteza proteinelor PR (*pathogenesis-related*) şi altor proteine care participă la fortificarea peretelui celular, cum ar fi glicoproteinele bogate în hidroxiprolină şi creşterea nivelului de transcripţie a genelor pentru enzimele implicate în fluxul de carbon de la metabolismul primar la secundar, cum ar fi peroxidazele, lipooxigenazele, superoxiddismutazele şi fenilalanin-amonia-liaza (PAL), o enzimă-cheie în biosinteza compuşilor fenolici cu activitate antimicrobiană [41].

Mecanismele de apărare induse sunt declanşate sistematic la plante în răspunsul la infecţii. În primul rând, local apare o necroză limitată în spaţiu, frecvent indusă ca rezultat al morţii celulelor cauzate de acţiunea agentului patogen într-o interacţiune compatibilă sau de moartea celulor vegetale endogene după recunoaşterea agentului patogen de către gazdă, într-o interacţiune incompatibilă – **răspuns hipersensibil (RH)** [32]. RH reprezintă apoptoza indusă de agentul patogen, rapidă şi localizată în locul de infecţie, astfel, celulele plantei reacţionează la atacul patogenului prin moartea programata a celulelor, ce include scurgeri de electroliţi din citoplasmă şi stresul oxidativ – „explozie oxidativă” [41, 49]. Ca rezultat, patogenul rămâne limitat la leziunile necrotice lîngă *site*-ul de infecţie.

Cunoştinţele despre transducerea semnalelor în RH sunt încă incomplete, dar mai multe gene au fost deja identificate, inclusiv proteinkinazele şi fosfatazele, genele calmodulinei şi altele cu funcţii biochimice necunoscute, care induc în cele din urmă transcripţia genelor răspunsului defensiv. Rezistenţa dobândită localizată într-un inel de celule în jurul leziunilor necrotice asigură insensibilitatea completă a acestora la infecţii ulterioare [4].

Timp de câteva ore după apatiţia necrozei localizate, planta începe a expresa un set de gene de apărare atât la nivel local, la punctul de infecţie, cît şi sistemic, în alte

organe ale plantei [61]. Astfel, RH locale de multe ori declanşează un semnal sistemic, care transformă rezistenţă nespecifică la nivelul plantei întregi, în **rezistenţa sistemică dobândită** (*SAR – systemic acquired resistance*), care conferă protecţie sporită de lungă durată împotriva infecţiilor ulterioare de un spectru larg de agenţi patogeni [16, 52, 55, 66].

Spre deosebire de RH, dezvoltarea SAR este lentă şi treptată. În acest răspuns defensiv sistemic, semnalul se extinde de la locul interacţiunii plantă-patogen şi este mediat de un set de molecule endogene de semnalizare defensivă, care au fost identificate ca mesageri la plante, inclusiv acidul salicilic (AS), acid jasmonic (AJ), etilena (ET), oxidul de azot (NO) sau speciile reactive ale oxigenului (SRO) [2, 3, 40, 47].

Mesagerii respectivi interacţionează cu proteinele specifice, care sunt implicate în activarea transcripţiei genelor de răspuns la patogen (*pathogen-responsive genes*). Aceste gene SAR sunt considerate a fi responsabile de rezistenţa sporită a ţesuturilor non-infectate, secundare ale plantelor la infecţiile ulterioare de către acelaşi patogen sau chiar agenţi patogeni independenţi [32, 40].

Rezistenţa sistemică dobândită

SAR este activată în multe specii de plante de către agenţii patogeni ce cauzează necroza, în calitate de parte componentă a HR sau ca un simptom al bolii. Rezistenţa conferită este de lungă durată, uneori, pentru întreagă viaţă a plantelor, precum şi eficientă împotriva unui spectru larg de agenţi patogeni, inclusiv – virusuri, bacterii, fungi şi oomicete [52].

La nivel molecular SAR se caracterizează prin creşterea expresiei unui număr mare de gene PR în ţesuturi la nivel local şi sistemic [61,62].

Posibil că SAR este rezultatul efectelor acţiunii mai multor proteine PR, decât a unei singure proteine specifice. Totodată, rolul lor în stabilirea SAR nu este clar, deşi genele PR servesc în calitate de markeri moleculari utili pentru depistarea SAR [16].

NON-EXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED1 (NPR1), de asemenea cunoscut ca NON-IMMUNITY1 (NIM) este reglatorul pozitiv central în semnalizarea SAR [14, 19, 42]. Proteina NPR1 conţine repetarea ankirin şi domenul BTB/POZ [6], şi funcţionează dependent de AS. Acumularea de AS induce schimbări ale potenţialului redox celular, declanşând reducerea NPR1 din oligomeri citozolici, ce au legături disulfurice în monomerii activi, care sunt transportaţi spre nucleu, unde interacţionează cu factori de transcripţie TGA [11, 43]. Interacţiunea respectivă stimulează legarea factorilor TGA cu elementele AS-răspunzătoare în promotorii genelor PR şi reprogramarea transcripţională ulterioară, astfel contribuind la stabilirea SAR. Spre exemplu, expresia excesivă NPR1 în orez (sau ortologului acestei în orez – NH1) asigură rezistenţa sporită la bacteria fitopatogenă *Xanthomonas oryzae pv.oryzae*, ce denotă faptul că funcţia NPR1 pare să fie conservată între plantele mono- şi dicotiledonate [7]. Dintre factorii de transcripţie TGA, anume TGA2, TGA5 şi TGA6 joacă un rol important în inducerea SAR (Fig. 3) [16].

Rolul NPR1 nu este limitat numai la SAR, NPR1 reglează de asemenea interrelaţiile în semnalizarea AS şi AJ, funcţionînd ca un reglator-cheie în integrarea şi declanşarea răspunsurilor sistemice dependente de natura patogenului. Semnalizarea în cadrul rezistenţei sistemice induse (*ISR/Induced Systemic Resistance*) dependentă

de NPR1 nu necesită localizarea nucleară NPR1 activată de potenţialul redox [56], astfel, AJ şi AIA (acidul indolilacetic), fiind semnalul de inducere [57].

Alte ţinte posibile ale NPR1 sunt factorii de transcripţie WRKY, ce se leagă cu W-boxă ale genelor PR, precum ar fi reglatorul pozitiv a semnalizării AS – WRKY70 [28]. Totodată, ţintele NPR1 pot fi reglatori negativi a semnalizării AS, precum *mitogen-activated protein (MAP) kinase 4 (MAPK4)*, ce reglează negativ răspunsul de apărare mediat de AS şi pozitiv acela de AJ [50].

Nu toate răspunsurile mediate de SAR sunt dependente de NPR1. Factorul de transcripţie *Whirly (AtWHY1)* de la *Arabidopsis* funcţionează în calitate de factor dependent de AS şi independent de NPR1. AtWHY1 se leagă la PB-boxe, care sunt supra-reprezentate în transcripţi asociaţi cu inductorul SAR [12, 33]. Nu este clar de ce *AtWhy1* şi *AtWhy2* sunt localizate în cloroplaste şi mitocondrii [27], ce necesită studii ulterioare.

Se consideră că semnalul mobil al SAR derivă din metabolismul lipidelor şi este de natură lipidică [53]. Elucidarea rolului fundamental al biosintezei lipidelor în SAR a fost reflectată datorita studiilor mutanţilor recesivi *steroyl-acyl carrier protein desaturase* la *Arabidopsis ssi2* (*suppressor of SA-insensitivity 2*) şi supresorul *npr1-5* [25]. Plantele ssi2 sunt incapabile să convertească acidul stearic în acid oleic. Acest deficit de oleat activează moartea celulelor spontană şi duce la reacţia SAR constitutivă şi la o susceptibilitatea sporită la patogenul necrotrof *Botrytis cinerea* [45, 54].

Spre deosebire de acestea, activitatea supresorului *ssi2 – sfd1* (*suppressor of fatty acid desaturase 1*) este compromisă în SAR, şi multe dintre defectele de creştere a plantelor associate cu *ssi2* sunt atenuate [44, 46]. SFD1 codifică dihidroxiaceton fosfat reductaza, care formează scheletul din glicerol-3-fosfat al glicerolipidelor. Proteina SFD1 este necesară atât pentru acumularea AS după atacul patogenului la nivel local şi la distanţă, ca urmare rezistenţa bazală rămâne neafectată în mutanţi *sfd1*, sugerând că SFD1 funcţionează în generarea, translocarea şi/sau percepţia unui semnal mobil SAR [21].

ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY 1 (EDS1), PHYTOALEXIN DEFICIENT 4 (PAD4) şi *SENESCENCE-ASSOCIATED GENE 101 (SAG101)* sunt trei reglatori ai răspunsului de apărare, care au omologie cu acil-transferazele. EDS1, PAD4 şi SAG101 interacţionează direct în combinaţii diferite pentru dirijarea imunităţii bazale şi a unor interacţiuni genă-pentru-genă [17, 37, 65]. EDS1 acţionează în amonte de explozia oxidativă şi este necesară pentru sinteza AS în fenotipurile *expressor of pathogenesis-related gene – scpr1* şi *cpr6* cu SAR constituitivă. De asemenea, se presupune că EDS1 contribuie la stabilirea şi păstrarea SAR. Blocarea creşterii bacteriilor indusă de SAR dispare în cazul *background*-ului *eds1* şi *pad4*, chiar şi atunci când recunoaşterea combinaţiei AVR-R genă este independentă de EDS1 [21, 65].

Multe procese, ce contribuie la SAR sunt necesare în ambele cazuri de activare a mecanismelor locale şi sistemice şi contribuie la rezistenţa bazală. Acestea includ sinteza AS, modificări în starea redox şi inducerea expresiei genelor de apărare. Recunoaşterea patogenului invadator declanşează schimbări în ţesutul local infectat, întrucât sistemic în organism acestea sunt induse de percepţia semnalelor multiple. Există dovezi pentru *feedback* negativ şi pozitiv al semnalizării AS şi interrelaţiile între diferite căi de semnalizare, ce complică înţelegerea răspunsului de apărare la plante. Rolul central

în răspunsul de apărare este asigurat de proteina NPR1, însă există numeroase rezultate care pun în evidenţă existenţa căii de semnalizare independente de NPR1, ce induce expresia genelor de apărare (Fig. 3) [16].

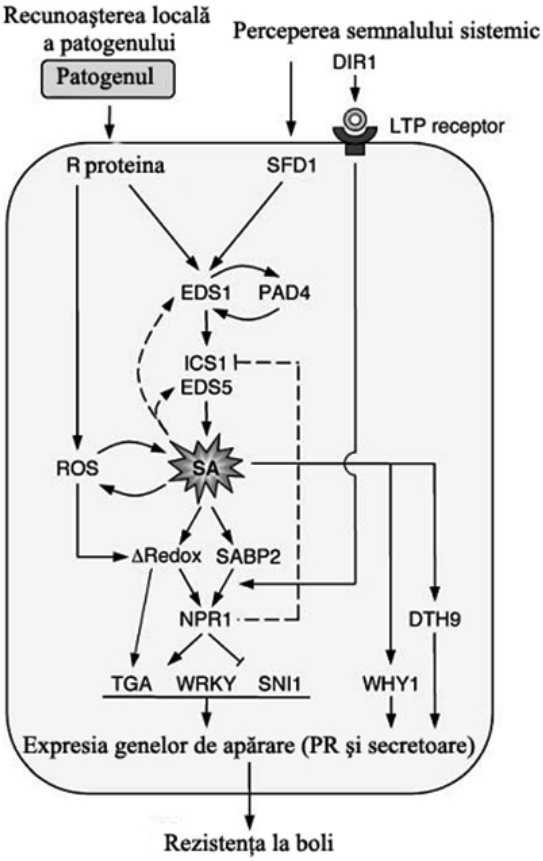


Fig. 3. Secvenţa de evenimente de la recunoaşterea agentului patogen până la inducerea expresiei genelor de apărare [16].

Generalizînd cele expuse mai sus şi informaţiile din literatura de specialitate a fost elaborată ”Schema generală de clasificare a rezistenţei la plante şi mecanismelor implicate în asigurarea acestei” (Tabelul 1).

Tabelul 1. Schema generală de clasificare a rezistenţei la plante şi mecanismelor implicate în asigurarea acestei.

Caracteristici	Rezistenţa					
	Înnăscută			Dobândită		
	Specifică	Nespecifică		Locală	Sistemică	
	Genă-pentru-genă	Non-gazdă	Cantitativă/ nespecifică	LAR	SAR	ISR
Natura patogenilor	Rasele specifice a diferitor patogeni	Patogeni nespecifici pentru gazda respectivă	Spectru larg de patogeni, preponderent necrotrofi	Patogeni de natură diferită, care provoacă RH	Preponderent biotrofi	Rizobacterii non-patogene

Modul de recunoaştere a patogenului sau inducere a rezistenţei	Interacţiunea R-Avr	Prin recunoaşterea PAMP* de PRR*	Prin recunoaşterea PAMP* de PRR*	Se induce la nivel local	Este indusă de infecţia primară şi RH, se instalează împotrivă infecţiilor secundare	Se instalează împotrivă infecţiilor secundare
Mecanismele principale	SRO, RH, fitoalexine compuşi fenolici	RH, SRO	Fortificarea barierelor structurale, SRO, sinteza compuşilor antimicrobieni, se realizează prin expresia QTL/QRL majore şi minore	RH, SRO	Expresia proteinelor PR	Expresia proteinelor defensive diferite de PR – de ex. PDF1.2
Elemente-cheie în semnalizare şi răspuns	Produsul genelor R	Receptori PRR, SRO, activitatea MAPK, modificarea concentraţiei Ca^{2+} citoplasmatic	Receptorii PRR*	AS	AS, NPR1, compuşi de natura lipidică	AJ, Etilena, NPR1

***PAMP - Pathogen-associated molecular pattern, pattern-ul molecular asociat cu patogenul; PRR – pattern recognition receptors, receptori de recunoaştere a pattern-ului.**

Concluzii

Datele privind rezistenţa plantelor la patogeni şi interacţiunile gazdă-parazit crează o bază fundamentală pentru înţelegerea coexistenţei organismelor respective. Plantelor le este caracteristică prezenţa unei game largi de mecanisme de recunoaştere şi apărare faţă de patogeni, însă fitopatogenii au dezvoltat pe parcursul evoluţiei un set de proteine efectoare, care supresează sistemul imunitar al gazdei. Deşi există succese semnificative în cercetarea rezistenţei plantelor la patogeni şi interacţiunile în fitopatosisteme la nivel citologic, biochimic şi genetic, înţelegerea coevoluţiei gazdă-parazit şi rolul multor compuşi importanţi pentru răspunsul defensiv este limitată şi necesită studii în continuare. O înţelegere mai bună a căilor de semnalizare asociate cu rezistenţa va duce cu siguranţă la apariţia noilor metode ecologice de protecţie a culturilor agricole.

Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului instituţional ***" Rezistenţa florii-soarelui (Helianthus annuus* L.*) la lupoaie (Orobanche cumana Wallr.): mecanisme genetico-moleculare şi fiziologice"***

Bibliografie

1. Abdalla M. M. F. and Hermsen J. O. Th. A two-loci system of gametophytic incompatibility in *Solanum phureja* and *S. stenotomum*. //Euphytica, 1971, vol. 20, p. 345-350.

2. Baker B., Zambryski P., Staskawicz B. and Dinesh-Kumar S.P. Signaling in plant–microbe interactions. //Science, 1997, vol. 276, p. 726–733.

3. Beckers G.J. and Spoel S.H. Fine-tuning plant defence signalling: salicylate versus jasmonate. //Plant Biol. (Stuttg), 2006, vol. 8, p. 1–10.

4. Bonas U. and Lahaye T. Plant disease resistance triggered by pathogen-derived molecules: refined models of specific recognition. //Curr. Opin. Microbiol., 2002, vol. 5, p. 44–50.

5. Brueggeman R., Rostoks N., Kudrna D. et al. The barley stem rust-resistance gene Rpg1 is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, vol. 99, p. 9328–9333

6. Cao H., Glazebrook J., Clarke J.D. et al. The Arabidopsis NPR1gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats. //Cell, 1997, vol. 88, p. 57-63.

7. Chern M., Fitzgerald H.A., Canlas P.E. et al. Overexpression of a rice NPR1 homolog leads to constitutive activation of defense response and hypersensitivity to light. //Mol Plant Microbe Interact, 2005, vol. 18, p. 511-520.

8. Cipollini D., Purrington C.B. and Bergelson J. Costs of induced responses in plants. // Basic Appl. Ecol., 2003, vol. 4, p. 79–89.

9. Cohn J., Sessa G., Martin G.B. Innate immunity in plants. //Curr. Opin. Immunol., 2001, vol. 13, p. 55–62.

10. Dangl J. L. and Jones J. D. G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. //Nature, 2001, vol. 411, p. 826–833.

11. Despres C., Chubak C., Rochon A. et al. The Arabidopsis NPR1 disease resistance protein is a novel cofactor that confers redox regulation of DNA binding activity to the basic domain/leucine zipper transcription factor TGA1. //Plant Cell, 2003, vol. 15, p. 2181-2191.

12. Desveaux D., Subramaniam R., Despres C. et al. A 'whirly' transcription factor is required for salicylic acid-dependent disease resistance in *Arabidopsis*. //Dev Cell, 2004, vol. 6, p. 229-240.

13. Dixon M.S., Jones D.A., Keddie J.S. et al. The tomato Cf-2 disease resistance locus comprises two functional genes encoding leucine-rich repeat proteins. //Cell, 1996, vol. 84, p. 451–459.

14. Dong X. NPR1, all things considered. //Curr Opin Plant Biol, 2004, vol. 7, p. 547-552.

15. Doods P.N., Lawrence G.J., Catanzart I.A.M. et al. Direct protein interaction underlies gene-for gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. //Proc Nat Acad Sci USA, 2006, vol. 103, p. 8888−8893.

16. Durrant W.E., Dong X. Systemic acquired resistance. //Annu Rev Phytopathol, 2004, vol. 42, p. 185−209.

17. Feys B.J., Wiermer M., Bhat R.A. et al. Arabidopsis SENESCENCE-ASSOCIATED GENE101 stabilizes and signals within a enhanced disease susceptibility 1 complex in plant innate immunity. //Plant Cell, 2005, vol. 17, p. 2601-2613.

18. Flor H. The current status of the gene-for-gene concept. //Annu Rev Phytopathol, 1971, vol. 9, p. 275−296.

19. Fobert P.R., Despres C. Redox control of systemic acquired resistance. //Curr Opin Plant Biol, 2005, vol. 8, p. 378-382.

20. Gomez-Gomez L., Boller T. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. //Mol. Cell, 2000, vol. 5, p. 1003–1011.

21. Grant M. and Lamb C. Systemic immunity. //Current Opinion in Plant Biology, 2006, vol. 9, p. 414–420.

22. Halterman D., Zhou F., Wei F. et al. The MLA6 coiled-coil, NBS-LRR protein confers AvrMla6-dependent resistance specificity to *Blumeria graminis f. sp. hordei* in barley and wheat. //Plant J., 2001, vol. 25, p. 335–348.

23. Jia Y.L., Sean A.M., Gregory T.B. et al. Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. //EMBO J, 2000, vol. 19, p. 4004−4014.

24. Jones J.D.G., Dangl J.L. The plant immune system. //Nature, 2006, vol. 444, p. 323−329.

25. Kachroo P., Shanklin J., Shah J. et al. A fatty acid desaturase modulates the activation of defense signaling pathways in plants. //Proc Natl Acad Sci USA, 2001, vol. 98, p. 9448-9453.

26. Keen N. Mechanisms of Pest Resistance in Plants. //Proceedings of Workshop on Ecological Effects of Pest Resistance Genes in Managed Ecosystems, Bethesda, 1999.

27. Krause K., Kilbienski I., Mulisch M. et al. DNA-binding proteins of the Whirly family in *Arabidopsis thaliana* are targeted to the organelles. //FEBS Lett, 2005, vol. 579, p. 3707-3712.

28. Li J., Brader G., Palva E.T. The WRKY70 transcription factor: a node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense. //Plant Cell, 2004, vol. 16, p. 319-331.

29. Liu J., Liu X., Dai L. et al. Recent progress in elucidating the structure, function and evolution of disease resistance genes in plants. //J Genet Genomics, 2007, vol. 34(9), p. 765-776.

30. Mackey D., Belkhair Y., Alonso J.M. et al. Arabidopsis RIN4 is a target of the type III virulence effector AvrRpt2 and modulates RPS2-mediated resistance. //Cell, 2003, vol. 112, p. 379−389.

31. Mackey D., Holt B.F. III, Wiig A. et al. RIN4 interacts with *Pseudomonas syringae* type III effector molecules and is required for RPM1-mediated resistance in *Arabidopsis*. //Cell, 2002, vol. 108, p. 743−754.

32. Maleck K. and Dietrich R.A. Defense on multiple fronts: how do plants cope with diverse enemies? //Trends Plant Sci, 1999, vol. 4, p. 215–219.

33. Maleck K., Levine A., Eulgem T. et al. The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. //Nat Genet, 2000, vol. 26, p. 403-410.

34. Martin G.B. Functional analysis of plant disease resistance genes and their downstream effectors. //Curr. Opin. Plant Biol., 1999, vol. 2, p. 273–279.

35. Martin G.B., Bogdanove A.J. and Sessa G. Understanding the functions of plant disease resistance proteins. //Annu. Rev. Plant Biol., 2003, vol. 54, p. 23-61.

36. Martin G.B., Brommonschenkel S.H., Chunwongse J. et al. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. //Science, 1993, vol. 262, p. 1432–1436.

37. Matthews B.F., Beard H., Brewer E. et al. Arabidopsis genes, AtNPR1, AtTGA2 and AtPR-5, confer partial resistance to soybean cyst nematode (Heterodera glycines) when overexpressed in transgenic soybean roots. //BMC Plant Biology, 2014, vol. 14:96.

38. Meyers B.C., Dickerman A.W., Michelmore R.W. et al. Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. //Plant J., 1999, vol. 20, p. 317–332.

39. Michelmore R.W., Meyers B.C. Clusters of resistance genes in plants evolve by divergent selection and a birth-and-death process. //Genome Res., 1998, vol. 8, p. 1113–1130.

40. Montesano M., Brader G. and Palva E.T. Pathogen derived elicitors: searching for receptors in plants. //Mol. Plant Pathol., 2003, vol. 4, p. 73–79.

41. Montesinos E. Pathogenic plant–microbe interactions. What we know and how we benefit. //Int. Microbiol., 2000, vol. 3, p. 69–70.

42. Moreau M., Tian M., Klessig D.F. Salicylic acid binds NPR3 and NPR4 to regulate NPR1-dependent defense responses. //*Cell Research,* 2012, vol. 22, p. 1631-1633.

43. Mou Z., Fan W., Dong X. Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes. //Cell, 2003, vol. 113, p. 935-944.

44. Nandi A., Krothapalli K., Buseman C.M. et al. Arabidopsis sfd mutants affect plastidic

lipid composition and suppress dwarfing, cell death, and the enhanced disease resistance phenotypes resulting from the deficiency of a fatty acid desaturase. //Plant Cell, 2003, vol. 15, p. 2383-2398.

45. *Nandi A., Moeder W., Kachroo P. et al. Arabidopsis* ssi2-conferred susceptibility to *Botrytis cinerea* is dependent on EDS5 and PAD4. //Mol Plant Microbe Interact, 2005, vol. 18, p. 363-370.

46. Nandi A., Welti R., Shah J. The *Arabidopsis thaliana* dihydroxyacetone phosphate reductase gene SUPPRESSSOR OF FATTY ACID DESATURASE DEFICIENCY1 is required for glycerolipid metabolism and for the activation of systemic acquired resistance. //Plant Cell, 2004, vol. 16, p. 465-477.

47. Niu D.D., Liu H.X., Jiang C.H., et al. The Plant Growth–Promoting Rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 Induces Systemic Resistance in *Arabidopsis thaliana* by Simultaneously Activating Salicylate- and Jasmonate/Ethylene-Dependent Signaling Pathways. //MPMI, 2011, vol. 24(5), p. 533–542.

48. Pan Q., Wendel J., Fluhr R. Divergent evolution of plant NBS-LRR resistance gene homologues in dicot and cereal genomes. //J. Mol. Evol., 2000, vol. 50, p. 203–213.

49. Perez I.B. and Brown P.J. The role of ROS signaling in cross-tolerance: from model to crop. //Front. Plant Sci, 2014, vol. 5:754, doi:10.3389/fpls.2014.00754

50. Petersen M., Brodersen P., Naested H. et al. Arabidopsis map kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. //Cell, 2000, vol. 103, p. 1111-1120.

51. Reignault P, Sancholle M. Plant-pathogen interactions: will the understanding of common mechanisms lead to the unification of concepts? //C. R. Biologies, 2005, vol. 328, p. 821–833.

52. Ryals J.A., Neuenschwander U.H., Willits M.G. et al. Systemic acquired resistance. // Plant Cell, 1996, vol. 8, p. 1809–1819.

53. Shah J. Lipids, lipases, and lipid-modifying enzymes in plant disease resistance. // Annu Rev Phytopathol, 2005, vol. 43, p. 229-260.

54. Shah J., Kachroo P., Nandi A. et al. A recessive mutation in the *Arabidopsis* SSI2 gene confers SA- and NPR1-independent expression of PR genes and resistance against bacterial and oomycete pathogens. //Plant J, 2001, vol. 25, p. 563-574.

55. Somssich I.E. Closing another gap in the plant SAR puzzle. //Cell, 2003, vol. 113, p. 815–816.

56. Spoel S.H., Koornneef A., Claessens S.M. et al. NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol. //Plant Cell, 2003, vol. 15, p. 760-770.

57. Staswick P.E., Tiryaki I. The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to isoleucine in *Arabidopsis*. //Plant Cell, 2004, vol. 16, p. 2117-2127.

58. Van der Biezen E.A., Jones J.D.G. Plant disease-resistance proteins and the gene for gene concept. //Trends Biochem Sci, 1998, vol. 23, p. 454−456.

59. Van der Hoorn RAL, De Wit PJGM, Joosten MHAJ. Balancing selection favors guarding resistance proteins. //Trends Plant Sci, 2002, vol. 7, p. 67−71.

60. Van der Plank J. E. Disease resistance in plants. //Academic Press, 1968. 206 p.

61. Van Loon L.C. Pathogenesis-related proteins. //Plant. Mol. Biol., 1985, vol. 4, p. 111–116.

62. Van Loon L.C., Rep M. and Pieterse C.M. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. //Annu. Rev. Phytopathol., 2006, vol. 44, p. 135–162.

63. Van Ooijen G., van den Burg H.A., Cornelissen B.J. et al. Structure and function of resistance proteins in solanaceous plants. //Annu Rev Phytopathol., 2007, vol. 45, p. 43-72.

64. Vrânceanu A. Floarea-soarelui hibridă. //Bucureşti: Ceres, 2000. 520 p.

65. Wiermer M., Feys B.J., Parker J.E. Plant immunity: the EDS1 regulatory node. //Curr

Opin Plant Biol, 2005, vol. 8, p. 383-389.

66. Winter P.S., Bowman C.E., Villani P.J. et al. Systemic Acquired Resistance in Moss: Further Evidence for Conserved Defense Mechanisms in Plants. //PLoS ONE, 2014, vol. 9(7), e101880. doi:10.1371/journal.pone.0101880

67. Zangerl A.R. Evolution of induced plant responses to herbivores. //Bas. Appl. Ecol. 2003, vol. 4, p. 91–103.

68. Zhou F., Kurth J., Wei F. et al. Cell-autonomous expression of barley Mla1 confers race-specific resistance to the powdery mildew fungus via a Rar1–independent signaling pathway. // Plant Cell, 2001, vol. 13, p. 337–350.

FIZIOLOGIA ŞI SANOCREATOLOGIA

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ

Березовская Е.С.

Институт физиологии и санокреатологии Академии наук Молдовы

Rezumat

În articolul se analizează datele literaturii de specialitate cu privire la starea cunoașterii indicatorilor de sănătate mintală la pacienții cu hepatită cronică (HC) virală. Problema este reflectată prin prisma definiției sănătății mintale, care se bazează pe conceptul principal al Sanocreatologiei. HC virală este asociată cu tulburări mintale complexe în mai mult de 50% din cazuri. Sunt evidențiate patru grupuri caracteristice de sănătate mintală. Se depistează o co-morbiditate mare de HC virală cu depresie, anxietate, oboseală sau dependentă de alcool și droguri. În lucrările analizate se fac concluzii reieşind din indicatorii medii ai datelor statistice şi nu includ caracterul tulburărilor mentale în dependență de patogeneza și forma bolilor, nivelul intelectual al pacientului şi în consecinţă nu există o abordare individuală pentru atenuarea tulburărilor psihice.

Cuvinte cheie: sănătate mentală, sanocreatologie, hepatită cronică virală, depresie, anxietate, tulburări de comportament, calitatea vieții.

Depus la redacţie 21 septembrie 2015

Adresa pentru corespondență: Elena Berezovscaia, Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al Academie de Științe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028 Chișinău, Republica Moldova; e-mail: berezovskaia69@mail.ru; Tel. 069368162.

Изучение состояния психического здоровья человека остается одной из самых актуальных и трудноразрешимых проблем психологии и медицины. На фоне прессинга глобальных, стрессогенных и агрессивных по своему существу проблем современности оно приобретает особую остроту и значимость. В последние годы много внимания уделяется изучению ментальной сферы человека, в частности его психического здоровья, однако, большинство работ в данном направлении фактически ориентировано на изучение психических заболеваний [3, 7], в то время как психическое здоровье редко является объектом

фундаментального исследования [44]. Существенно, что до сих пор нет четкого понимания и определения, что же такое психическое, или ментальное, здоровье.

По определению ВОЗ, психическое здоровье - это состояние благополучия, в котором человек реализует свои способности, может противостоять обычным жизненным стрессам, продуктивно работать и вносить вклад в свое сообщество. В этом позитивном смысле психическое здоровье является основой благополучия человека и эффективного функционирования сообщества [49]. Однако, ряд ученых полагает, что такое определение весьма спорно и не отражает истинной сущности [44, 51-54].

По мнению академика Ф. И. Фурдуй, определение ВОЗ зиждется на таких понятиях, как «состояние благополучия», «справляться с обычными жизненными стрессами», «продуктивно и плодотворно работать», которые имеют много значений и толкований, но не ориентирует практических специалистов относительно путей его формирования и предупреждения нарушений, ибо психическое здоровье - это не статический, а динамический феномен [51]. Вследствие многолетних исследований, проведенных Институтом физиологии и санокреатологии Академии наук Молдовы, академик Ф.И.Фурдуй с соавторами (2013) пришли к заключению, что определение должно максимально отражать сущность психического здоровья, нейрофизиологических, психофункциональных и оценочно-исполнительных систем, через которые оно формируется, путей и механизмов целенаправленного формирования и поддержания желаемого уровня, и предлагают следующую дефиницию психического здоровья:

«Психическое здоровье человека представляет собой интегрированное сложное, многомерное (нейрофизиологический, когнитивный, эмоционально-чувственный, социально-поведенческий и личностно-смысловой компоненты), относительно устойчивое состояние высшей деятельности нервной системы организма с личностными характеристиками, предпосылкой становления которой является генетическая программа развития, реализуемая вследствие взаимодействия эмбриона и плода с организмом матери в антенатальном периоде, ребенка и матери — в постнатальном периоде, влияния психо-социальной среды в процессе ознакомления с окружающим миром и ассимиляцией знаний в ходе обучения, работы и творческой деятельности путем: 1) модуляции функций нейрофизиологической интегральной системы и нейрохимической системы мозга, генетически детерминированных и зависимых от ансамбля факторов среды; 2) формирования в онтогенезе в соответствии с механизмами системогенеза в процессе познавательной, социальной, трудовой и другой деятельности психофункциональных систем; и 3) оценочно–исполнительных систем, образующихся каждый раз за счет эмоций в процессе действия психогенных факторов и оценки адекватности своих и чужих действий, степени тревожности и благоприятности для жизнедеятельности организма через призму познаний, самопознания, реализации целей и автоактуализирования психофункциональных систем, сформировавшихся ранее и проявляющихся интегрированностью психических процессов, координированностью функций систем жизнеобеспечения; чувством удовлетворения от реализации физиологических, когнитивных и социально-поведенческих потребностей;

способностью к интеллектуальной деятельности; уравновешенностью эмоционально-чувственного статуса; осознанной социально-трудовой деятельностью; адекватным восприятием окружающей среды и соответствующими формами поведения обстоятельствам, противодействием своим и чужим действиям и намерениям, наносящих вред себе, обществу или природе; личностно-смысловой идентичностью; триггером формирования и поддержания психического здоровья и целенаправленная психо-социальная активность является потребность, установка и мотивация» [53].

Отсутствие до настоящего времени полной расшифровки понятия психического здоровья, безусловно, способствовало тому, что большая часть соматических заболеваний рассматривается без взаимосвязи с состоянием психики и чаще всего психические расстройства при соматических заболеваниях остаются вне поля зрения исследователей как соматической, так и психической сфер. Этим объясняется, в том числе и недостаточность изученности коморбидности психических расстройств при заболеваниях печени, хотя влияние соматической патологии и, в частности, болезней печени на психическую деятельность человека отмечалось с давних пор. Так, жрецы Древнего Китая и Месопотамии считали, что именно в печени «живет» душа человека [50]. Два с половиной тысячелетия назад Гиппократ в трактате «Эпидемии» описал нарушение психики при заболеваниях печени, указав основным проявлением желтухи увеличение печени, часто сопровождающееся лихорадкой, психическими расстройствами, кровоточивостью и последующей смертью больных [5, 43]. В первых столетиях новой эры Цельс и Гален указывали на расстройства психики при желтухе как на симптомы неблагоприятного исхода [5]. В средние века Д.Б.Морганьи и Ф.Т. фон Фрерихс также отмечали, что появление изменений психики при патологии печени является предвестником гибели больного [24, 37].

В трудах ученых прошлого века, посвященных нарушениям психической сферы у пациентов с вирусными гепатитами, акцент делался на острые формы патологии печени. Часть исследований XX столетия раскрывает острые психотические проявления при гепатитах: галлюцинаторно-бредовые психозы, синдромы помрачённого сознания и аффективные расстройства. В них авторы указывают, что развитие психоза в любом периоде заболевания печени всегда ухудшает прогноз и предвещает приближение печёночной комы и является непосредственным признаком скорого летального исхода [36, 39]. Внимание других исследователей сконцентрировано на неспецифических психогенных и стрессогенных нарушениях при печеночной патологии. C.M.Caravati (1944) и S.Sherlock (1946) описали «синдром постгепатита» - симптомокомплекс у реконвалесцентов, включающий изменения психики: усталость, депрессию и эмоциональную неустойчивость [5]. Однако в работах того периода отсутствует единое мнение авторов относительно значения и места психических нарушений в клинической картине и течении вирусных гепатитов.

Чтобы погрузиться в актуальность проблемы психологических нарушений при патологии печени и, в частности, хронических вирусных гепатитов (ХВГ), необходимо подчеркнуть, что гепатиты B, C, D являются одной из наиболее серьезных и злободневных проблем современности, и привести данные

мировой статистики, демонстрирующие, что по существу гепатиты приобрели характер эпидемии. Так, согласно Бюллетеням ВОЗ от 2014 и 2015 гг., вирусом гепатита В (HBV) инфицирован почти каждый третий человек в мире (примерно 2 миллиарда человек), из которых у 240 миллионов установлена хроническая форма заболевания; около 150 миллионов жителей планеты инфицированы вирусом гепатита С (HCV), и более 10 миллионов — вирусом гепатита D (HDV); таким образом, каждый двенадцатый человек на Земле живет с ХВГ. Заболевание может осложниться циррозом печени, кровотечением из вен пищевода, печеночной недостаточностью или раком печени. По данным мировой статистики, вирусы HBV и HCV в 78 % случаев являются основной причиной развития рака печени. Патология печени вирусной этиологии является одной из восьми основных причин смерти в мире, ежегодно этот недуг уносит жизни более миллиона человек [27, 41, 42].

По данным статистики, в Молдове показатели распространенности хронических вирусных гепатитов демонстрируют постоянную тенденцию к росту: показатель заболеваемости ХВГ за период 2002-2012 гг. вырос с 3,54% до 10,22%, т.е. почти в 3 раза, динамика распространенности ХВГ - HBV, HCV, HDV - представлена на диаграмме 1. В 2014 году было 1853 новых случая хронического вирусного гепатита. Риск инфицирования составляет от 20 до 60% среди разных слоев населения. По причине хронического гепатита и цирроза печени ежегодно регистрируется около 200 инвалидов, около 3000 человек умирают от осложнений вирусных гепатитов. По данным международной статистики, Молдова занимает первое место в мире по смертности от цирроза печени [31]. Экономический ущерб от заболеваемости вирусными гепатитами в 1997–2010 гг. составил 962,541 млн. леев. Таким образом, являясь краевой патологией Молдовы, ХВГ занимают одно из ведущих мест по уровню заболеваемости, тяжести течения, частоте хронизации, инвалидизации, смертности и экономическому ущербу [8, 20, 30, 31].

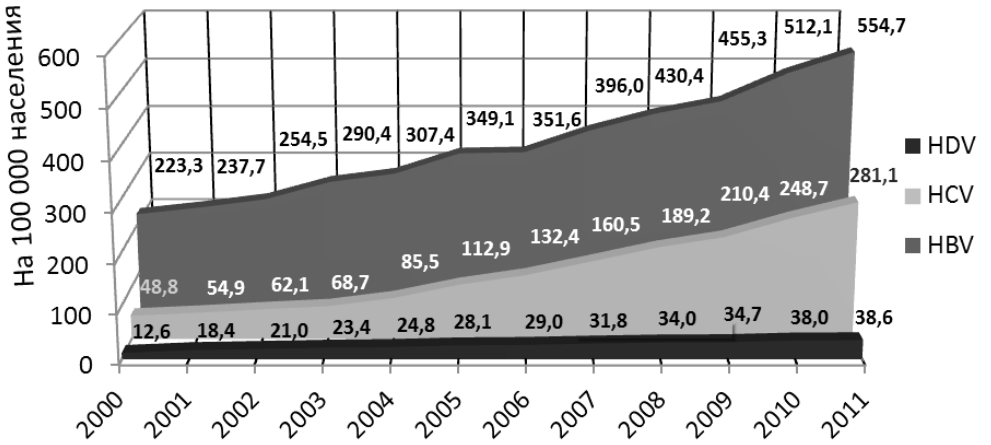


Диаграмма 1. Динамика распространенности хронических гепатитов HBV, HCV, HDV этиологии в Р. Молдова за период 2000–2011 гг. [30].

Последние десятилетия были отмечены значительными достижениями и открытиями в области диагностики, лечения и профилактики вирусных гепатитов: внедрены новые методы определения вирусов; произведена вакцина и широко проводится иммунизация против вирусного гепатита В и разработана противовирусная терапия. Безусловно, это открывает новые возможности в изучении изменений психологического статуса пациентов при вирусной патологии печени.

Анализ литературных данных за последние 25 лет позволяет предположить существование тесной взаимосвязи между ХВГ и наличием психической патологии - некоторые авторы указывают, что у более 50 % пациентов с ХВГ присутствуют какие-либо психогенные расстройства [10, 27].

M.B. El-Serag (2002), проводя обследование ветеранов Вьетнамской войны, установил, что у 86 %, инфицированных HCV, выявляется психическая патология; а E.Dieperink (2008) отметил, что среди пациентов с психическими расстройствами распространенность хронического гепатита С в 11 раз выше по сравнению с психически здоровыми лицами. Вместе с тем, на практике при лечении больных с ХВГ, не придается большого значения психологическим факторами и нет четкого механизма взаимодействия специалистов соматического и психического профилей [6, 9, 47].

Есть мнение, что параллельно с изменением клинического течения гепатитов, значительному патоморфозу подверглись и состояния психики при них. Признано, что ХВГ редко сопровождаются помрачением сознания и психозами, а доминируют пограничные нарушения и широкий спектр психологических реакций пациента на болезнь [46, 47].

Детальный анализ современной литературы, отражающей состояние психического здоровья пациентов с ХВГ, позволяет выделить четыре большие группы характерных нарушений психогенного и стрессогенного характера: *нарушения эмоциональной сферы*; *астенический симптомокомплекс*; *когнитивные расстройства*; *изменения социальной жизни или адекватности поведения* (см. рис.1).

Большая часть исследований нарушений эмоциональной сферы при ХВГ посвящена изучению депрессии и тревоги, которые появляются в клинике гепатитов одними из первых, могут сохраняться на всем протяжении болезни и в значительной мере определяют степень тяжести заболевания, обусловливают ряд проблем в лечении и снижают качество жизни пациентов [1, 2, 13, 15, 27, 46]. Распространенность депрессии и тревоги варьирует согласно данным разных исследователей (см. диагр. 2). Симптомы *раздражительности* демонстрируют от 13,8% [46] до 74,3% [18] пациентов. А.В.Канищев (2004) отмечает дисфорию у 42,8% пациентов [46].

Сравнительный анализ распространенности эмоциональных нарушений у пациентов с хроническими гепатитами HCV и HBV этиологии показывает, что пациенты с гепатитом С значительно чаще страдают от депрессии и тревоги, как видно из таблицы 1: в исследованиях S.Alian (2013) в 1,25 раза, у M.Hazaveh (2015) - в 1,8 раза, а у M.Ozkan (2006) в 3,4 раза чаще [1, 15, 27].

Рисунок 1. Нарушения психической сферы непсихотического характера у пациентов с ХВГ.

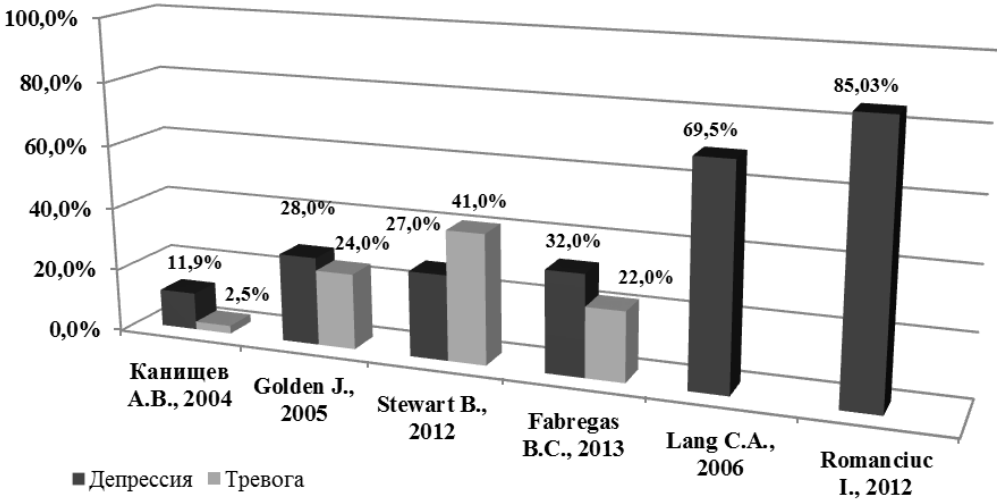


Диаграмма 2. Доля депрессии и тревоги у больных ХВГ по данным литературы [10, 13, 18, 33, 35, 46].

Необходимо отметить значительное различие данных о распространенности тех или иных нарушений психического здоровья, представленных в тексте, отраженных в таблице 1 и на диаграмме 2. Можно предположить, что такой

разброс полученных данных связан с использованием различных диагностических методик, разницей в тяжести патологии печени, различным популяционным составом, культурным уровнем и степенью информированности обследованных лиц о заболевании.

Таблица 1. Распространенность депрессии у пациентов с хроническими гепатитами HCV и HBV этиологии.

	S.Alian с соавт., 2013	M.Hazaveh с соавт., 2015	M.Ozkan с соавт., 2006
Пациенты с ХВГ	73,2 %	28,3%	22,4%
- HBV	68,0 %	19,8%	6,4%
- HCV	86,0 %	35,9%	21,7%

M. Hazaveh (2015) и A.Küçükbayrak (2011) с соавторами утверждают, что тяжесть клинического течения и активность процесса также коррелирует с частотой и тяжестью сопутствующих нарушений психики, а, по мнению J.Arvand (2012), сопутствующая психическая симптоматика требует длительного сопровождения и специфической терапии [2, 15, 17].

Таким образом, проблема взаимоотношения психического и соматического остается одной из наиболее сложных и неразрешенных, несмотря на непрекращающийся интерес к ней многих поколений ученых различных специальностей. Среди хронической патологии, протекающей с сопутствующими выраженными психоэмоциональными нарушениями, важное место занимают болезни печени. В изученных исследованиях продемонстрирована высокая коморбидность ХВГ с депрессией и тревогой.

Согласно данным ряда авторов [18, 26, 28, 46, 47], более 80 % пациентов с ХВГ демонстрируют проявления астенического симптомокомплекса, такие как:

- *общая слабость и повышенная утомляемость при незначительном физическом и умственном напряжении* - выявлены у подавляющего большинства больных*:* в 53,0% [29], 83,6 % [48], 86,0 % [18];
- *нарушение сна* - в 52,2% [47], 65,4% [18];
- *головная боль* - в 33,9 % [47], 55,6 % [18] и *головокружение* в 21,4 % [47].

Есть мнение, что симптомы астении в начале заболевания в течение нескольких месяцев и даже лет могут быть единственными проявлениями ХВГ, они же являются наиболее частыми остаточными явлениями на этапе выздоровления, а прогрессирование этих симптомов соответствует развитию печёночной недостаточности [5, 19, 47].

Исследования когнитивных расстройств (КР), сопутствующих ХВГ, малочисленны, описываются жалобы пациентов на «туман в голове», «затуманенный мозг», на что врачи-клиницисты обычно не обращают должного внимания и очень редко их исследуют с помощью стандартных тестов. Среди КР авторы указывают на нарушения: *скорости и объема оперативной памяти; концентрации внимания; точности скорости психомоторных функций; функций мозга, которые связаны с психической деятельностью, такие как планирование и принятие решений, исправления ошибок или действий в трудных ситуациях* [4, 11, 12, 16, 38].

Кроме того, M.P. McAndrews (2002) показал ухудшение способности выполнять задания по вербальному обучению у пациентов с легкими формами хронического гепатита С [22]. R.C.Hilsabeck (2005) опубликовал результаты исследований, демонстрирующие, что у пациентов с гепатитом С, отягощенного другой хронической патологией (алкогольный гепатит, ВИЧ), а так же при увеличении степени фиброза печени наблюдался рост и утяжеление когнитивной дисфункции. [16].

Этиология КР, сопровождающих ХВГ, остается неясной, существует большое количество гипотез: A.M.Forton (2002) высказывает мнение о вероятных иммунологических механизмах нейро-психических нарушений при хроническом гепатите С; A.Solinas (2015) предполагает наличие у этих пациентов минимальной печеночной энцефалопатии типа С; а S.Monaco (2012) считает, что причина КР кроется в астении и хронической усталости, сопровождающих патологию печени [12, 23, 34]. Таким образом, данные о когнитивных нарушениях у пациентов с вирусными гепатитами недостаточно однотипны и требуют дальнейшего изучения.

Изменения личностно-смыслового блока проявляются в девиациях социальной жизни, адекватности поведения, явлениях делинквентности у пациентов с ХВГ. Некоторые исследователи описывают различные варианты неадекватного отношения пациентов к своей болезни и к лечению. По данным А.В.Канищева (2004), каждый пятый больной ХВГ демонстрирует расстройство личностного восприятия болезни: отмечаются гипер- и гипоанозогностический типы реагирования (оба отрицательно влияют на лечение и повышают риск возникновения осложнений и неблагоприятных исходов), а Л.В.Ильмухина и Л.М.Киселева (2009) доказывают, что длительность заболевания оказывает значительное влияние на тип реагирования, что указывает на ухудшение психологического статуса больных с продолжительным персистированием вируса [45, 46].

Многие исследователи отмечают высокий процент употребления алкоголя и психоактивных веществ больными ХВГ: по данным D.A.Machado (2014), 34,2% пациентов с гепатитом С страдают расстройствами, связанными с употреблением алкоголя; а H.B. El-Serag (2002) отметил, что среди HCV-инфицированных были диагностированы расстройства, связанные с употреблением алкоголя в 1,7 раза, а наркотических веществ в 2,2 раза чаще, по сравнению с лицами без сопутствующей вирусной патологии печени [9, 21, 27].

В большинстве исследований сообщается, что диагноз ХВГ оказывает сильное влияние на социальное функционирование человека, наблюдается стигматизация со стороны родных, близких, работодателя и общества в целом, что способствует социальной изоляции и сокращению близости в отношениях. Так, I.Rafique (2015) пишет, что у 66 % обследованных им пациентов с ХВГ присутствовали опасения заразить родственников и близких, а 19 % испытывали на себе избегание с их стороны [32]. G.Grundy, N.Beeching (2004) обнаружили, что страх перед передачей вируса - в частности, посредством интимных отношений или от матери детям - способствует неуверенности в исполнении гендерных ролей в группе женщин с гепатитом С [14]. А S.Zacks (2006), анализируя присутствие

стигм в повседневной жизни пациентов с ХВГ, указывает, что 1/3 опрошенных воздерживалась от обмена полотенцем, 47 % - стаканами, 14 % - не принимало участие в приготовлении пищи [40]. Таким образом, стигмы воспринимаются как дискриминация, препятствуют адаптации к диагнозу гепатит, становятся источником беспокойства у людей с хроническим гепатитом, и, как следствие, могут способствовать их девиантному и делинквентному поведению.

Вместе с тем необходимо согласиться с рядом исследователей, которые считают, что в настоящее время уделяется недостаточно внимания изучению индивидуальных особенностей проявления психических расстройств, а так же социализации больных ХВГ и их психологической реабилитации, эффективность которых, в большой степени зависит от выявления личностно-специфичных и характерологических особенностей пациентов и подбора индивидуальной тактики компенсации и коррекции психических расстройств [25, 40, 48].

Таким образом, в результате проведенного анализа можно заключить:

1. Нарушения психического здоровья достаточно часто сопутствуют патологии печени, являясь при этом составным компонентом клинической картины хронических вирусных гепатитов.

2. В настоящее время отсутствует четко определенный подход к коррекции психических расстройств и психологической реабилитации пациентов с хронической патологией печени вирусной этиологии.

3. В целях повышения эффективности лечения психических расстройств у больных хроническими вирусными гепатитами необходимо структурировать их симптоматику в соответствии с классификацией уровней психического здоровья.

Библиография

1. *Alian S., Masoudzadeh A., Khoddad T. et al.* Depression in hepatitis B and C, and its correlation with hepatitis drugs consumption (interfron/lamivodin/ribaverin). //Iran J. Psychiatry Behav Sci., 2013, No 7(1) pp.24-29. [PubMed] PMID: 24644496; [FreeArticle].
2. *Arvand J. et al.* Depression in patient with chronic hepatitis B: an experience on individual solution-focused therapy. //J. Gastroenterology and Hepatology Bed Bench, 2012, 5 (3), pp.166-168. [PubMed] PMID: 24834219; [FreeArticle].
3. *Bhugra D., Kar A., Lawton-Smith S.* Integration of Mental and Physical Health Services: Lessons. //J. Psychosoc. Rehabil. Ment. Health, 2014, 1 (1), pp.15-21. [FreeArticle].
4. Collie A. Cognition in liver disease. J. Liver International, 2005, 25(1), pp.1-8. [PubMed] PMID:15698392.
5. *Davidson Ester A., Summerskill W.H.J.* Psychiatric aspects of liver disease. //Postgraduated Medical Journal, October, 1956, pp.487-494. [FreeArticle]
6. *Dieperink E., Leskela J., Dieperink M.E., et al.* The Effect of Pegylated Interferon-(alpha) 2b and Ribavirin on Posttraumatic Stress Disorder Symptoms. //J. Psychosomatic, 2008, 49, pp.225-229.[PubMed] PMID: 18448777.
7. *Dlouhy M.* Mental health policy in Eastern Europe: a comparative analysis of seven mental health systems. //J. BMC Health Services Research, 2014, 14:42, 8 pag.. [FreeArticle].
8. *Dumbrava V-T., Tofan-Scutaru L., Holban T.* Hepatita cronică virală B la adult. Protocol Clinic Național. Chisinău, 2013, 60 p.
9. *El-Serag H.B., Kunik M., Rabeneck L.* Psychiatric disorders among veterans with hepatitis C infection. //J. Gastroenterology, 2002, 123, pp.476-482. [PubMed] PMID: 12145801 [FreeArticle].

10. Fabregas BC et al. Health related quality of life among patients with chronic hepatitis C: a cross-sectional study of sociodemographic, psychopathological and psychiatric determinants. //Braz J Infect Dis [online], 2013, vol.17, No.6, pp.633-639. ISSN 1413-8670. [PubMed] PMID: 23916456; [FullText PDF].

11. Forton D. M., Thomas H.C., Murphy C.A. et.al. Hepatitis C and Cognitive Impairment in a Cohort of Patients with Mild Liver Disease. //J. Hepatol., 2002, Vol. 35, No. 2, pp.433-439. [PubMed] PMID:11826420; [FullText PDF].

12. Forton D.M., Taylor-Robinson S. D., Thomas H. Reduced quality of life in hepatitis C - is it all in the head? //J. Hepatol., 2002, Vol. 35, pp.435–438. [FreeArticle] .

13. Golden J., O'Dwyer A.M., Conroy R.M. Depression and anxiety in patients with hepatitis C: prevalence, detection rates and risk factors. //Gen Hosp Psychiatry, 2005, Nov-Dec No.27(6), pp.431-438 [PubMed] PMID: 16271658; [FullText].

14. Grundy G., Beeching N. Understanding social stigma in women with hepatitis C. //Nurs Stand., 2004, Oct, 6-12, No.19(4), pp.35-39. [PubMed] PMID:15521414.

15. Hazaveh M.M. et al. Prevalence and severity of depression in chronic viral hepatitis in Iran. //Oxford University Press Journals, Health & Medocine, J. Gastroenterology Report, February, 2015, pp.1-4 [FreeArticle].

16. Hilsabeck R.C. et al. Neuropsychological Aspects of Coinfection with HIV and Hepatitis C Virus. //J. Clin. Infect. Dis., 2005, Vol. 41 (Suppl. 1), pp.S38-S44. [FreeArticle].

17. Küçükbayrak A, et al. Evaluation of psychiatric morbidity and quality of life in inactive HbsAg carriers. //African J. of Microbiology Research, 2011, Vol. 5(22), pp.3836-3841. ISSN 1996-0808 [FreeArticle].

18. Lang C.A., Conrad S., Garrett L. et al. Macdonald GA. Symptom prevalence and clustering of symptoms in people living with chronic hepatitis C infection. //J. Pain Symptom Manage, 2006, Apr, Vol.31(4) pp.335-44. [PubMed] PMID: 16632081; [FullText PDF].

19. Langen C.D. Hepatites and post-hepatitis syndrome. //South African Medical Journal, 1951, Vol.25, No.41, pp.737-739 [FullText PDF].

20. Lupașco Iulianna. Hepatite cornice și alte forme ale bolilor cronice difuze ale ficatului. Chișinău, 2014, pp.15-28, 328p. ISBN 978-9975-3018-2-4.

21. Machado D.A., Silva G.F. et al. Depressive symptoms and harmful alcohol use in hepatitis C patients: prevalence and correlates. //Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2014, Mar-Apr, Vol.47(2), pp.149-157. [FreeArticle].

22. McAndrews M.P., Farcnik K., Carlen P. et al. Prevalence and significance of neurocognitive dysfunction in hepatitis C in the absence of correlated risk factors. //J. Hepatology, 2005, Vol.41, pp.801-808. [PubMed] PMID: 15793853; [FullText PDF].

23. Monaco S., Ferrari S., Gajofatto A., et al. HCV-Related Nervous System Disorders. //J. Clin. Dev. Immunol., 2012, Article ID 236148, 9 pages. [PubMed] PMID:22899946; [FreeArticle].

24. Neurology and general medicine. Chapter 14. Hepatic Encephalopathy. (Lockwood A.H.), edited by Michael J. Aminoff, 4th ed., Philadelphia, 2008, Pages 265–279. ISBN 978-0-443-06707-5. [FullText].

25. Niederau C., Fischer C., Kautz A. Socio-economical aspects, quality of life and state of knowledge in hepatitis B patients. //Z. Gastroenterol., 2007, Vol.45, No.5. pp.355-368. [PubMed] PMID:17503314.

26. Obhrai J., Hall Y., Anand B.S. Assessment of Fatigue and Psychologic Disturbances in Patients with Hepatitis C Virus Infection. //J. of Cl. Gastroenterol., 2001, Vol.32, pp.413-417 [FreeArticle].

27. Ozkan M., Corapçioglu A., Balcioglu I., et al. Psychiatric morbidity and its effect on the quality of life of patients with chronic hepatitis B and hepatitis C. //Int. J. Psychiatry Med., 2006, Vol.36 pp.283–97. [PubMed] PMID: 17236696.

28. Piche T., Gelsi E., Schneider S.M., et al. Fatigue is associated with high circulating leptin levels in chronic hepatitis C. J.Gut, 2002, Sep., Vol.51(3), pp.434–439 . [FreeArticle]

29. Poynard T., Cacoub P., Ratziu V., et al. Fatigue in patients with chronic hepatitis C. //J. Viral Hepat., 2002, Jul., Vol.9(4), pp.295-303. [PubMed] PMID: 12081607.

30. Prisacari V., Paraschiv A., Spînu C., Holban T., Rîmişi C., Gurlev V., Lupaţco I. Hepatitele virale parenterale și ciroze hepatice — epidemiologia, clinica, diagnosticul, tratamentul, prevenirea și controlul. Ghid. Chișinău, 2013, 160p., pp.93-131.

31. Programul național de combatere a hepatitelor virale B, C şi D pentru anii 2012 - 2016 [FullText].

32. Rafique I., Saqib M.A.N., Siddiqui S. et al. Experiences of stigma among hepatitis B and C patients in Rawalpindi and Islamabad, Pakistan. //East Mediterr Health J., 2015, Feb., Vol.20(12), No.2, pp.796-803. [PubMed] PMID:25664518; [FreeArticle].

33. Romanciuc I., Lupaşco I., Dumbrava V.-T. De ce depinde calitatea vieţii pacienţilor cu hepatite cronice virale? Curierul medical, 2012, 3 (327), pp.222-224. ISSN 1875-0666. [FullText PDF].

34. Solinas A, Piras MR, Deplano A. Cognitive dysfunction and hepatitis C virus infection. //World J. Hepatol., 2015, May 8, Vol.7(7), pp.922-925. [PubMed] PMID: 25954475 [FullText PDF].

35. Stewart B., Mikocka-Walus A., Morgan J. et al. Anxiety and depression in Australian chronic hepatitis C outpatients: prevalence and predictors. B. //Australas Psychiatry, 2012, Dec., Vol.20(6), pp.496-500. [PubMed] PMID: 23099509; [FullText].

36. Stokes J.F., Owen J.R., Holmes E.G. Neurological complication of infective hepatitis. //British Medical Journal, 1945, No.427, pp.642-644. [PubMed].

37. Summerskill W.H., Davidson E.A., Sherlock S., Steiner R.E. The neuropsychiatric syndrome associated with hepatic cirrhosis and an extensive portal collateral circulation. //Q. J. Med., 1956, April, Vol.25(98), pp.245–266. [PubMed] PMID: 13323252 [FreeArticle].

38. Weissenborn K., Krause J., Bokemeyer M. et al. Hepatitis C virus infection affects the brain-evidence from psychometric studies and magnetic resonance spectroscopy. //J. Hepatol., 2004, Nov, Vol.41(5), pp 845-851. [PubMed] PMID: 15519659.

39. Willis G.C. Clinical experiences with 120 cases of hepatic coma. //The Canadian Medical Association J., 1960, Vol.82, No.4, pp.191–195. [PubMed] PMCID: PMC1937685.

40. Zacks S., Beavers K., Theodore D. et al. Social stigmatization and hepatitis C virus infection. //J. Clin. Gastroenterol., 2006, Vol.40, No.3, pp.220-224. [PubMed] PMID:16633123.

41. Гепатит В. //Информационный бюллетень ВОЗ N 204, Март 2015г. [FreeArticle].

42. Гепатит С. //Информационный бюллетень ВОЗ N 64, Апрель 2014г [FreeArticle].

43. Гиппократ. Сочинения в 3 томах. Том II Трактаты: «О внутренних страданиях». «Эпидемии». Перевод с греческого: проф. В. И. Руднев [FreeArticle].

44. Дружилов С.А. Психическое здоровье и экология личности. //J. Advances in current natural sciences, J. Medical sciences, 2012, No.12, pp.12-15. [FreeArticle].

45. Ильмухина Л.В., Киселева Л.М. Психологические характеристики больных хроническим вирусным гепатитом старше 50 лет. //Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН, 2009, №1, сс.44-45. [FreeArticlePDF].

46. Канищев А.В. Непсихотические расстройства психической сферы у больных вирусными гепатитами (клиника, диагностика, принципы психотерапии). Автореф. дис. канд. мед. наук: 14.01.16. Харьков, 2004, 22 с. [FullText PDF].

47. Канищев А.В. Расстройства психической сферы у больных вирусными гепатитами: эволюция исследований и современное состояние проблемы. //Ж. Врачебная практика, 2000, № 3, сс.51–54. [FreeArticle].

48. *Омельченко В.П., Заика В.Г., Пшеничная Н.Ю. и др.* Прогнозирование психической дезадаптации у больных хроническими вирусными гепатитами по результатам соматопсихологического обследования. //Ж. Фундаментальные исследования. Медицинские науки, 2013, № 9, сс.720-723. [FreeArticle].

49. *Психическое здоровье.* //Информационный бюллетень ВОЗ N 220, Август 2014г.

50. *Сторожаков Г.И., Никитин И.Г.* Печеночная энцефалопатия: патогенетические механизмы, клиника, лечение. //Ж. Лечебное дело, 2006, 1, сс. 13-17. [FreeArticle].

51. *Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф.* Психосанокреатология и уровни психического здоровья. I. Предпосылки разработки системы классификации психического здоровья. //Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii, Nr.2(323), 2014, сс.4-11.

52. *Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф.* Психосанокреатология и уровни психического здоровья. 2. Симптоматика, присущая разным психофизиологическим и психическим состояниям и разработка первого варианта классификации уровней психического здоровья. (Лекция на пленарном заседании X-го Международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии»). //Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii. Nr. 2 (323), 2014, сс.12-24

53. *Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф.* Санокреатология - альтернатива существующим концепциям формирования и поддержания психического здоровья. //Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii, Nr.2(320), 2013, сс.4-19.

54. *Шувалов А. В.* Психическое здоровье человека. //Вестник ПСТГУ IV: Педагогика. Психология, 2009. Вып. 4 (15), сс.87–101 [PDF]

POTENŢIALUL VITAL ŞI MASA CORPULUI ŞOBOLANILOR MATURI ALIMENTAŢI CU DIFERIT CONŢINUT AL COMPONENTELOR CONSTITUENTE ALE RAŢIEI

Poleacova Lilia

Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

În lucrare este examinat potenţialul vital şi masa corpului şobolanilor maturi alimentaţi cu diferit conţinut al componentelor constituente ale raţiei. În rezultat, a fost stabilit faptul că atât alimentaţia şobolanilor cu raţie relativ bogată în proteine, precum şi cu raţie relativ bogată în glucide, asociate cu efort fizic maximal, nu exercită o influenţă relevantă asupra manifestării potenţialului vital. Masa corpului însă, manifestă o tendinţă de sporire a creşterii acesteia la şobolanii ce au fost hrăniţi cu raţie relativ bogată în proteine şi o tendinţă mai scăzută de creştere în greutate a celor hrăniţi cu raţie relativ bogată în glucide.

Cuvinte cheie: raţie alimentară, perioadă de vârstă, şobolani maturi, efort fizic, înot, componente constituente, potenţial vital.

Depus la redacţie 22 septembrie 2015.

Adresa pentru corespondenţă: Ciochină Valentina, Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028, Chişinău, Republica Moldova; e-mail: valentina.ciochina@gmail.com; tel. (+373 22) 73-71-42

Introducere

Odată cu dezvoltarea sanocreatologiei, problema organizării alimentaţiei în conformitate cu perioadele specifice de vârstă devine extrem de actuală. Este vorba

de următoarele perioade de vârstă: creşterii masei corpului, dezvoltării şi constituirii morfofuncţionale; funcţionării stabile morfofuncţionale; diminuării funcţiilor şi degradării morfofuncţionale [1, 2, 4-7]. Conform sanocreatologiei, numai acele sisteme de alimentaţie vor avea succes, care vor ţine cont de necesităţile fiziologice, metabolice şi sanogene ce au conotaţie diferită în diverse perioade de vârstă. Anterior [3], în concordanţă cu aceste perioade, a fost determinat impactul raţiei cu diferit conţinut al componentelor constituente asupra potenţialului vital şi masei corpului şobolanilor de vârstă senilă. În rezultatul acestor studii a fost stabilit aportul diferit al glucidelor şi proteinelor în manifestarea potenţialului vital în acea vârstă. În mod firesc, următoarea sarcină a studiilor noastre constă în estimarea potenţialului vital şi masei corpului şobolanilor maturi alimentaţi cu diferit conţinut al componentelor constituente ale raţiei.

Materiale şi metode

Cercetările au fost efectuate pe 15 şobolani albi, masculi-maturi (5-6 luni), întreţinuţi în condiţii de vivariu în conformitate cu prescripţiile Regulamentului de întreţinere a animalelor de laborator. Şobolanii, repartizaţi în celule, au fost adaptaţi la condiţiile de întreţinere timp de 14 zile. Animalele de laborator au fost repartizate în trei loturi experimentale: lotul I (de control) - raţie alimentară standard (15% - proteine, 60% - glucide, 25% - lipide), lotul II - raţie alimentară relativ bogată în proteine (25% - proteine, 55% - glucide, 20% - lipide), lotul III - raţie relativ bogată în glucide (10% - proteine, 70% - glucide, 20% - lipide). Toate animalele din cele 3 loturi au fost supuse efortului fizic maximal prin înot. Bazinul în care au fost supuşi înotului şobolanii, reprezintă un vas de formă dreptunghiulară, cu mărimile 46×35×27cm, din plastic. Temperatura apei + 27°C. Potenţialul vital se determina zilnic prin efortul fizic dinamic maximal prin înot pe parcursul a 31 de zile: şobolanii erau supuşi înotului până la epuizarea fizică, despre ce ne mărturisea scufundarea animalului. În acel moment şobolanul era scos din apă. Animalele au fost marcate cu vopsea rezistentă la apă. Ele erau cântărite înainte de a începe experimentul şi la începutul fiecărei săptămâni pe tot parcursul experimentului. Durata experimentului - 31 de zile. Analiza statistică a rezultatelor obţinute s-a realizat cu utilizarea t-criteriului Student.

Rezultate şi discuţii

Impactul dietei cu diferit conţinut al componentelor constituente ale acesteia, s-a apreciat prin studierea modificării masei corporale şi potenţialului vital pe parcursul a 31 de zile de alimentare a şobolanilor cu raţia corespunzătoare.

Rezultatele influenţei raţiei standard şi raţiei relativ bogate în proteine sunt prezentate în tabelul 1. Analiza dinamicii manifestării potenţialului vital pe parcursul a 31 de zile mărturiseşte că, potenţialul vital la ambele grupe de şobolani, adică la cei ce au fost alimentaţi cu raţie standard, cât şi la cei alimentaţi cu raţie relativ bogată în proteine, sporeşte în ansamblu, dar în măsură diferită. În acelaşi timp compararea cifrelor de exteriorizare a potenţialului vital mărturiseşte că, efortul fizic maximal zilnic pe parcursul a 31 de zile sporeşte relativ omogen posibilităţile fizice ale organismului şobolanilor cu raţia standard, pe când cei cu raţia relativ bogată în proteine, comparativ cu grupa control pe parcursul a 10 zile, acest potenţial se micşora veridic.

Potenţialul vital la şobolanii alimentaţi cu raţie relativ bogată în proteine comparativ cu cel al şobolanilor – control, sporeşte într-o măsură mai mică: dacă la şobolanii

hrăniţi cu raţie standard, timpul maximal al efortului fizic în ultimele zile de experiment (29-31-a zi) alcătuia corespunzător 59,71±10,26; 57,96±14,05; 60,91±15,62 minute, apoi la cei ce erau hrăniţi cu raţie relativ bogată în proteine, timpul maximal alcătuia - 41,4±11,59; 48,16±16,81 şi 48,77±17,04 minute. Această diminuare a potenţialului vital se manifestă neidentic în diferite zile de estimare a timpului maximal de înot. De exemplu: în ziua a 8-a şi a 9-a, timpul maximal al grupei de şobolani ce au fost alimentaţi cu raţie relativ bogată în proteine alcătuia corespunzător 9,13±3,25 şi 7,24±4,60 minute, fiind de o veridicitate înaltă comparativ cu timpul maximal de înot în aceleaşi zile a şobolanilor alimentaţi cu raţie standard (16,35±3,88 şi 15,66±2,96); în ziua a 10-a şi a 11-a nu s-a evidenţiat o diferenţă veridică a potenţialului vital al acestor grupe; nu s-a identificat deosebire în exteriorizarea posibilităţilor de înot de durată maximală în aceste grupe şi în zilele 22, 23 şi 24. În următoarele 7 zile (25-31-a zi) diferenţa în manifestarea potenţialului vital avea loc numai în zilele 25 şi 29 (raţie standard – 45,65±12,61 şi 59,71±10,26, raţie relativ bogată în proteine – 30,81±4,94 şi 41,4±11,59).

Aşadar, alimentaţia cu raţie relativ bogată în proteine nu manifestă o influenţă stabilă asupra potenţialului vital: în cele mai multe zile de estimare a potenţialului vital – 21 de zile, din cele 31 de zile care au constituit perioada de studiu, surplusul de proteine nu manifesta impact veridic asupra acestuia, numai pe parcursul a 10 zile – diminua într-o măsură mai mare sau mai mică acest potenţial.

Tabelul 1. Dinamica manifestării potenţialului vital (în minute) al şobolanilor maturi alimentaţi cu raţie relativ bogată în proteine în dependenţă de zilele efectuării efortului fizic maximal.

Numărul de zile	Potenţialul vital al şobolanilor alimentaţi cu raţie standard	Potenţialul vital al şobolanilor alimentaţi cu raţie relativ bogată în proteine
1	*2*	*3*
1	3,33±1,95	3,53±2,24
2	5,94±3,78	3,38±1,79
3	7,37±2,91	3,64±1,32*
4	9,47±3,51	4,73±2,36*
5	9,69±3,31	6,88±5,95
6	9,69±4,62	7,52±4,38
7	14,92±5,98	7,38±4,14*
8	16,35±3,88	9,13±3,25**
9	15,66±2,96	7,24±4,60**
10	13,91±4,62	11,19±4,97
11	20,69±6,86	13,82±5,48
12	21,96±6,31	13,38±3,97*
13	24,32±6,64	19,29±4,64
14	22,96±4,67	13,93±4,27**
15	22,60±8,61	17,08±2,83

Tabelul 1 (Continuare)

1	*2*	*3*
16	25,77±9,22	17,91±3,79
17	34,94±11,71	21,67±2,37
18	29,95±6,41	21,63±3,23*
19	22,34±4,70	17,65±1,99
20	25,2±5,77	20,81±4,78
21	28,79±6,85	24,51±3,50
22	25,61±7,15	22,72±2,74
23	30,24±8,83	24,37±3,03
24	26,73±4,33	25,34±2,22
25	45,65±12,61	30,81±4,94*
26	57,35±19,17	38,51±11,65
27	46,82±12,55	32,83±9,36
28	51,20±14,85	34,66±9,60
29	59,71±10,26	41,4±11,59*
30	57,96±14,05	48,16±16,81
31	60,91±15,62	48,77±17,04

Notă: **p<0,01; *p<0,05 comparativ cu indicii din grupa de control.

Următorul experiment a fost consacrat studierii dinamicii manifestării potenţialului vital al şobolanilor maturi alimentaţi cu raţie relativ bogată în glucide şi asociată cu efectuarea efortului fizic dinamic. Rezultatele acestor studii sunt prezentate în tabelul 2.

După cum se vede din tabel, efortul fizic dinamic pe fondalul alimentaţiei şobolanilor cu raţie standard, sporeşte pe zi ce trece potenţialul vital, deşi neuniform: dacă în ziua a 17-a a influenţei efortului fizic, şobolanii în medie înotau timp de 34,94±11,71, apoi în ziua a 19-cea - 22,34±4,70 minute; sau dacă în ziua a 26-a de influenţă a efortului fizic, timpul maximal de înot alcătuia 57,35±19,17, apoi în a 27-a zi, şobolanii din această grupă înotau timp de 46,82±12,55 minute.

Tabelul 2. Dinamica manifestării potenţialului vital (în minute) al şobolanilor maturi alimentaţi cu raţie relativ bogată în glucide în dependenţă de zilele efectuării efortului fizic maximal.

Numărul de zile	**Potenţialul vital al şobolanilor alimentaţi cu raţie standard**	**Potenţialul vital al şobolanilor alimentaţi cu raţie relativ bogată în glucide**
1	*2*	*3*
1	3,33±1,95	6,88±3,43
2	5,94±3,78	6,37±3,28
3	7,37±2,91	8,93±3,47
4	9,47±3,51	13,83±6,10
5	9,69±3,31	16,07±6,13

Tabelul 2 (Continuare)

1	*2*	*3*
6	9,69±4,62	18,87±7,66
7	14,92±5,98	22,26±4,87
8	16,35±3,88	25,34±5,47*
9	15,66±2,96	21,36±8,29
10	13,91±4,62	20,90±6,97
11	20,69±6,86	27,80±8,57
12	21,96±6,31	26,97±9,28
13	24,32±6,64	32,13±13,41
14	22,96±4,67	30,86±11,96
15	22,60±8,61	29,18±10,89
16	25,77±9,22	25,67±9,88
17	34,94±11,71	37,76±16,86
18	29,95±6,41	33,32±15,40
19	22,34±4,70	27,86±10,58
20	25,2±5,77	23,58±7,19
21	28,79±6,85	30,59±9,65
22	25,61±7,15	31,91±9,22
23	30,24±8,83	30,67±8,75
24	26,73±4,33	34,6±12,14
25	45,65±12,61	44,46±16,32
26	57,35±19,17	44,25±14,88
27	46,82±12,55	41,45±14,34
28	51,20±14,85	41,58±17,82
29	59,71±10,26	57,90±18,95
30	57,96±14,05	60,51±16,54
31	60,91±15,62	61,96±18,32

Notă: *p<0,05 comparativ cu indicii din grupa de control.

Referitor la şobolanii alimentaţi cu raţie relativ bogată în glucide, pe parcursul duratei experimentului – 31 de zile, la fel ca şi cei hrăniţi cu raţie standard, manifestau capacităţi suplimentare a executării efortului fizic. Sporirea acestor capacităţi nu aveau caracter variabil: dacă în ziua a 17-cea de efort fizic pe fondalul alimentaţiei cu raţie relativ bogată în glucide, timpul maximal de înot constituia 37,76±16,86, apoi în ziua a 20-cea de efort fizic, alcătuia 23,58±7,19 minute.

Aşadar, alimentaţia şobolanilor cu raţie relativ bogată în glucide asociată cu efort fizic dinamic zilnic pe parcursul a 31 de zile, n-a provocat modificări esenţiale în exteriorizarea potenţialului vital.

De rând cu potenţialul vital a fost firesc de a studia influenţa modificării raţiei asupra masei corpului. Rezultatele acestor cercetări sunt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3. Masa corpului şobolanilor maturi alimentaţi cu raţie standard, relativ bogată în proteine şi relativ bogată în glucide în diferite perioade de efectuare a efortului fizic maximal (g).

Perioada experimentului	Masa corpului şobolanilor alimentaţi cu raţie standard	Masa corpului şobolanilor alimentaţi cu raţie relativ bogată în proteine	Masa corpului şobolanilor alimentaţi cu raţie relativ bogată în glucide
Înainte de experiment	228,00±9,51	224,80±21,58	245,20±27,42
a 7-a zi de experiment	292,00±8,12	294,40±27,53	321,40±50,09
a 14-a zi de experiment	314,80±10,89	312,60±26,46	318,80±4,54
a 21-a zi de experiment	323,80±15,80	326,60±27,43	331,60±40,07
a 28-a zi de experiment	332,00±20,21	334,80±26,51	335,00±40,89
Surplusul masei corpului la finele experimentului	104	110	89,8

Analiza datelor prezentate în tabel denotă că, pe parcursul experimentului masa corpului şobolanilor care au fost alimentaţi cu raţie standard, a celor alimentaţi cu raţie relativ bogată în proteine, cât şi a celor cu raţie relativ bogată în glucide, a sporit relativ neuniform corespunzător cu 104,110 şi 89,8 g.

Analiza comparativă a masei corpului acestor animale, mărturiseşte că se manifestă o tendinţă de sporire a masei corpului doar la şobolanii ce au fost alimentaţi cu raţie relativ bogată în proteine şi o tendinţă mai scăzută de creştere în greutate a celor hrăniţi cu raţie relativ bogată în glucide.

Concluzii

1. Alimentaţia şobolanilor cu raţie relativ bogată în proteine, precum şi cu raţie relativ bogată în glucide, asociate cu efort fizic maximal pe parcursul a 31 de zile, nu exercită o influenţă relevantă asupra manifestării potenţialului vital.

2. Masa corpului şobolanilor alimentaţi cu raţie ce conţine surplus de proteine sau glucide, manifestă o tendinţă de sporire a creşterii acesteia la cei ce au fost hrăniţi cu raţie relativ bogată în proteine şi o tendinţă mai scăzută de creştere în greutate a celor hrăniţi cu raţie relativ bogată în glucide.

Bibliografie

1. *Furdui T., Vudu Gr.* Perioadele critice în dezvoltarea postnatală a copilului.// Buletinul AŞ RM. Ştiinţe biologice ş chimice. 1998, Nr.2, p. 39-41.

2. *Furdui T., Vudu Gr.* Perioadele vârstei omului după maturizare. Zilele Univ. de Medicină şi Farmacie „N.Testemiţanu": Materialele conf. şt. an. a colab. şi studenţilor, 21-22 oct. 1998. Chişinău, 1998, p. 71.

3. *Poleacova L.* Impactul raţiei cu diferit conţinut al componentelor constituente asupra potenţialului vital şi masei corpului şobolanilor senili. //Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii. Nr.1(325), 2015, p.55-63.

4. *Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К. и др.* Предпосылки и основные положения санокреатологической теории питания челевека. III. Санокреатологическая теория питания человека. //Известия АНМ. Науки о жизни. 2011. №2, с.15-16,18.

5. *Фурдуй Ф.И., Вуду Г.А. и др.* Периодизация постнатального развития ребенка. // Buletinul AŞ RM. Ştiinţe biologice şi chimice. 1995, №4, с.38-44.

6. *Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф.* Преждевременная общебиологическая деградация современного общества, регулирование его воспроизводства, саногенное питание и пути их решения - важнейшие межгосударственные проблемы. //Итоги науки. Том 3, Избранные труды Международного симпозиума по фундаментальным и прикладным проблемам науки. М.: РАН, Глава 6. 2014, с.85-112.

7. *Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф.* Три важнейшие проблемы физиологии и санокреатологии, детерминирующие состояние здоровья общества. Пути их решения. // Научные труды IV съезда физиологов СНГ, Сочи-Дагомыс, Россия, 8-12 октября, 2014, с.19-20. ISBN 5-94255-017-9.

ROLUL FACTORULUI ALIMENTAR ÎN MENŢINEREA MICROBIOCENOZEI INTESTINALE ŞI SĂNĂTĂŢII ORGANISMULUI

Strutinschi Tudor, Timoşco Maria

Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

Au fost testate trei variante ale factorului alimentar pe animale model (cobai). S-a evidenţiat componenţa ce asigură acţiune benefică asupra organismului animal, cît şi a reprezentanţilor principali ai microflorei lui intestinale (varianta nr.2). Acest fapt este confirmat prin sporirea nivelului cantitativ al bifido-, lactobacililor şi streptococilor, (respectiv, cu 32,92; 33,63 şi 20,95%), şi diminuarea numerică a bacteriilor genurilor Escherichia şi Proteus – (cu 32,98 şi 53,86%) precum şi sporirea masei corporale (cu 31,71; 32,05 şi 20,28%).

Nu se recomandă schimbări în componenţa factorului alimentar, pentru că înlocuirea proteinelor animale cu cele vegetale a acţionat negativ asupra parametrilor investigaţi, mai ales, a contribuit la mărirea considerabilă a numărului microorganismelor condiţionat patogene (din genurile Escherichia şi Proteus), respectiv, cu 35,68 şi 27,89%.

Cuvinte cheie: factor alimentar, animale model, bifidobacterii, lactobacili, streptococi, genuri de microorganisme condiţionat patogene.

Depus la redacţie 23 septembrie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Strutinschi Tudor, Institutul de Fiziologie şi Sanocreatologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028 Chişinău, Republica Moldova; e-mail: nutrivit @yandex.ru; tel. (+373 22) 73-71-42

Introducere

Actualmente se consideră că circa 80% din disfuncţiile şi patologiile neinvazive sunt dependente de factorul alimentar. Consecinţele negative ale acţiunii acestuia se datorează reziduurilor metabolice ce se acumulează în organism şi reflectă o influenţă toxică asupra lui [1, 4, 13, 14]. În această ordine de idei, lucrările noastre precedente au demonstrat că numai modificarea structurii calorice a raţiilor alimentare a acţionat în mod diferit asupra unor reprezentanţi ai microflorei intestinale [8], iar schimbarea nivelului cantitativ al unor genuri de microorganisme obligative tubului digestiv (*Bifidobacterium şi Lactobacillus)* au predeterminat starea funcţională a sistemului digestiv [9]. Concomitent s-a considerat că regimul alimentar corect echilibrat pe de o parte, are destinaţia să asigure profilaxia intoxicaţiilor organismului cu produse

metabolice, iar pe de altă parte, să excludă riscurile de apariţie şi dezvoltare a dismicrobismului intestinal [17, 19].

Informaţia existentă afirmă că, circa peste 90% dintre copii şi maturi suferă de unele forme de dismicrobism intestinal, inclusiv disfuncţii diareice [3, 5, 11, 15]. Astfel de afecţiuni se înregistrează, preponderent, în cazul funcţionării tardive a sistemului imun [6], ce cauzează diminuarea nivelului de sinteză a substanţelor de importanţă vitală pentru macroorganism (vitamine, enzime, aminoacizi etc.), precum şi de absorbţie a acestora etc. [2, 10, 19].

Unii cercetători declară că proprietăţile toxice ale alimentelor iniţial se manifestă prin acţiunea lor asupra sistemului digestiv, mai ales, asupra microbiocenozei tractului gastrointestinal, care reacţionează prompt la modificarea factorului alimentar [5, 9, 11]. Alţii relatează că la baza cauzelor principale ale apariţiei şi dezvoltării dismicrobismului intestinal stau, preponderent, factorii mediului ambiant, îndeosebi, cel alimentar, fiind considerat şi ca factor determinant în sănătate [7, 9, 12, 16, 18, 19].

Cele nominalizate au argumentat scopul cercetărilor noastre - determinarea diferenţiată a rolului factorului alimentar în menţinerea microbiocenozei intestinale şi sănătăţii organismului.

Materiale şi metode de cercetare

Atingerea scopului propus a fost posibilă în două serii de experimente realizate pe animale model (cobai), câte trei loturi. S-a studiat valoarea numerică a unor reprezentanţi ai microbiocenozei intestinale pe fondalul acţiunii asupra organismului a factorului alimentar. În prima serie, raţiile alimentare au inclus proteine de origine animală (obţinute din carne şi peşte), iar în a doua, acestea au fost înlocuite cu proteine vegetale. S-au pregătit şi testat 3 variante ale raţiei alimentare, dintre care, prima a avut în componenţa sa proteine, lipide şi glucide, respectiv, 12, 30 şi 53 %; a doua –16, 30 şi 54 % şi a treia –20, 27 şi 53% (din consumul caloric zilnic necesar). Atât conform sortimentului, cât şi structurii calorice, raţiile alimentare au fost apropiate de variantele tipice pentru om. Cele relatate au fost calculate conform conţinutului lor în crupe (de porumb, grâu, hrişcă şi orez); legume (sfeclă, morcov şi varză); carne, peşte, brânză de vacă proaspătă şi ulei de floarea-soarelui. Sănătatea organismului a fost apreciată conform nivelului de dezvoltare a lui, exprimat prin adaosul la masa corporală a animalelor experimentale şi lipsei sau prezenţei simptoamelor de disfuncţie diareică.

În calitate de material de cercetare au servit mostrele de conţinut intestinal (rectal), colectat de la animale până la iniţierea experimentelor şi după finalizarea lor, fiind diluate de la 10^{-1} până la 10^{-9}. Componenţa microbiană a conţinutului intestinal s-a determinat prin metode microbiologice clasice [2, 5, 9, 12], iar a indicilor cantitativi ai microorganismelor apartenente la genurile Bifidobacterium, Lactobacillus, Escherichia, Proteus şi familia Streptococcaceae - prin inocularea materialului de cercetare pe medii nutritive agarizate, selective pentru fiecare gen de microorganisme, determinate după incubarea ulterioară la temperatura de (37±1)°C pe parcursul a 24-72 ore în condiţii aerobe şi anaerobe. Indicii cantitativi s-au calculat prin înmulţirea numărului coloniilor de microorganisme crescute pe medii nutritive agarizate, la diluţia mostrei inoculate şi logaritmarea zecimală a datelor obţinute. Deosebirea a reflectat rezultatele finale, comparativ cu cele înţiale ale experimentelor.

Rezultate şi discuţii

În rezultatul investigaţiilor primei serii s-au obţinut date experimentale, exprimate în logaritmi zecimali (log) care au fost incluse în tabelul 1.

Tabelul 1. Indicii cantitativi ai unor reprezentanţi ai bacteriocenozei intestinale la cobai ce au primit diverse variante ale raţiilor alimentare.

Lotul	Genurile de microorganisme	Cantitatea de celule microbiene la 1g de conţinut intestinal, logaritmi zecimali (log)		Deosebirea, %
		Iniţial*)	Final**)	
I	1	4,43±0,15	6,07±0,15	+37,02
	2	4,34±0,14	5,69±0,14	+31,10
	3	6,25±0,27	4,82±0,14	-22,88
	4	3,17±0,15	1,90±0,14	-40,06
	5	5,08±0,15	5,14±0,15	+ 1,18
II	1	4,89±0,14	6,50±0,14	+32,92
	2	4,46±0,15	5,96±0,14	+33,63
	3	6,61±0,34	4,43±0,15	-32,98
	4	3,23±0,35	1,49±0,19	-53,86
	5	4,82±0,38	5,83±0,15	+20,95
III	1	4,96±0,27	5,94±0,15	+19,75
	2	4,64±0,34	5,62±0,14	+21,12
	3	6,41±0,15	4,74±0,15	-26,05
	4	2,90±0,14	1,95±0,15	-32,75
	5	4,92±0,15	5,08±0,14	+ 3,25

Notă: Lotul de animale este indicat în text. Genurile de microorganisme: 1 – Bifidobacterium, 2 – Lactobacillus, 3 – Escherichia, 4 – Proteus, 5– familia Streptococcaceae. * - începutul experienţei; ** - 10 zile după administrare.

Analizând aceste date s-a constatat că, tabloul indicilor cantitativi ai microflorei intestinale la animale era diferit şi se caracteriza prin creşterea considerabilă a valorii numerice a microorganismelor din genurile obligative (Bifidobacterium şi Lactobacillus) în medie cu 37,02 şi 31,10%; cu 32,92 şi 33,63%; cu 19,75 şi 21,12%, respectiv loturilor I - III. După cum se observă, acţiunea factorului alimentar asupra reprezentanţilor bacterieni din genurile condiţionat patogene (Escherichia şi Proteus) s-a dovedit a fi mai pronunţată în lotul II, adică, în care s-a testat varianta cu nr.2. Aceasta a contribuit la micşorarea nivelului numeric al bacteriilor nominalizate, respectiv, cu 32,98 şi 53,86%. Concomitent indicii cantitativi ai microorganismelor acestor genuri la animalele loturilor I şi III de asemenea au diminuat, însă cu 22,88; 40,06% şi cu 26,05; 32,75%, respectiv. Ţinem să menţionăm că microorganismele familiei Streptococcaceae, mai puţin au reacţionat la factorul alimentar, conform indicilor cantitativi, însă reprezentanţii genului Enterococcus au demonstrat schimbări ai indicilor calitativi. Dacă iniţial în mostrele de conţinut intestinal prevalau enterococii speciei E. fecalis, apoi la final, majoritatea enterococilor era reprezentată de către specia E. faecium.

În baza celor relatate se poate menţiona că toate variantele testate au îndeplinit un rol semnificativ în procesul de multiplicare şi dezvoltare a microorganismelor din genurile determinate.

Astfel, conform datelor expuse putem afirma că toate variantele testate ale factorului alimentar propus au manifestat impact pozitiv asupra sănătăţii animalelor, contribuind la multiplicarea şi dezvoltarea eubiotică a agenţilor microbieni intestinali determinaţi, adică la profilaxia dismicrobismului.

Observaţiile asupra procesului de dezvoltare a organismului şi sănătăţii lui, au depistat o acţiune favorabilă similară, confirmată prin mărirea masei corporale a cobailor care, comparativ cu cea iniţială, la final a sporit în mediu pentru un animal în loturile I, II şi III, respectiv cu 31,71; 32,05 şi 20,28% (tabelul 2). Concomitent, la animalele experimentale n-au fost înregistrate simptoame de disfuncţii intestinale diareice, ceea ce a confirmat faptul că organismul lor era sănătos.

Tabelul 2. Indicii masei corporale a cobailor din loturile experimentale.

Lotul	Variantele factorului alimentar	Masa corporală medie a unui animal, g		Adaosul la masa corporală comparativ cu iniţialul, %
		Iniţial	Final	
I	1	413,00±3,16	544,00g±2,60	31,71
II	2	413,33±3,14	545,83±2,48	32,05
III	3	419,00±2,60	504,00±2,30	20,28

Notă. Lotul de animale şi variantele factorului alimentar sunt indicate în text.

Aceste date atenţionează că conform acestor parametri s-a evidenţiat o influenţă mai pronunţată la animalele lotului II, adică din partea variantei a doua a factorului alimentar testat. De aceea, a fost raţional de a considera că varianta a doua poate fi selectată ca cea mai reuşită.

Aşadar, conform masei corporale a cobailor putem afirma că toate trei variante a factorului alimentar testat au un impact pozitiv asupra sănătăţii macroorganismului. S-a constatat că, în scopul ameliorării stării bacteriocenozei intestinale şi fortificării sănătăţii organismului, rolul determinant trebuie să-i revină variantei a doua a factorului alimentar propus.

În continuare s-a atras atenţia la valoarea numerică a aceloraşi genuri de microorganisme în mostrele de conţinut intestinal, colectat de la toţi cobaii după modificarea factorului alimentar (înlocuirea proteinelor de origine animală cu cele vegetale), iar datele obţinute sunt demonstrate în tabelul 3.

Tabelul 3. Indicii cantitativi ai unor reprezentanţi ai bacteriocenozei intestinale la cobai după utilizarea factorului alimentar modificat.

Lotul	Genurile de microorganisme	Cantitatea de celule microbiene la 1g de conţinut intestinal, logaritmi zecimali (log)		Deosebirea finalului faţă de iniţial, %
		Iniţial	Final	
1	*2*	*3*	*4*	*5*
I	1	6,07±0,15	6,20±0,25	+ 2,14
	2	5,69±0,14	5,84±0,04	+ 2,63
	3	4,82±0,14	5,83±0,25	+ 31,60
	4	1,90±0,14	2,07±0,15	+ 38,92
	5	5,14±0,15	5,34±0,14	+ 3,89

Tabelul 3 (Continuare)

II	1	6,50±0,14	7,69±0,27	+ 18,30
	2	5,96±0,14	6,82±0,31	+ 14,42
	3	4,43±0,14	6,54±0,31	+ 35,68
	4	1,49±0,19	2,43±0,15	+ 27,89
	5	5,83±0,15	7,38±0,14	+ 26,58
III	1	5,94±0,15	6,59±0,34	+ 10,94
	2	5,62±0,14	5,76±0,31	+ 2,49
	3	4,74±0,15	5,73±0,35	+ 20,88
	4	1,95±0,15	2,20±0,22	+ 12,82
	5	5,08±0,14	6,67±0,14	+ 31,29

Notă: Loturile şi genurile de microorganisme sunt identice celor din tabelul 1.

În baza acestor rezultate s-a evidenţiat că factorul alimentar modificat a contribuit la obţinerea schimbărilor negative în componenţa microbiocenozei intestinale. Chiar dacă tendinţa multiplicării sporite a valorii numerice a microorganismelor din genurile obligative (bifidobacterii şi lactobacili) s-a păstrat, însă procesul de dezvoltare al lor era mult mai diminuat, comparativ cu cel din prima serie. Dacă în prima el era mai intensiv, contribuind la mărirea indicilor cantitativi cu 32,92 şi 33,63%, apoi în a doua – numai cu 18,30 şi 14,42%, adică era mai lent. Concomitent s-a observat şi sporirea indicilor numerici ai bacteriilor din genurile facultative, mai ales Escherichia şi Proteus, ce denotă despre faptul influenţei negative al acestui factor alimentar.

Aşadar, s-a constatat că factorul alimentar testat a manifestat un rol semnificativ în procesul de menţinere la nivel optim atât al reprezentanţilor microbiocenozei intestinale din genurile studiate (Bifidobacterium, Lactobacillus, Escherichia, Proteus şi familia Streptococcaceae), cât şi a sănătăţii organismului, confirmat prin impactul pozitiv diferenţiat al tuturor variantelor testate şi negativ în cazul înlocuirii proteinelor de origine animală cu cele vegetale.

Concluzii

1. Varianta selectată a factorului alimentar (nr.2) poate fi recomandată ca cea mai reuşită prin impactul său pozitiv asupra macroorganismului şi reprezentanţilor microbieni intestinali determinaţi.

2. Modificarea componenţei factorului alimentar este interzisă, deoarece contribuie la sporirea semnificativă a valorii numerice a microorganismelor din genurile condiţionat patogene (Escherichia şi Proteus), respectiv cu 35,68 şi 27,89%.

3. Factorului alimentar îi revine rolul determinant în procesul de menţinere optimă a nivelului cantitativ al microbiocenozei intestinale şi sănătăţii organismului

Articolul a fost realizat cu suportul financiar al proiectului 11.817.09.02A „Elaborarea metodelor fiziologice de fortificare şi menţinere a sănătăţii somatice şi psihice“.

Bibliografie

1. *Harvey R.B., Andrews K., Droleskey R.E. et al.* Qualitative and quantitative comparison of gut bacterial colonization in enterally and parenterally fed neonatal pigs. //Curr. Intest. Microbiol., 2006, 7(2), p.61-64.

2. *Galeţchi P., Rusu Galina, Stasii Ecaterina ş.a.* Dismicrobismul intestinal la copii, Chişinău, 2001, 42 p.

3. *Lamps L.W.* Infective disorders of the gastrointestinal tract. //Histopathology, 2007, 50(1), p. 55-63.

4. *Langhendries J.P.* Early bacterial colonisation of the intestine: why it matters? // Arch Pediatr., 2006, 13(12), p. 1526-1534.

5. Maria Timoşco, Natalia Florea, Aliona Velciu. Evidenţierea bacteriologică rapidă a dismicrobismului intestinal, Chişinău, 2010. 25 p.

6. Matsuzaki T., Takagi A., Ikemura H. et al. Intestinal microflora: probiotics and autoimmunity. //J Nutr., 2007, 137(3 Suppl 2), p. 798-802.

7. *Salminen S., Nybom S., Meriluoto J. et al.* Interaction of probiotics and pathogens-benefits to human health? //Curr. Opin. Biotechnol., 2010, 21(2), p. 157-167.

8. Strutinschi T., TimoşcoMaria, Velciu Aliona, ş.a. Impactul raţiior alimentare cu diversă structura calorică în optimizarea nivelui cantitativ al unor reprezentanţi ai bacteriocenozei intestinale //Mater. Cong.VII al fiziologilor din Moldova, Chişinău, 2012, p. 349-355.

9. Timoşco M., Velciu A., Bogdan V. Nivelul cantitativ al unor genuri de microorganisme obligative tubului digestiv ca factor determinator al stării funcţionale intestinale. //Biotehnologia microbiologică – domeniu scientointensiv al ştiinţei contemporane. Materialele conferinţei internaţionale 6-8 iulie 2011.CEI, Chişinău, 2011, p.111.

10. *Timoşco Maria, Velciu Aliona, Bogdan Victoria „S*tarea sănătăţii tubului digestiv în funcţie de apariţia simptoamelor de disfuncţii intestinale„. //Mater. Cong.VII al fiziologilor din Moldova, Chişinău, 2012, p. 384-391.

11.Velciu Aliona, Timoşco Maria, Ciochină Valentina ş.a.. Diferenţierea dismicrobismului şi disfuncţiilor intestinale diareice. Recomandare metodică. Tipografia AŞM. Chişinău, 2011, 40 p. ISBN 978-9975-62-298-1.

12. Velciu A., Timoşco M., Popanu L. Explorarea modalităţilor de evidenţiere a stării sănătăţii tubului digestiv. //Anale ştiinţifice ale USM, seria "Ştiinţe medico – biologice", 2006, p. 80-84.

13. *Westerbeek E.A., van den Berg A., Lafeber H.N.et al.* The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: a review of the literature. //Clin Nutr., 2006, 25(3), p. 361-368.

14. Доклад исследовательской группы ВОЗ. Рацион, питание и предупреждение хронических заболеваний. //Всемирная Организация Здравоохранения. Женева, 1993, 208 с.

15. *Николаева И. В., Бондаренко В.М., Анохин В. А. и др.* Частота колонизации стафилококками кишечника у детей с явлениями дисбактериоза //Ж. Микробиол., Эпидемиол. Иммунол., 2000, № 1, с. 17-21.

16. Панин Л.Е. Здоровье современного человека и проблемы качества питания. В кн.: Пища, экология, качество. //III международ. научно-практич. конф., Новосибирск, 2003, с. 408-411.

17. Покровский А.А. Метаболические аспекты фармакологии и токсикологии пищи. М.: «Медицина», 1979, 301с.

18. Струтинский Ф.А. Физиологически адекватное питание и здоровье, 2006, 407 с.

19. Ткаченко Е.И., Успенский Ю.П. Питание, микробиоценоз и интеллект человека. СпецЛит., 2006, 590 с. ISBN 5-299-00319-6.

FIZIOLOGIA ŞI BIOCHIMIA PLANTELOR

PARTICULARITĂŢILE GERMINĂRII SEMINŢELOR DE *TRITICUM AESTIVUM* L. EXPUSE ŞOCULUI TERMIC

Jelev Natalia, Zdioruc Nina, Ralea Tudor, Dascaliuc Alexandru.

Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

A fost determinată dinamica de germinare şi apariţie a rădăcinilor seminale la plantulele obţinute din seminţele soiului de grâu Odescaia 267 imersate în apă, la temperatura 4°C, pe parcursul diferitor perioade de timp (*martor*) şi ulterior expuse *şocului termic* (*ŞT*) cu diferite temperaturi şi durate de timp (*experiment*). Cinetica îmbibării apei în seminţe se schimba consecutiv pe parcursul a trei perioade. În fiecare perioadă ea poate fi descrisă cu ajutorul unei ecuaţii de gradul doi, cu coeficienţi de proporţionalitate specifici. De la începutul îmbibării, în fiecare perioadă succesivă, viteza sporirii umidităţii seminţelor scădea semnificativ, atingând valoarea staţionară (etapa finală) abia după 36 ore de îmbibare. Aceasta a sugerat ideea că anume la începutul fazei staţionare seminţele de grâu ating gradul optim de pregătire pentru germinare. Aceasta s-a confirmat prin atingerea valorilor maximale ale dinamicii de germinare şi de apariţie a rădăcinilor la seminţele imersate în apă pe parcursul perioadei 36 ore, intermediare la seminţele imersate în apă 12 ore şi joase - la seminţele din perioada a treia (72 ore). Efectele dăunătoare a unor doze specifice ale *ŞT* au fost severe, intermediare şi slabe fiind aplicate seminţelor prealabil imersate în apă 72, 12 şi 36 ore, respectiv. Datele obţinute susţin viziunea că efectele menţionate pot fi determinate de ieşirea din repaus a iniţialelor şi a celulelor „*centrului de repaus*" din meristemele rădăcinilor la seminţele din perioada a doua de imersare în apă şi de efectele negative a anoxiei asupra seminţelor imersate în apă îndelungat (în perioada a treia). Datele obţinute sugerează posibilitatea determinării termotoleranţei primare a diferitor genotipuri de grâu în baza aprecierii specificului derulării proceselor de germinare şi apariţie a rădăcinilor la plantulele obţinute din seminţele bine pregătite pentru germinare prin imersarea în apă (din perioada a doua) şi ulterior expuse unor doze specifice ale *ŞT*.

Cuvinte cheie: *Triticum aestivum* L., seminţe, rădăcini, germinare, dinamica îmbibării cu apă, şoc termic.

Depus la redacţie 18 iunie 2015

Adresa pentru corespondenţă; Jelev Natalia, Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Pădurii, 20, MD-2002 Chişinău, Republica Moldova, E-mail: jelevnn@yahoo.com., tel. (+ 373 22) 530-177

Introducere

Rezistenţa sistemelor biologice la acţiunea factorilor de stres biotic şi abiotic depinde de procesele care se petrec la diferite niveluri de organizare. În mod general aceşti factori induc tensiune, valoarea căreia depinde de doza factorului de stres şi de rezistenţa plantelor. Cu cât tensiunea indusă de către o doză specifică a factorului nefavorabil este mai joasă, cu atât rezistenţa sistemului biologic este mai înaltă [13]. Rezistenţa faţă de factorii de stres depinde de mecanismele care asigură reducerea tensiunii datorită: I.

diminuării ratei de acţiune a factorului de stres asupra ţesuturilor (*doza de acţiune* este mai mică decât *doza de expunere*), denumită *rezistenţă prin evitare* (*stress avoidance* [13]); II. recuperării leziunilor (repararea leziunilor, regenerarea celulelor şi ţesuturilor [6, 13]) şi diminuării tensiunii pe căi funcţionale, denumită *toleranţa faţă de stres* (*stress tolerance* [13]). Prima grupă de factori sporeşte rezistenţa datorită evitării echilibrului termodinamic, atunci când mecanismele din grupa a doua asigură diminuarea tensiunii la plantele care se află în echilibru termodinamic cu factorul de stres [13]. Plantele rezistente la stres sunt capabile să prevină (prin mecanisme de evitare), să diminueze, sau să repare, leziunile provocate de stres. Referitor la rezistenţa specifică a sistemelor biologice faţă de acţiunea temperaturilor extreme noţiunea de termotoleranţă ca regulă include doar componentele care asigură capacitatea organismelor de a supravieţui acţiunea temperaturilor letale, atunci când în prealabil ele au fost supuse unui stres moderat [10, 14]. Deoarece acest tip de termotoleranţă se induce şi se menţine doar pe parcursul unei perioade limitate [14], el se include integral în termenul de *aclimare*, care este definit ca sporirea temporară a rezistenţei faţă de diferiţi factori de stres după expunere la doze ale factorilor de stres care intensifică doar moderat tensiunea [12, 17]. În aşa fel, în concordanţă cu definiţia iniţială, termotoleranţa include componenta primară *(termotoleranţa primară*) şi componenta secundară, care se induce temporar şi poate fi denumită *termotoleranţă secundară* (termotoleranţă [10, 14], sau aclimare [12]). De aici rezultă că *rezistenţa (R*) plantelor faţă de temperaturile excesive poate fi descrisă prin următoarea ecuaţie:

$$\boldsymbol{R = 1/k\ (T_P + T_S)} \qquad \textbf{(1)}$$

unde *k – coeficientul de diminuare a dozei* datorită mecanismelor de evitare; T_P - termotoleranţa primară: T_S - termotoleranţa secundară. Din ecuaţia (1) rezultă că rezistenţa plantelor la temperaturi extreme reprezintă suma termotoleranţei iniţiale şi secundare (*termotoleranţa totală* - $T_T = T_P + T_S$) multiplicate la valoarea reciprocă a coeficientului de diminuare a dozei (*k* reprezintă raportul dintre *doza de acţiune* şi *doza de expunere – (k=Da/De*). În literatura de specialitate există mai multe date privind determinarea accelerată a termorezistenţei plantelor [7, 10, 17], dar aprecierea practică a aportului parametrilor *k*, T_P şi T_S asupra valorii finale a parametrilor T_T şi *R* întâmpină mai multe dificultăţi. În primul rând, nu există metode directe de determinare a valorii coeficientului de diminuare a dozei (*k*). Există doar posibilitatea de a evita (sau de a diminua) influenţa acestui coeficient (egalarea valorii lui *k* cu unu). Pentru a elimina influenţa factorilor de evitare a expunerii sistemelor biologice la temperaturi înalte, *şocul termic* (*ŞT*) se realizează prin imersarea lor în apă cu temperaturi ridicate, pe parcursul unor perioade stabilite [7, 17]. În aşa fel în ecuaţia (1) valoarea coeficientului *k* devine egală cu unu, iar valoarea lui *R* se egalează cu termotoleranţa totală (T_T) ($R = T_T = T_P + T_S$) [7]. În rândul doi, nu sunt cunoscute metode directe de determinare a valorii termotoleranţei secundare. Valoarea T_S se apreciază indirect. Pentru a elimina influenţa T_S în cercetări se utilizează plantule aflate la etapa iniţială de creştere, îndată după germinarea seminţelor [7]. În aşa fel se presupune că în condiţii optimale de iniţiere a creşterii nu se induce T_S. În aceste condiţii T_T devine egală cu T_P. Pentru a aprecia aportul posibil a T_S asupra valorii T_P se determină influenţa aclamării plantulelor sub acţiunea unor doze moderate ale *ŞT*, sau a modificării sezoniere a termotoleranţei

plantelor [10, 17]. În aceste condiţii T_S se determină din ecuaţia $T_S = R - T_P$ [16] (în cazul când mecanismele de evitare au fost excluse). În aşa fel au fost elaborate căi indirecte de apreciere a influenţei fiecărui component a mediului asupra termotoleranţei totale şi rezistenţei ($R = 1/k\ (T_T)$ în general. În cercetările anterioare noi am apreciat termotoleranţa iniţială a grâului comun de toamnă determinând parametrii de creştere a plantulelor de grâu supuse *ŞT* prin imersarea în apă cu diferite temperaturi (*factorul intensiv*) şi durate de acţiune (*factorul extensiv*) [7]. De oarece în această perioadă nu poate fi exclusă modificarea termotoleranţei totale sub influenţa condiţiilor de creştere, pentru a evita această posibilitate, în cercetările actuale noi ne-am axat la determinarea termotoleranţei grâului comun de toamnă, soiul Odescaia 267, în baza analizei particularităţilor de germinare a seminţelor. După îmbibare cu apă, ele au fost expuse *ŞT* prin imersare în apă cu diferite temperaturi şi durate de incubare.

Materiale şi metode

*Materialul vegetal***.** În cercetări au fost utilizate seminţele grâului hexaploid Odescaia 267, reproduse în anul 2013 pe câmpul experimental al Institutului de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al AŞM. Umiditatea seminţelor a fost determinată prin aprecierea diferenţei dintre masa iniţială şi cea obţinută după uscarea lor la 105°C până la atingerea masei constante. Dinamica de îmbibare a apei a fost determinată prin cântărirea seminţelor după diferite perioade de imersare in apă distilată la temperatura 4°C. Înainte de cântărire, apa de la suprafaţa seminţelor a fost eliminată cu ajutorul hârtiei de filtru.

Influenţa ŞT asupra capacităţii germinative a seminţelor. Seminţele imersate în diferite perioade de timp în apă, la temperatura 4°C, au fost scufundate în soluţie cu 1% de permanganat de potasiu timp de 20 min, riguros spălate cu apă de robinet, apoi cu apă distilată. Pentru a asigura germinarea, seminţele din *varianta martor* au fost amplasate în cutii Petri pe hârtie de filtru umedă, incubate în întuneric, la temperatura 25°C şi umiditatea relativă a aerului 75-85%. După fiecare 24 ore, pe parcursul a 5 zile, a fost determinat procentul seminţelor germinate şi numărul de rădăcini la fiecare sămânţă germinată. Sămânţa se considera germinată în cazul când lungimea radiculei atingea 2-3 mm.

În *variantele experimentale*, înainte de amplasare la germinare, seminţele erau repartizate în diferite variante, apoi scufundate în apă cu temperatura corespunzătoare pe parcursul duratei stabilite a *ŞT*. Exactitatea menţinerii temperaturii *ŞT* era ±0,1°C. După incubare la temperatura şi durata stabilită a *ŞT*, seminţele au fost amplasate pentru germinare în condiţii identice cu cele din varianta martor. Răspunsul seminţelor la acţiunea *ŞT* a fost determinat prin compararea dinamicii de germinare şi numărului de rădăcini la seminţele germinate după aplicarea *ŞT* în comparaţie cu valorile corespunzătoare din varianta martor. Pentru a caracteriza gradul de inhibare a proceselor de germinare, cauzată de acţiunea *ŞT,* în fiecare zi (t) a fost determinată *germinarea relativă* (GR_t), calculând raportul dintre procentul de germinare a seminţelor în varianta experimentală (GE_t) către cel a seminţelor germinate în varianta martor (GM_t):

$$GR_t = GE_t / GM_t \qquad (2)$$

În mod analogic în fiecare zi a fost determinat *numărul relativ de rădăcini* (NRR_t) în baza calculării raportului dintre numărul mediu de rădăcini la o plantulă din varianta

experimentală (NRE_t) către cel caracteristic pentru plantulele din varianta martor (NRM_t):

$$NRR_t = NRE_t / NRM_t \quad (3)$$

Analiza statistică a datelor. Experimentele au fost efectuate în patru repetiţii. În fiecare repetiţie au fost utilizate câte 20 seminţe. Fiecare experiment a fost repetat de cel puţin trei ori (pentru a obţine rezultate reproductibile în diferite experimente). Datele prezentate reprezintă rezultatul determinării valorii medii şi abaterii standard a mediei [3].

Rezultate şi discuţii

Pe fig. 1 este prezentată dinamica acumulării apei în seminţele de grâu, soiul Odescaia 267, în dependenţă de durata de imersare în apă. Curba de acumulare a apei poate fi divizată în trei perioade cu cinetică diferită: (I) 0 - 12 ore; (II) 12 - 56 ore; (III) 56-130 ore. La trecerea de la o perioadă la alta viteza de acumulare a apei în seminţe a scăzut progresiv. Dacă în perioada (I) în fiecare oră în mediu s-a acumulat 1,26% de apă faţă de masa uscată, apoi în perioada (II) şi (III) – 0,42 şi 0,05% , respectiv. În aşa fel, în comparaţie cu perioada (I) viteza medie de acumulare a apei în perioada (II) şi (III) s-a micşorat de 3 şi 26 ori respectiv. Pe parcursul fiecărei perioade cinetica de acumulare a apei se descrie satisfăcător cu ecuaţii de gradul doi. Analiza ecuaţiilor, fig. 1, dă posibilitatea de a confirma reducerea intensităţii acumulării apei odată cu creşterea duratei de imersare a seminţelor în apă. Menţionăm existenţa a două praguri în dinamica de absorbţie a apei, care indică scăderea bruscă a ratei de absorbţie a apei la trecerea de la etapa precedentă la cea următoare. Aceasta se confirmă de schimbarea valorilor absolute ale coeficienţilor de proporţionalitate la componenţii X şi X^2 ale ecuaţiilor ce descriu adsorbţia apei în fiecare perioadă, fig. 1.

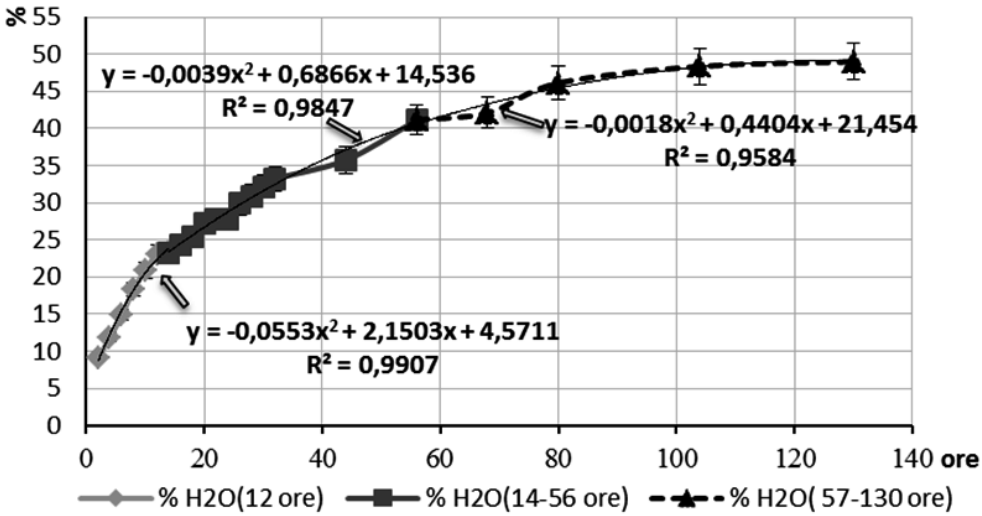


Figura 1. Dinamica absorbţiei apei de către seminţele soiului Odescaia 267 în dependenţă de durata imersării lor în apă disitilată la temperatura 4°C.
Notă: Sunt indicate trei perioade consecutive cu dinamică diferită de absorbţie a apei în seminţe.

La trecerea de la etapa I la etapa II şi III valoarea coeficientului pe lângă X s-a schimbat de la 2,15 la 0,69 şi 0,44, iar a celui pe lângă X^2 – de la 0,0197 în perioada (I), la 0,0039 şi 0,0028 în perioada (II) şi (III), respectiv. În aşa fel, valoarea acestui coeficient pe lângă X în perioada (II) şi (III) diminuează în comparaţie cu cel din perioada (I) de 3,1 şi 4,0 ori, iar pe lângă X^2 - de 5,1 şi 7,0 ori, respectiv. În literatura de specialitate există informaţie că în perioada (I) are loc hidratarea învelişului seminal, stratului aleuronic şi embrionului, iar la sfârşitul perioadei (I) şi pe parcursul perioadei (II) are loc penetrarea apei din straturile exterioare ale endospermului, atunci când în perioada (III) se realizează echilibrul în distribuţia apei în sămânţă [4]. Este de aşteptat că aceste schimbări a cantităţii şi distribuţiei apei în seminţe pe parcursul acestor trei perioade se răsfrâng şi asupra stării fiziologice a seminţelor, totodată fiind şi rezultatul acestor schimbări. Este clar că parametrii ce caracterizează viteza de acumulare a apei în seminţe în perioada întâia de imersare este preponderent influenţată de proprietăţile fizico-chimice ale compuşilor biochimici din seminţe, iar ulterior, în perioada a doua creşte progresiv aportul proceselor biochimice şi fiziologice de acumulare activă a apei. Despre aceasta ne sugerează şi datele privind procentul de germinare a seminţelor, prezentat în fig. 2.

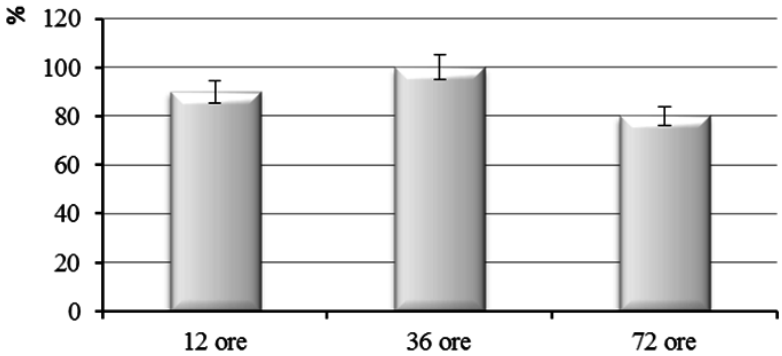


Figura 2. Procentul de seminţe a soiului Odesskaia 267 care au germinat pe parcursul a 5 zile după imersia preliminară în apă disitilată, la 4°C pe parcursul a 12, 36 şi 72 ore.

Se manifestă clar mărirea procentului de germinare a seminţelor îmbibate pe parcursul 36 ore în comparaţie cu cele îmbibate 12. Totodată mărirea duratei de îmbibare de la 36 ore până la 72 ore influenţează negativ germinarea seminţelor. Aceste date confirmă informaţiile din literatura de specialitate privind activarea proceselor biochimice necesare pentru iniţierea germinaţiei în primele 9 ore de imbibiţie a apei (în perioada (I)), ceia ce asigură derularea proceselor metabolice şi iniţierea consecutivă a biosintezei proteinelor şi ARN, iar prelungirea imersării seminţelor în apă (perioada (II)) asigură iniţierea biosintezei ADN [15]. Anume în această perioadă se manifestă trecerea celulelor embrionului din faza *pre-sintetică* (G_1) în cea *sintetică* (*S*) a ciclului mitotic [2, 11]. Deoarece în normă durata fazei G_1 nu depăşeşte 3 ore, reţinerea fazei *S* la începutul germinării este, probabil, determinată de mai mulţi factori [15], dintre care se menţionează frânarea metabolismului din cauza nivelului redus de apă şi lipsa unor componente proteice necesare pentru iniţierea biosintezei ADN-ului. Extinderea

duratei de imersie până la trecerea în perioada (III) are efecte negative asupra germinării seminţelor din cauza aprofundării stării de anoxie datorită activării respiraţiei şi altor procese biochimice care se petrec cu utilizarea oxigenului, procese care au fost iniţiate în perioadele anterioare [3].

Pentru a analiza mai profund diferenţele posibile dintre starea fiziologică a seminţelor imersate în apă pe parcursul a 12, 36 şi 72 ore, înainte de amplasare la germinaţie, ele au fost supuse *ŞT* pe parcursul a 30 minute cu diferite temperaturi. Rezultatele obţinute sunt prezentate pe fig. 3. Seminţele imersate în apă înainte de germinare pe parcursul a 36 ore au avut nu numai o mai bună capacitate germinativă, dar şi au demonstrat tendinţa de a accelera formarea rădăcinilor la plantule. Totodată la seminţele imersate în apă înainte de amplasare la germinare timp de 72 ore s-a manifestat o frânare clară a procesului de formare a rădăcinilor (fig. 3, varianta martor). Diferenţele dintre starea fiziologică a seminţelor celor trei variante au devenit şi mai evidente după aplicarea *ŞT* cu 48, 50, şi 52°C pe parcursul a 30 minute. În varianta cu imersarea în apă pe parcursul a 72 ore, seminţele n-au rezistat expunerii *ŞT* cu fiecare din cele trei temperaturi. Totodată cu creşterea temperaturii *ŞT* s-au manifestat mult mai clar diferenţele dintre seminţele imersate în apă 12 şi 36 ore. Sub influenţa *ŞT* pe parcursul a 30 minute cu temperatura 48, 50 şi 52°C seminţele, care prealabil au fost imersate în apă pe parcursul a 36 ore, numărul mediu de rădăcini la plantule în ziua a cincea după expunerea pentru germinare era respectiv cu 1,1, 1,4 şi 9,4 ori mai mic în comparaţie cu cele care înainte de expunerea la *ŞT* au fost imersate în apă pe parcursul a 12 ore. Diferenţele s-au manifestat şi asupra procentului de seminţe care au germinat. De exemplu, sub influenţa ŞT cu 48 şi 50°C procentul de germinare a seminţelor prealabil imersate în apă 12 ore a scăzut de la 90%, caracteristice pentru varianta martor, până la 80 şi 70%, respectiv. Atunci când până la expunerea *ŞT* ele au fost imersate în apă 36 ore, procentul de germinare a scăzut de la 100%, caracteristice pentru varianta martor, până la 70 şi 60%, respectiv.

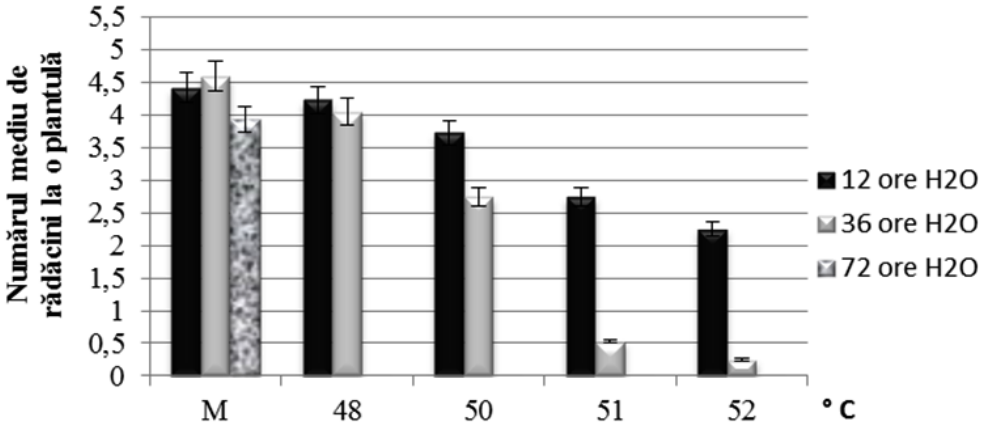


Figura 3. Numărul mediu de rădăcini la plantulele apărute pe parcursul a cinci zile de la amplasarea la germinare a seminţelor de grâu Odescaia 267, care preliminar au fost imersate în apă disitilată la temperatura 4°C pe parcursul a 12, 36 şi 72 ore (martor), expuse şocului termic cu 48, 50 şi 52°C pe parcursul a 30 minute.

La seminţele, care înainte de amplasare la germinare au fost imersate în apă 36 ore, sporeşte capacitatea germinativă şi ritmul de formare a rădăcinilor, dar totodată scade termotoleranţa lor. La unele din plantulele germinate a fost menţionată absenţa sau dezvoltarea slabă a *radiculei* (*rădăcinii iniţiale*) şi creşterea normală a următoarelor rădăcini. Referitor la seminţele, care înainte de germinare au fost imersate în apă pe parcursul a 72 ore, diminuează nu numai capacitatea germinativă şi ritmul de formare a rădăcinilor, dar se micşorează şi termotoleranţa celulelor meristemei rădăcinilor. În variantele martor cu imersarea seminţelor în apă pe parcursul a 12, 36 şi 72 ore, rata plantulelor cu rădăcina primară absentă sau slab dezvoltată a fost respectiv egală cu 14, 17 şi 29%. Sub influenţa *ŞT* cu 48 şi 52°C procentul acestui tip de plantule a sporit până la 17 şi 20% la plantulele obţinute din seminţele în prealabil imersate în apă 12 ore şi, respectiv, până la 27 şi 44% la cele care au fost imersate în apă 36 de ore. Aceste efecte pot fi cauzate de sporirea sensibilităţii celulelor din meristemul radiculei faţă de *ŞT* odată cu prelungirea perioadei de îmbibare a apei. Totodată, luând în consideraţie datele prezentate pe fig. 3, putem menţiona că apariţia rădăcinilor adventive a fost mai puternic afectată de *ŞT* cu 52°C în comparaţie cu influenţa lui asupra apariţiei radiculei. Dacă, la expunerea cu *ŞT* la această temperatură numărul radiculelor la plantulele obţinute din seminţe îmbibate 12 şi 36 ore a diminuat de 1,9 şi 2,6 (27/17 şi 44/17) ori, apoi numărul total de rădăcini a diminuat de 2,0 şi 15,3 (4, 4/2, 2 şi 4,6/0,3) ori. Este interesant de menţionat că în literatura de specialitate există informaţie despre faptul că în timpul dezvoltării reproductive, pe parcursul primelor 1 – 9 zile după polenizare, temperaturile ridicate şi seceta au dus la sporirea progresivă a procentului de seminţe care în timpul germinaţiei formează doar rădăcina primară (radicula) la un genotip de grâu cu termotoleranţă redusă [9]. Autorii presupun că acest efect se datorează insuficienţei conţinutului de carbohidraţi în endospermul seminţelor obţinute din plantele supuse stresului şi necesari pentru creşterea acestor rădăcini, cu toate că meristemele în embrion erau iniţiate. Datele obţinute de noi, în combinaţie cu cele din literatura de specialitate, dau posibilitatea de a explica acest fenomen din alt punct de vedere. Este cunoscut faptul că iniţialele rădăcinilor grâului provin din celulele „*centrului de repaus*" şi că acestea se află în faza G_1 a ciclului mitotic [8]. Celulele „*centrului de repaus*" sunt amplasate în apexul rădăcinii şi ocupă circa 1% din numărul celulelor meristemei. Ele se deosebesc de alte celule ale meristemei prin aceia că durata ciclului mitotic la ele este de 6-10 ori mai îndelungat şi mai rezistente în comparaţie cu alte celule ale meristemei faţă de radiaţia ionizantă [7] şi alţi factori de stres [11]. De-a lungul meristemei, înainte de trecerea în *zona de extindere,* celulele se divid nu mai mult de 6 ori [11]. În timpul iniţierii meristemului şi a creşterii celulele „*centrului de repaus*" se divid activ şi devin mai susceptibile la factorii de stres [11,16]. Suprimarea diviziunii celulelor părţii principale din meristem sub influenţa factorilor de stres (mai sensibile) duce la diminuarea creşterii datorită scăderii numărului de celule care trec în zona de extindere, iar activarea diviziunii celulelor a „*centrului de repaus*", care sunt mai rezistente faţă de factorii de stres, duce la repopularea meristemului şi restabilirea vitezei de creştere [14, 15]. Luând în consideraţie cele menţionate, se poate presupune că sub acţiunea temperaturilor înalte şi a secetei în perioada după polenizare a avut efecte deterioratoare asupra iniţialelor rădăcinilor adventive care se iniţiau anume în această perioadă. Totodată radicula, fiind deja iniţiată şi având „*centrul de repaus*"

organizat, au fost mai slab afectate de secetă şi temperaturi înalte. Sub acţiunea *ŞT* asupra seminţelor pregătite pentru germinare prin imersie în apă rece au fost afectate mai puternic celulele rădăcinilor embrionare adventive, deoarece la momentul aplicării ŞT era în derulare iniţierea creşterii, de aceia devenind mai sensibile la temperaturi ridicate. În curs de iniţiere a germinării la seminţe primele se activează meristemele radiculei (la ele se evidenţiază mai devreme „*centrul de repaus*”).

Pentru a cerceta mai detaliat influenţa duratei de îmbibare asupra termotoleranţei seminţelor, a fost determinată dinamica apariţiei rădăcinilor la seminţele care înainte de germinare au fost imersate în apă 12 şi 36 ore iar apoi supuse *ŞT* pe parcursul a 30 minute cu diferite temperaturi. Datele obţinute sunt prezentate pe fig. 4a şi 4b. Sub influenţa *ŞT* cu 48°C la seminţele îmbibate prealabil în apă 12 ore, fig. 4a, apariţia primelor trei rădăcini s-a reţinut cu o zi, dar ulterior dinanica de aparţie a noilor rădăcini era identică cu cea caracteristică pentru seminţele din varianta martor. Mărirea temperaturii *ŞT* de la 48°C până la 50 sau 52°C s-a manifestat prin diminuarea numărului mediu de rădăcini la plantule în ziua a 5-a de germinare a seminţelor cu 0,7 şi 2,3 rădăcini, respectiv, în comparaţie cu cea la plantulele din varianta martor.

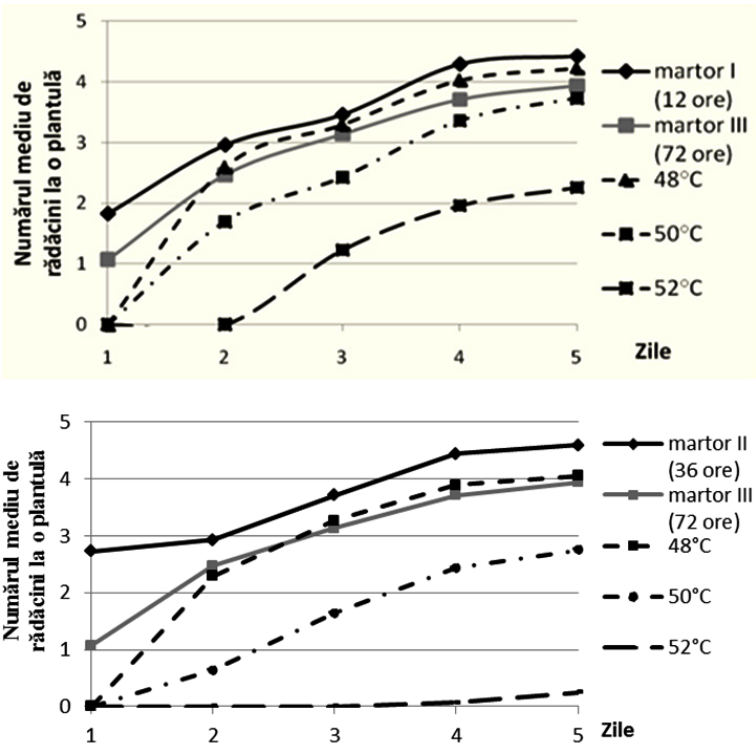


Figura 4. Dinamica sporirii numărului de rădăcini la plantulele de grâu Odescaia 267, seminţele cărora înainte de amplasarea la germinare au fost imersate în apă disitilată la temperatura 4°C pe parcursul a 12 ore (martor I),(fig. 4a), sau 36 ore (martor II),(fig. 4b) şi expuse şocului termic cu 48, 50 şi 52°C pe parcursul a 30 minute. În calitate de martor III sunt prezenate datele privind dinamica creşterii numărului de rădăcini la plantulele obţinute din seminţele care înainte de amplasare la germinare au fost imersate în apă pe parcursul a 72 ore.

Aplicarea *ŞT* la seminţele prealabil imersate în apă pe parcursul a 36 ore, fig. 4b, a asigurat sporirea numărului mediu de rădăcini în varianta martor, dar a redus mai substanţial numărul de rădăcini după *ŞT* cu 48°C şi 50°C în comparaţie cu cele imersate pe parcursul a 12 ore; a redus practic la zero apariţia rădăcinilor la seminţele care au fost supuse *ŞT* cu 52°C. Aceste rezultate la fel susţin ideia că seminţele îmbibate în apă pe parcursul a 36 ore sunt mai bine „*pregătite*" pentru germinare. Despre aceasta ne vorbeşte accelerarea apariţiei şi sporirea numărului de rădăcini aparute în ziua a cincea la plantele martor (accelerarea diviziunilor celulare) (I) şi reţinerea mai substanţială a apariţiei rădăcinilor la seminţele supuse care după îmbibare cu apă *ŞT* cu diferite temperaturi (II). Ultimul fenomen se datorează diminuării rezistenţei meristemelor activate pentru creştere la acţiunea *ŞT*. De menţionat că imersarea în apă a seminţelor pe parcursul a 72 ore (datele sunt incluse în fig. 4b) nu a influenţat semnificativ apariţia primelor două rădăcini, dar efectul asupra apariţiei următoarelor rădăcini a fost asemănător cu efectul *ŞT* pecum 48˚C asupra seminţelor imbibate în apă 72 ore.

Datele obţinute de noi demonstrează că toleranta *ŞT* de către seminţele de grâu imersate în apă pe parcursul a 12 ore este mai înaltă în comparaţie cu cele imersate 36 ore şi substanţial mai înaltă în comparaţie cu cele imersate 72 ore. Aceste date sunt în concordanţă cu rezultatele altor autori. Ei au demonstrat că termotoleranţa seminţelor de grâu rămâne mai înaltă în primele 9-12 ore de îmbibare cu apă în comparaţie cu cele îmbibate mai îndelungat. Anume în această perioadă la ele nu poate fi indusă creşterea termotoleranţei (termotoleranţa secundară) prin incubarea prealabilă a lor la doze moderate ale *ŞT*, cu toate că în această perioadă se induce biosinteza unor componenţi ale proteinelor *ŞT* [12, 15]. Totodată în primele 12 ore de îmbibare s-a manifestat diminuarea progresivă a procentului de germinare şi reţinerea mai îndelungată a germinaţiei seminţelor îmbibate mai îndelungat şi supuse *ŞT*. La fel s-a manifestat diminuarea calitativă a toleranţei faţă de *ŞT* la seminţele care prealabil au fost îmbibate în apă pe parcursul a 24 ore [1].

În rapoartele anterioare a fost apreciată termotoleranţa plantulelor diferitor soiuri de grâu, supuse *ŞT* îndată după germinare [7] . Ele au dat posibilitatea nu numai de a aprecia legităţile reacţiei plantulelor la diferite doze ale *ŞT*, dar şi de a repartiza soiurile în concordanţă cu termorezistenţa lor. În studiul de faţă a fost cercetat procesul de germinare în normă (înainte de amplasare la germinare seminţele erau umectate la rece diferite perioade de timp) şi după expunerea seminţelor umectate la diferite doze ale *ŞT*. Dacă comparăm dozele *ŞT* care au dus la stoparea creşterii, sau apariţiei rădăcinilor, putem menţiona că pentru stoparea creşterii a fost suficient *ŞT* cu 48-49°C pe parcursul a 30 minute [7], iar pentru a frâna apariţia rădăcinilor la seminţele îmbibate timp de 36 ore (*bine pregătite pentru germinare*) a fost necesar *ŞT* cu 52°C pe parcursul 30 minute, fig. 4 b. Diferenţa de 3-4°C dintre temperaturile care stopează creşterea rădăcinilor la cele două variante menţionate, probabil, sunt determinate de rezistenţa mai mare a iniţialelor rădăcinilor embrionare adventive a seminţelor îmbibate cu apă la rece, în comparaţie cu iniţialele activate ale plantulelor proaspăt germinate. Desigur, nu se exclude influenţa şi altor factori asupra termotoleranţei [1]. Având în vedere faptul că dinamica de germinare a seminţelor poate fi mult mai uşor şi exact studiată în comparaţie cu cea de creştere a rădăcinilor, noi planificăm să studiem posibilitatea utilizării acestui parametru pentru a diferenţia după termotoleranţă diferite soiuri şi genotipuri de grâu.

Concluzii

1. În cinetica de acumulare a apei în seminţele de grâu pot fi destinse trei faze: I. faza iniţială, rapidă; II. faza intermediară, lentă; III. faza staţionară.

2. Parametrii care caracteriza germinaţia demonstrează că seminţele de grâu devin „*bine pregătite*" pentru germinare în faza a doua, iar în faza a treia, datorită activării substanţiale a proceselor metabolice apar efectele de anoxie, ceia ce duce la „*înrăutăţirea*" parametrilor ce caracterizează germinaţia şi diminuarea substanţială a rezistenţei seminţelor la acţiunea factorilor de stres termic.

3. În cercetările privind compararea particularităţilor fiziologice şi genetice ale seminţelor diferitor genotipuri de grâu este necesară aducerea lor la aceeaşi parametri de „*pregătire*" a lor pentru germinare, evitând apariţia fenomenelor de anoxie (imersare prea îndelungată în apă).

Referinţe

1. *Abernethy R., Thiel D., Petersen N., Helm K.* Thermotolerance is developmentally dependent in germinating wheat seed //Plant Physiol, 1989,- 89, N2. p. 596-576.

2. *Avamzi S., Deri P.* Duration of the mitotic cycle in two cultivars of *Triticum durum*, as measured by ^{3}H-thymidine labelling //Caryologia, 1969, - 22, N1. p.187-194.

3. *Billon, G., Ouddane, B., Laureyns, J., Boughriet, A.* Analytical and thermodynamic approaches to the mineralogical and compositional studies on anoxic sediments. J. Soil Sed. 3, 2003, p. 180–187.

4. *Burzo I., Toma S., Dobrescu A.* Fiziologia plantelor de cultură. Chisinău, 1999, -Vol.2. p. 62-72.

5. *Clowes F.A.L.* Exit from the mitiotic cycle in root meristems of *Zea mays* L. //Ann. Bot., 1983. V. 74. P.385-393.

6. *Dascaliuc A., Ivanova R., Arpentin Gh*. Systemic approach in determining the role of bioactive compounds. In PIERCE, G.N.; MIZIN, V. I.; OMELCHENKO, A., eds. Advanced Bioactive Compounds Countering the Effects of Radiological, Chemical and Biological Agents, Strategies to counter biological damage; Series: NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology. Springer, 2013, p.121-131.

7. *Dascaliuc A., Cicalova V., Ralea T.* Manifestarea creşterii relative a rădăcinilor şi termotoleranţa grâului (*Triticum aestivum* L.) sub influenţa şocului termic //Buletinul AŞM, Ştiinţele vieţi, 2012, – 318, N3. p. 89-96.

8. *Demchenko N.* Changes in population structure of epidermal, endodermal and pericycle cells in the course of their development in the wheat root //Cytology, 1987, - 29, N2. p.174-181.

9. *Fábián A., Jäger K., Barnabás B.* Effects of drought and combined drought and heat stress on germination ability and seminal root growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings //Acta Biol Szeged, 2008, – 52, N1. p.157-159.

10. *Hallberg R., Kraus K., Hallberg E.* Induction of acquired thermotolerance in *Tetrahymena thermophila*: Effects of protein synthesis inhibitors //Mol Cell Biol, 1985, - 5, N 8. p.2061-2069

11. *Ivanov V.B.* The problem of stem cells in plants //Ontogenez, 2003,- 34, N 4. p. 253-261.

12. *Levitt J.* Responses of plant to environmental stresses.– New York: Acad. Press, 1980. - Vol. 1. 568 p.

13. *Levitt J.* Responses of plants to environmental stresses, Volume II. Water, radiation, salt and other stresses. 2nd Edition, NY. Academic Press, 1980, - 608 p.

14. *Lin C.Y., Roberts J.K., Key J.L.* Acquisition of thermotolerance in soybean

seedlings. Synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localization . // Plant Physiol, 1984, - 74. N 1. p.152-160.

15. Mory Y.Y., Chen D., Sarid S. Onset of Deoxyribonucleic Acid Synthesis in Germinating Wheat Embryos //Plant Physiol, 1972, - 49, N1. p. 20-23.

16. *Nemerovschii A., Dascaliuc A.* Determinarea accelerată a termotoleranţei frunzelor de Buxus semipervirens L. cu ajutorul metodei de scurgere a electroliţilor //Buletinul AŞM, Ştiinţele vieţi, 2012, - 316, N1. p.82-92.

17. Александров В., Кислюк И. Реакция клеток на тепловой шок: физиологический аспект //Цитология, 1994, – 3, №1 – С.5-59.

APRECIEREA ACCELERATĂ A TERMOTOLERANŢEI GENOTIPURILOR DE GRÂU ÎN BAZA SPECIFICULUI INFLUENŢEI ŞOCULUI TERMIC ASUPRA GERMINĂRII SEMINŢELOR

Jelev Natalia, Zdioruc Nina, Ralea Tudor,
Gorea Andrei, Dascaliuc Alexandru

Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

În baza analizei influenţei şocului termic cu diferite temperaturi (*factorul intensiv*) şi durate de expoziţii (*factorul extensiv*) asupra parametrilor de germinaţie a seminţelor a fost testată posibilitatea distribuţiei soiurilor de grâu după termotoleranţă. Datele obţinute au demonstrat că seminţele soiurilor de grâu răspund în mod individual la expunerea cu doze specifice ale şocului termic. În baza parametrilor de germinare a seminţelor şi dinamicii de apariţie a rădăcinilor, 19 soiuri de grâu au fost distribuite după termotoleranţă. Parametrii dozei şocului termic optimali pentru separarea unui număr mare de genotipuri de grâu după termotoleranţă şi cei necesari pentru selectarea unor forme cu termotoleranţă deosebită (înaltă sau joasă) sunt diferiţi. Se presupune că procedeele propuse, datorită simplicităţii, productivităţii şi puterii de rezoluţie înalte ar putea fi utilizate nu numai pentru aprecierea termotoleranţei diferitor genotipuri de grâu, dar şi pentru a determina influenţa condiţiilor de cultivare şi reglatorilor de creştere asupra termotoleranţei seminţelor.

Cuvinte cheie: Triticum aestivum L., termotoleranţa, germinaţia seminţelor, şocul termic.

Depus la redacţie 18 iunie 2015

Adresa pentru corespondenţă; Jelev Natalia, Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Pădurii, 20, MD-2002 Chişinău, Republica Moldova, e-mail: jelevnn@yahoo.com, tel. (+ 373 22) 53-01-77

Introducere

Evaluarea corectă a rezistenţei plantelor la temperaturi înalte este deosebit de importantă pentru utilizarea raţională a soiurilor şi hibrizilor, precum şi optimizarea metodelor de selectare a unor genotipuri preţioase. Această sarcină devine tot mai actuală în legătură cu pericolul încălzirii globale a climei [16]. În prezent, există mai multe procedee de evaluare accelerată a rezistenţei plantelor la temperaturi ridicate.

Ele se bazează pe numeroase metode biofizice [2,10, 12, 15], fiziologice [4,5,8,9,13] şi biochimice [7,14] de apreciere a stării plantelor după expunerea lor la doze variate ale *şocului termic* (*ŞT*). Cu toate acestea, din cauza complexităţii proceselor implicate, mai multe probleme rămân nesoluţionate. Rezistenţa plantelor faţă de stresul termic depinde de procese care au loc la diferite niveluri de organizare [13,9,5], etape ale ontogenezei plantelor [13], precum şi de caracteristicile fizice ale factorului de stres [13, 9, 8]. Anterior au fost descrise rezultatele determinării specificului influenţei şocului termic cu diferite temperaturi (*factorul intensiv*) şi durate de expoziţie (*factorul extensiv*) asupra unor parametri ce caracterizau germinarea seminţelor [13] şi creşterea plantulelor grâului de toamnă Odescaia 267 [5]. Rezultatele au demonstrat că legităţile influenţei şocului termic asupra germinării seminţelor nu se deosebesc semnificativ de cele a influenţei asupra plantulelor recent germinate [6]. Luând în consideraţie posibilitatea separării diferitor genotipuri de grâu în baza răspunsului plantulelor la acţiunea şocului termic [6], noi ne-am propus să testăm posibilitatea separării accelerate a genotipurilor de grâu după termotoleranţă în baza specificului germinării seminţelor prealabil supuse acţiunii *şocului termic* (*ŞT*).

Materiale şi metode

*Materialul vegetal***.** În cercetări au fost utilizate seminţele de grâu hexaploid, Vdala, Misia, Auriu, Odescaia 51, Avantaj, Cuialnic, Capriana, Antonovca, Epoha, Matrix, Plai, Skaden, Odescaia 267, H 333, Ephoros, Moldova 5, Moldova 11, Chevalier şi tetraploid Arnaut 7, reproduse în anul 2013 pe câmpul experimental al Institutului de Genetică, Fiziologie şi Protecţia Plantelor al AŞM. Înainte de a determina capacitatea germinativă şi a supune la acţiunea *ŞT*, seminţele au fost imersate în apă la temperatura 4°C, pe parcursul a 36 ore. Anterior a fost demonstrat că după această operaţie seminţele de grâu sunt uniform şi bine pregătite pentru germinare [9].

Influenţa ŞT asupra capacităţii germinative a seminţelor. Seminţele, prealabil imersate pe parcursul a 36 ore în apă cu temperatura 4°C, au fost scufundate timp de 20 min în soluţie cu 1% de permanganat de potasiu, riguros spălate cu apă de robinet, apoi cu apă distilată. Pentru a susţine germinarea, seminţele din *varianta martor* au fost amplasate în cutii Petri pe hârtie de filtru umedă, incubate în întuneric, la temperatura 25°C şi umiditatea relativă a aerului 75-85%. După fiecare 24 ore, pe parcursul a 5 zile, a fost determinat procentul seminţelor germinate şi numărul de rădăcini la fiecare sămânţă germinată. Sămânţa se considera germinată în cazul când lungimea radiculei atingea 2-3 mm. În *variantele experimentale*, înainte de amplasare la germinare, seminţele au fost scufundate în apă cu temperatura corespunzătoare şi durate stabilite ale *ŞT*. Exactitatea menţinerii temperaturii *ŞT* era ± 0,1°C. După aplicarea *ŞT*, seminţele au fost amplasate pentru germinare în condiţii identice cu cele din *varianta martor*. Răspunsul seminţelor la acţiunea *ŞT* a fost apreciat prin compararea dinamicii de germinare şi a numărului de rădăcini la seminţele germinate din varianta experimentală în comparaţie cu rezultatele din varianta martor. Pentru a caracteriza gradul de inhibare a proceselor de germinare, cauzat de acţiunea *ŞT,* în fiecare zi (t) a fost determinată *germinarea relativă* (GR_t), calculată din raportul dintre procentul de germinare a seminţelor în varianta experimentală (GE_t) către cel a seminţelor din varianta martor (GM_t):

$$GR_t = GE_t/GM_t \quad (1)$$

În mod analogic, în fiecare zi a fost determinat *numărul relativ a rădăcinilor* (NRR_t) în baza calculării raportului dintre numărul rădăcinilor la plantulele din varianta experimentală ($NRRE_t$) către cel la plantulele din varianta martor ($NRRM_t$):

$$NRR_t = NRRE_t/NRRM_t \quad (2)$$

Analiza statistică a datelor. Experimentele au fost efectuate în patru repetiţii. În fiecare repetiţie au fost utilizate câte 20 seminţe. Fiecare experiment a fost repetat de cel puţin trei ori (pentru a obţine rezultate reproductibile în diferite experimente). Datele prezentate sunt rezultatul determinării *valorilor medii* şi *abaterilor standard a mediei* [3, p. 9].

Rezultate şi discuţii

Seminţele îmbibate la rece pe parcursul a 36 ore erau foarte bine pregătite pentru germinare. La toate soiurile implicate în cercetare, deja în ziua a cincea au germinat nu mai puţin de 98% din seminţe. Fiind obţinute şi păstrate în condiţii identice, seminţele diferitor soiuri nu se deosebeau după viabilitate.

Reacţia diferitor genotipuri de grâu la aplicarea *ŞT* prin imersarea în apă la 50°C pe parcursul a diferitor perioade de timp a fost specifică, fig. 1.

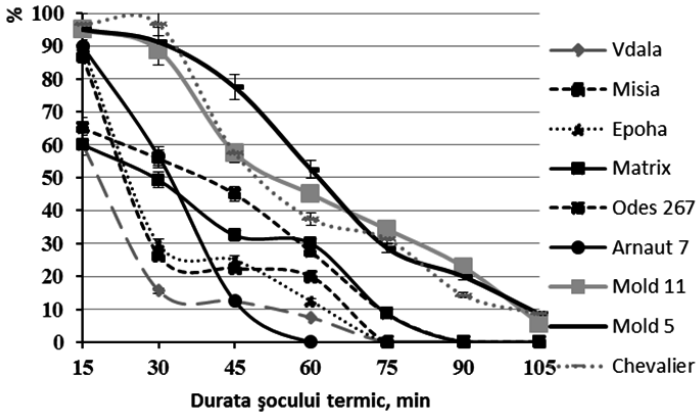


Figura 1. Schimbarea procentului de germinaţie a seminţelor diferitor soiuri de grâu pe parcursul a cinci zile în dependenţă de durata expunerii lor la şocul termic cu 50°C.

În baza analizei curbelor procentului de germinare a seminţelor în dependenţă de durata *ŞT* cu 50°C s-au manifestat ca rezistente soiurile Moldova 5, Moldova 11 şi Chevalier (grupa I). Moderat rezistente s-au dovedit a fi seminţele soiurilor Matrix, Arnaut şi Odescaia 267 (grupa II), iar seminţele soiurilor Vdala, Epoha şi Misia (grupa III) fiind cele mai sensibile. Lărgimea diapazonului diferenţelor dintre procentul de germinare ale seminţelor diferitor soiuri după aplicarea *ŞT* este cea mai pronunţată la doza obţinută prin aplicarea a 50°C pe parcursul a 30 minute. Anume răspunsul la expunerea seminţelor cu această doză a *ŞT* a fost aleasă de noi pentru a caracteriza cantitativ termotoleranţa diferitor genotipuri de grâu. La aplicarea *ŞT* cu 50°C pe parcursul a 30 minute seminţele soiurilor din grupa I au germinat între 90 şi 100%, din grupa II – între 50 şi 60%, iar cele din grupa III au germinat nu mai mult de 30% din seminţe, fig.1 şi 2.

În aşa fel, luând în consideraţie influenţa *ŞT* asupra procentului de germinare, seminţele soiurilor din grupa I, II şi III pot fi considerate respectiv ca soiuri cu rezistenţă

înaltă, medie şi joasă la acţiunea temperaturilor ridicate. De menţionat că în comparaţie cu seminţele altor soiuri, răspunsul seminţelor soiului Arnăut 7, unicul soi de grâu tetraploid inclus în cercetare, au demonstrat o cinetică diferită a schimbării procentului de germinare în dependenţă de durata *ŞT* cu 50°C, fig. 1. După aplicarea *ŞT* pe parcursul a 15, 30 şi 60 minute ele corespundeau seminţelor cu termorezistenţă înaltă, medie şi respectiv joasă.

Interesant de menţionat că în urma analizei influenţei *ŞT* cu durată diferită de expoziţie asupra procentului de seminţe care au germinat, dar la care n-a apărut radicula, fig. 2, observăm aceiaşi repartizare a soiurilor în grupe şi acelaşi răspuns atipic a seminţelor soiului Arnăut 7.

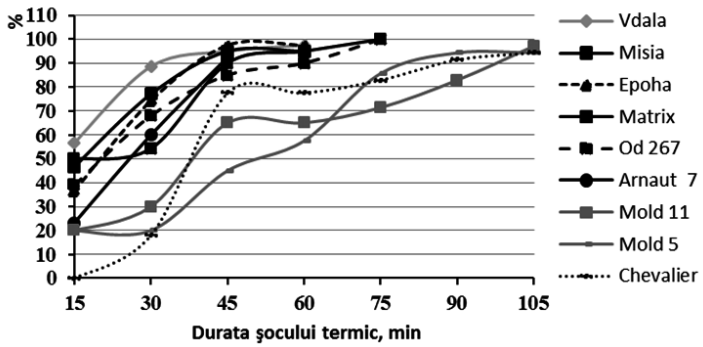


Figura 2. Influenţa duratei de expunere la şocul termic cu 50°C a seminţelor diferitor soiuri de grâu asupra procentului de plantule cu radicula deteriorată. Aprecierea numărului de plantule cu rădăcina deteriorată a fost realizată în ziua a cincea după amplasarea la germinare.

Mărirea temperaturii *ŞT* de la 50 la 51 n-a dus la schimbarea repartizării soiurilor după toleranţă la acţiunea *ŞT,* în afară de aceia că seminţele soiului Arnăut 7 au reacţionat semnificativ mai pronunţat, în comparaţie cu alte soiuri din grupa II , fig 3.

Totodată menţionăm că seminţele termosensibile ale soiului Vdala n-au germinat deloc. Mărirea temperaturii ŞT până la 52°C, fig. 4, a dus la inhibarea germinării seminţelor tuturor soiurilor din grupa III şi, neaşteptat, a diminuat semnificativ procentul de germinare a seminţelor soiului Chevalier, fig. 4. Seminţele acestui soi după aplicarea *ŞT* cu 50°C au demonstrat cel mai înalt nivel de germinare la durate diferite ale *ŞT*, figura 1 şi 2. Tendinţa de diminuare relativă a termotoleranţei seminţelor acestui soi s-a manifesta deja la *ŞT* cu 51°C, fig. 3, 4.

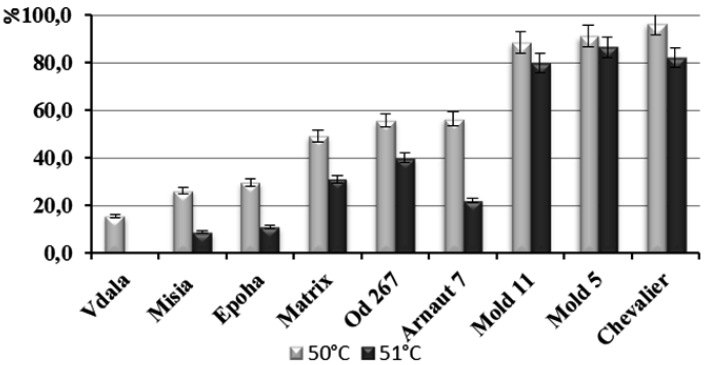


Figura 3. Influenţa expunerii seminţelor diferitor soiuri de grâu la şocul termic cu 50 sau 51°C, timp de 30 min, asupra procentului de germinare pe parcursul a cinci zile.

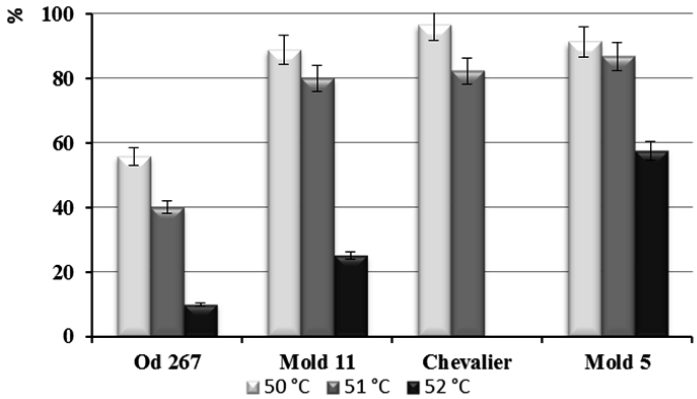


Figura 4. Influenţa expunerii seminţelor diferitor soiuri de grâu la şocul termic cu 50, 51°C şi 52°C, timp de 30 min, asupra procentului de germinare pe parcursul a cinci zile.

De aici rezultă că mecanismele ce determină termotoleranţa seminţelor diferitor soiuri de grîu pot fi specifice. Nu totdeauna soiurile care se repartizează prin testarea cu unele doze ale *ŞT* în grupele înalt termotolerante rămân în aceiaş grupă după testarea cu alte doze sau temperaturi ale *ŞT*. Aşa, în cercetările noastre răspuns netipic la diferite doze ale şocului termic au demomstrat seminţele soiului Chevalier şi Arnăut 7. Dacă amplasarea seminţelor soiului Chevalier la mărirea temperaturii *ŞT* se deplasa în grupele cu termorezistenţă mai joasă, apoi cele ale soiului Arnăut ”*cădeau*” în grupe cu rezistenţă mai joasă atât la ridicarea temperaturii (*factorul intensiv* [13]), cât şi la mărirea duratei de expoziţie la *ŞT* (*factorul extensiv* [13]). Probabil, aceste caracteristici pot fi explicate prin faptul că la seminţele soiului Arnăut 7 procesele de repopulare [10, 1, 11] a meristemei în urma deteriorărilor provocate de factorii de stres sunt mai active în comparaţie cu cele ale altor soiuri, de aceia răspunsul lor la *ŞT* [13] este mai mult influenţată de termotoleranţa primară şi mai puţin de cea secundară. Cu caracteristici similare se manifestă şi soiul Chevalier, dar termotoleranţa primară a lui este mai înaltă decât la soiul Arnaut 7. Din această cauză la seminţele acestui soi capacitatea joasă de repopulare a meristemei se manifestă doar la *ŞT* cu temperatura 52°C. Anume după *ŞT* cu această temperatură seminţele soiului Chevalier au germinat semnificativ mai slab decât seminţele soiului Moldova 5, cu toate că în această privinţă răspunsul la *ŞT* cu 51°C a demonstrat doar tendinţa de diminuare a procentului de germinare, fig.3, 4. În general, aceste sugestii sunt susţinute de datele obţinute de alţi autori care au demonstrat că aplicarea temperaturii înalte şi a secetei la etape tardive după polenizare (în ziua 5-10 după polenizare), la seminţele unui genotip de grâu rezistent n-au afectat creşterea rădăcinilor seminale, atunci când la cele ale unui alt genotip, cu termotoleranţă redusă, a sporit procentul seminţelor care după germinare au format doar o singură rădăcină [6]. Aceste date pot fi explicate prin faptul că la această etapă numai la radiculă s-a dezvoştat „*centrul de repaus*”, în interiorul căruia celulele se devid mai lent şi de aceia sunt mai stabile la factorii de stres [10, 11]. Probabil, că la această etapă timpurie de formare a embrionului, în meristemele altor rădăcini seminale „*centrul de repaus*” nu era încă bine pronunţat, de aceia ele s-au dovedit a fi mai sensibile la acţiunea combinată a secetei şi temperaturii înalte.

Cele menţionate sugerează că repartizarea în mod accelerat a genotipurilor după termotoleranţă, utilizând metoda de aplicare a *ŞT* asupra seminţelor bine pregătite

pentru germinare, poate fi doar prealabilă. Pentru a repartiza în mod general o gamă largă de genotipuri după termotoleranţă este cu perspectivă procedura de aplicare a *ŞT* cu temperaură **relativ moderată** (51°C, 30 minute), iar pentru a selecta genotipuri cu termotoleranţa iniţială foarte înaltă, poate fi recomandată testarea prin aplicarea *ŞT* cu 52°C pe parcursul a 30 min. Pentru a demonstra eficacitatea utilizării *ŞT* pentru repartizare unui număr mare de genotipuri după termotoleranţă, în fig. 5 sunt prezentate rezultatele repartizării seminţelor a 19 soiuri de grâu după termotoleranţă. În grupa cu termotoleranţă înaltă, la care după aplicarea ŞT cu 50°C pe parcursul a 30 minute au germinat mai mult de 80% din seminţe, au intrat soiurile Skaden, Moldova 11, Moldova 5 şi Chevalier.

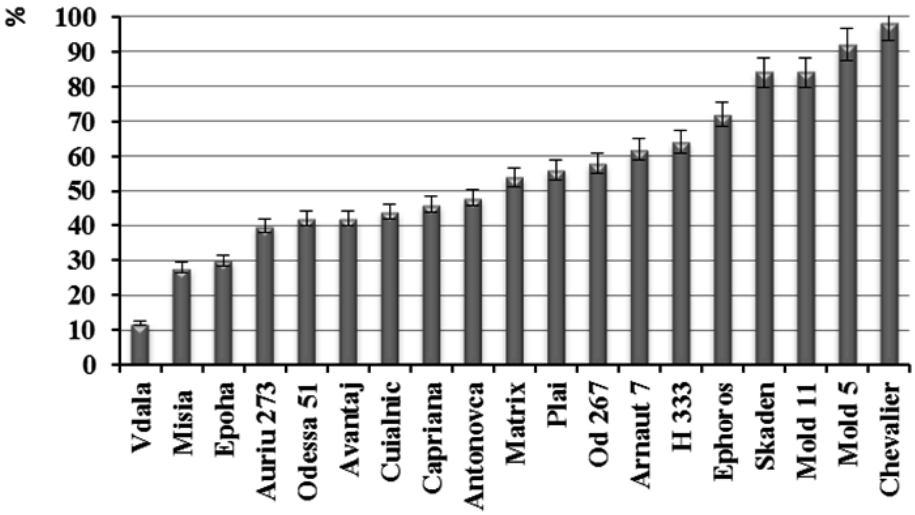


Figura 5. Influenţa expunerii seminţelor diferitor soiuri de grâu la şocul termic cu 50°C, timp de 30 min, asupra procentului de germinare pe parcursul a cinci zile.

Prin termotoleranţă medie s-au manifestat seminţele soiului Matrix, Plai, Odescaia 267, Arnaut 7, H 333 şi Ephoros, germinarea cărora s-a repartizat între 50 şi 80%. Termotoleranţă moderată au arătat seminţele soiurilor Auriu, Odescaia 51, Avantaj, Cuialnic, Capriana şi Antonovca, la care au germinat 40 – 50% din seminţe. Cu toleranţă joasă s-au dovedit a fi seminţele soiurilor Vdala, Misia şi Epoha, care au germinat la un nivel mai jos de 30%.

Concluzii

1. Parametrii care caracterizează influenţa unor doze specifice ale şocului termic asupra germinării seminţelor au fost puşi la temelia metodei de determinare a rezistenţei genotipurilor de grâu la acţiunea temperaturilor înalte, metoda fiind simplă, sensibilă şi reproductivă.

2. Pentru a selecta genotipurile de grâu cu grad înalt de termotoleranţă se recomandă testarea lor prin aplicarea unor doze ale şocului termic, realizate cu temperaturi relativ înalte (51 – 52°C).

3. Eficienţa şi sensibilitatea metodei de determinare a termotoleranţei prin aplicarea şocului termic asupra seminţelor se recomandă să fie apreciată determinând

termotoleranţa seminţelor aceloraşi genotipuri de grâu obţinute în diferite condiţii climaterice, precum şi determinând influenţa diferitor reglatori de creştere asupra termotoleranţei seminţelor.

Referinţe

1. *Alexandrov V.Y.* Cytophysiological and cytoecological investigations of heat resistance of plant cells toward the action of high and low temperature. //Quart. Rev.Biol. 1964. V.30. P.35.
2. *Clewer A.G., Scarisbrick D.H.* Practical statistics and experimental design for plant crop science. //Chichester, New York: John Wiley & Sons, LTD, 2001.332 p.
3. *Clowes F.A.L.* Exit from the mitiotic cycle in root meristems of *Zea mays* L. //Ann. Bot., 1983. V. 74. P.385-393.
4. *Dascaliuc A., Ivanova, R., Arpentin Gh.* Systemic approach in determining the role of bioactive compounds. In PIERCE, G.N.; MIZIN, V. I.; OMELCHENKO, A., eds. Advanced Bioactive Compounds Countering the Effects of Radiological, Chemical and Biological Agents, Strategies to counter biological damage; Series: NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology. Springer, 2013. P.121-131.
5. *Ivanov V.B.* Stem Cells in the Root and the Problem of Stem Cells in Plants. //Russian Jorurnal of Developmental Biology, 2007. V. 38, P. 338- 349.
6. *Jelev N., Zdioruc N., Ralea T., Dascaliuc A.* Particularităţile germinării seminţelor de *Triticum aestivum L*. supuse şocului termic. //Buletinul AŞM, Ştiinţele vieţi. 2015. (În tipar)
7. *Leopold A.C.* Temperature effects on soybean imbibitions and leakage. //Plant Physiol. 1980.
8. *Levitt J.* Responses of plant to environmental stresses.– New York: Acad. Press, 1980. - Vol. 1. 568 p.
9. *Lin C.Y., Roberts J.K., Key J.L.* Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings. Synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localization. //Plant Physiol. 1984. V. 74. P.152-160.
10. *Nemerovschii A., Dascaliuc A.* Determinarea accelerată a termotoleranţei frunzelor de *Buxus semipervirens L*. cu ajutorul metodei de scurgere a electroliţilor. //Buletinul AŞM, Ştiinţele vieţii. 2012. V. 316. P.82-92.
11. *Quinn P.* Membrane stability under thermal stress. //New York, USA. Plenum Publ.1989. P.511-515.
12. *Schneider S. H.* The greenhouse effect: Science and policy. //Science. 1989. V 243. P. 771-781.
13. *Александров В.Я., Кислюк И.М.* Реакция клеток на тепловой шок: физиологический аспект //Цитология. – 1994. – 3, №1 – С.5-59.
14. *Даскалюк Т.М.* Особенности ростовой реакции и белкового синтеза проростков пшеницы при тепловом стрессе: Автореф. дис. канд. биол. наук. – Кишинев, 1989. 17 с.
15. *Олейникова Т. В., Волкова А. М., Пушина Р. М.* Действие высоких температур на коферментный состав и активность изозимов пероксидазы листьев пшеницы. //Физиология и биохимия культ. Растений. 1979. Т. 11. С. 113 – 117.
16. *Чикалова В. А., Даскалюк А. П.* Ростовая реакция корней на действие теплового шока как показатель теплоустойчивости гексаплоидной пшеницы. //Физиология и биохимия культурных растений. - 2013 - № 1 – С.75-80.

SEMNIFICAȚIA HOMEOSTAZEI APEI ŞI PROTECŢIEI ANTIOXIDANTE PENTRU TOLERANȚA PLANTELOR LA SECETĂ

Brînză Lilia

Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

S-au înregistrat deosebiri în capacitatea de reglare a status-ului apei şi activităţii enzimelor antioxidante în organele plantelor de *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus acutifolius* Gray şi *Phaseolus lunatus* L., condiţionate de secetă. La plantele rezistente, inflorescenţele şi păstăile posedă o mai bună homeostatare a apei din contul rezervei de apă din tulpini, activităţii sistemului radicular şi reactivităţii stomatelor. Perturbarea legăturilor coordinative dintre organe este mai exprimată la fasolea obişnuită comparativ cu fasolea tepari şi cea de Lima. Reactivitatea stomatelor, reglarea conductibilităţii hidraulice, capacitatea înaltă de restabilire a status-ului apei, precum şi vigurozitatea vegetativă mică ale plantelor de fasolea tepari şi cea de Limă reflectă strategia conservativă a plantelor tolerante. Toleranţa scăzută a plantelor de Phaseolus vulgaris L. la secetă este o urmare a diminuării conductibilităţii stomatelor, apariţiei abundente a speciilor reactive de oxigen, intensificării procesului de oxidare peroxidică a lipidelor, dereglării gradului de coordonare a activităţii enzimelor de protecţie antioxidantă, accelerării destrucţiilor oxidative.

Cuvinte-cheie: status-ul apei, adaptare, enzimele de protecţie antioxidantă, secetă

Depus la redacţie: 25 septembrie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Brînză Lilia, Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Pădurii, 20, MD 2002, Chişinău, Republica Moldova.

Introducere

Problema elucidării mecanismelor asociate cu rezistenţa plantelor de cultură la acţiunea condiţiilor nefavorabile are o importanţă deosebită, deoarece la cultivarea soiurilor cu potenţial înalt de productivitate nu întotdeauna se obţine rezultatul scontat. Prioritatea acestora, de regulă, se manifestă numai în condiţii favorabile de mediu, pe fond de umiditate, temperatură şi nutriţie, ce ar corespunde cerinţelor genotipului. În marea majoritate a cazurilor productivitatea înaltă este corelată cu potenţial scăzut de rezistenţă [2]. În perioadele secetoase avantajele soiurilor înalt productive nu se realizează. Detaliile mecanismelor moleculare de reglare a reacţiei plantelor la stresul prin secetă se discută în lucrările [2, 3, 6, 9, 12, 15, 16] şi al. Din datele literaturii urmează, că proprietatea plantelor de minimizare a impactului secetei şi de adaptare la condiţii de umiditate suboptimală este condiţionată de un complex de particularităţi funcţionale şi de structură, ce s-au format pe parcursul filogenezei. Până în prezent nu este clarificat rolul determinant al complexului de proprietăţi morfofuncţionale, în desfăşurarea reacţiei de răspuns la schimbarea umidităţii nu numai în sensul supravieţuirii organismului vegetal, dar, ce-i important pentru plantele de cultură – în aspectul „supravieţuirii reproductive". În acest context prezintă interes dezvăluirea particularităţilor morfo-fiziologice de adaptare la insuficienţa de umiditate a plantelor de cultură, ce aparţin la specii cu diferit potenţial de toleranţă.

Materiale şi metode

Investigaţiile au fost efectuate în experienţe dirijate în Complexul de vegetaţie al Institutului de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor. În studiu au fost utilizate plante de *Phaseolus lunatus,* L, cv. *Fetanisa; Phaseolus acutifolius,* Gray, cv. *Acutifolius* 5; *Phaseolus vulgaris,* L., cv. *Nina* - specii cu diferit potenţial de productivitate şi toleranţă la secetă . Plantele erau cultivate în vase de vegetaţie Mitcerlih cu capacitatea de 30 kg sol abs. uscat în regim de umiditate controlată. Condiţiile de umiditate se menţineau prin udarea plantelor conform masei vasului cu sol şi plantă respectiv. Pentru depistarea efectului de adaptare şi formarea unui fenotip de plante adaptate s-au creat variante cu repetarea situaţiilor stresogene după schema: I variantă – martor, umiditate permanentă 70% din capacitatea totală pentru apă a solului (CTA); II variantă – plante ce au suportat seceta la faza de înflorire, umiditate 30% CTA. Studiul caracterelor morfogenetice şi funcţionale s-a efectuat după 10 zile de stres hidric şi după I şi a VII-ea zi de restabilire a regimului de umiditate optimă. Studiul caracterelor funcţionale s-a efectuat după 10 zile de stres hidric. Conţinutul total de apă, deficitul de saturaţie, capacitatea de reţinere a apei în ţesuturi se determinau conform metodelor clasice descrise [2, 11] în 5 repetări. Menţinerea homeostazei – stabilitatea parametrilor interni – s-a evidenţiat după capacitatea plantei de a păstra mai mult sau mai puţin constantă activitatea sistemelor funcţionale ale rădăcinii şi lăstarului. Testarea intensităţii oxidării peroxidice a lipidelor s-a efectuat prin determinarea produsului final – conţinutului di-aldehidei malonice [17]. Activitatea enzimelor cheie de protecţie antioxidantă s-a investigat prin metoda spectrofotometrică: SOD - prin metoda [19]; CAT s-a apreciat prin metoda Chance B. şi Machly A. [5] prin determinarea spectrofotometrică la λ 240 nm a descompunerii H_2O_2 ; GwPX - după intensitatea oxidării guaiacol (2 – metoxi – fenol) ca donator de hidrogen în prezenţa H_2O_2, λ 470 nm; APX – prin monitorizarea ratei de oxidare a ascorbatului la λ 290 nm [13]; GR - prin reducerea glutationului oxidat în prezenţa NADP·H, λ 340 nm [14]; GPX – prin oxidarea glutationului redus, 260nm [18]. Omogenizarea materialului vegetal şi extracţia – conform descrierii [10]. Diferenţele între variante s-au documentat prin analiza statistică a datelor, utilizând setul de programe “Statistica 7” – ANOVA, pentru computere.

Rezultate şi discuţii

Plantele superioare posedă diferite mecanisme, ce le măresc toleranţa la insuficienţa de umezeală impusă de condiţiile meteorologice extreme – sporadicitatea şi lipsa precipitaţiilor precum şi temperaturile extrem de ridicate. În ultimul timp în literatura pe problemă reacţiile de adaptare şi toleranţa plantelor sunt analizate prin prisma concepţiei „strategiilor ecologice”, formulată de Grime [8]. În conformitate cu această teorie, deosebirile plantelor cu diferită orientare ecologică sunt determinate de natura fiziologică a reacţiilor de adaptare. De obicei plantele se specializează la un anumit tip de stres prin prezenţa anumitor adaptaţii fiziologice, care asigură un consum economicos al resurselor mediului [8]. Datele obţinute în lucrarea de faţă au demonstrat, că plantele de *Phaseolus* din speciile investigate se deosebesc după reactivitatea lor la variaţia regimului de umiditate, iar gradul de modificare a parametrilor status-ului apei depinde de particularităţile genotipice şi potenţialul de rezistenţă al acestora (tab. 1).

În condiţii favorabile de umiditate potenţialul hidric şi gradul de hidratare a ţesuturilor frunzelor la plantele de *Ph. vulgaris,* L. se caracterizează prin valori ceva mai

mari, comparativ cu plantele de *Ph. acutifolius,* Gray şi, îndeosebi, cu reprezentanţii *Ph. lunatus,* L. În condiţii de secetă, în ţesuturile plantelor se formează un DS, după care se poate de judecat despre relaţia dintre absorbţia apei din sol, transportul ei în organe şi consumul în procesul de transpiraţie. Creşterea considerabilă a DS în frunze poate fi cauzat de un consum sporit de apă sau de diminuarea proceselor de absorbţie a ei de către rădăcini, ceea ce indică despre o dereglare a bilanţului hidric al plantei. Totodată valoarea deficitului de saturaţie a frunzelor depinde de profunzimea de penetrare a solului de către rădăcini şi eficacităţii lucrului sistemului radicular. În experienţele noastre majorarea deficitului de saturaţie, cauzată de insuficienţa de umezeală în sol, la soiurile studiate avea loc în mod diferit.

Tabelul 1. Particularităţile status-ului apei plantelor de fasolea în condiţii de secetă.

Specie / Cultivar	Umiditatea solului, % CTA	Conţinutul de apă, g·100 g. m. p.	Deficitul de saturaţie, % de la saturaţia deplină	Capacitatea de reţinere a apei, % apă pierdută după 2h de deshidratare	Hidratura biocoloizilor, g apă ·g^{-1} s.u.
***Ph. lunatus,* L., Fetanisa**	70	83.23 ± 0.46	6.69 ± 0.30	7.39 ± 0.19	4.74 ± 0.10
	30	80.30 ± 0.13	10.14 ± 0.41	2.94 ± 0.11	3.97 ± 0.017
***Ph. acutifolius,* Gray, cv. Acutifolius 5**	70	84.12 ± 0.23	6.87 ± 0.26	11.69 ± 0.38	5.48 ± 0.04
	30	83.59 ± 0.23	10.51 ± 0.25	4.78 ± 0.22	4.47 ± 0.12
***Ph. vulgaris,* L., cv. Nina**	70	86.48 ± 0.81	8.01 ± 0.34	14.35 ± 0.45	5.57 ± 0.03
	30	81.34 ± 0.46	12.81± 0.42	6.07 ± 0.20	4.07 ± 0.18

La plantele din speciile cu un potenţial înalt de toleranţă după 10 zile de secetă (30 % CTA) deficitul de saturaţie în frunze era considerabil mai mic comparativ cu valoarea DS în frunzele *Ph. vulgaris,* L. Valoarea medie a deficitului de saturaţie în frunzele plantelor de *Ph. lunatus,* L., cv. Fetanisa s-a mărit cu 18,7 % de la saturaţia deplină, la plantele cv. Acutifolius 5 – cu 17,7%, pe când la plantele cv. Nina, neajunsul de umezeală în sol, a cauzat, majorarea deficitului de saturaţie cu 34,9 % faţă de martor. Se ştie, că valoarea deficitului de saturaţie în anumită măsură depinde de activitatea de absorbţie a sistemului radicular, de capacitatea biopolimerilor protoplasmei de a reţine apa, precum şi de intensitatea transpiraţiei. S-a stabilit, că frunzele fasolei de lima de pe fond optimal de umiditate pierd timp de 2 h de ofilire experimentală 18,7 - 20,7% din conţinutul iniţial de apă; fasolea tepari – 30,0 - 32,0% şi reprezentanţii fasolei comune – 28,0 - 29,0% din conţinutul iniţial al apei în ţesuturi. Frunzele plantelor din specia *Ph. lunatus,* L., (cr. Lunatus 602 şi Fetanisa) se caracterizează prin valori maxime de reţinere a apei. Deci, se putea de aşteptat, că plantele din specia *Ph. lunatus*, L., posedând o capacitate înaltă de reţinere a apei în ţesuturi, vor fi mai puţin afectate în condiţii secetoase. Reprezentanţii speciei *Ph. acutifolius,* Gray de pe fond de umiditate optimă (70% CTA) pierd uşor apa, fapt care conduce spre presupunerea, că toleranţa genotipică a acestora este asociată nu atât cu capacitatea de reţinere a apei cât cu activitatea sistemului radicular. După cantitatea de apă reţinută în frunze în condiţii de deficit de umezeală în sol, plantele luate în investigaţie pot fi distribuite în ordine descrescândă astfel: Fetanisa > Acutifolius 5 > Nina. Necătând la faptul că în condiţii

de secetă plantele dezvoltă o capacitate ceva mai mare de a reţine apa în ţesuturi, gradul de hidratare a biocoloizilor diminuează (tab.1). Astfel, hidratura frunzelor plantelor de *Ph. lunatus*, L.,cv. Fetanisa scade după 10 zile de insuficienţă de umezeală în sol cu 9,6% comparativ cu hidratura aceloraşi plante în condiţii optime de umiditate; la Acutifolius 5– cu 15,6%; iar la fasolea obişnuită, cv.Nina – cu 22,6%. Majorarea DS a ţesuturilor sub influenţa insuficienţei de umiditate în sol are drept urmare diminuarea consumului apei în procesul de transpiraţie (fig. 1).

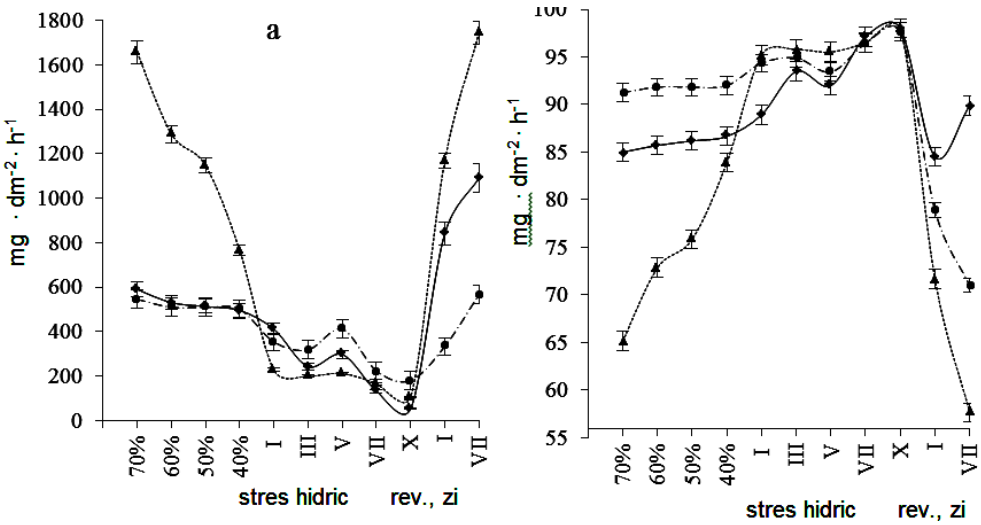


Fig. 1. Modificarea intensităţii transpiraţiei, (a) şi rezistenţei difuziei apei prin stomatele (b) frunzelor de *Phaseolus* în funcţie de schimbarea graduală a umidităţii solului.

Aparatul stomatal al plantelor de fasolea reacţionează prompt la schimbarea umidităţii solului (fig. 1a, b), în deosebi de marcată este transpiraţia plantelor de *Ph. vulgaris,* L. Deja la scăderea umidităţii solului până la 50% CTA, creşte rezistenţa stomatelor pentru difuzia vaporilor de apă şi intensitatea transpiraţiei la aceste plante se reduce de 1,45 ori; la 40% CTA consumul apei scade de 2,16 ori. O secetă de 10 zile condiţionează blocarea aproape completă (93 la sută) a transpiraţiei. Plantele tolerante (*Ph. lunatus, L*. cv. Fetanisa şi *Ph acutifolius,* Gray, cv. Acutifolius 5) se caracterizează prin proprietatea de a menţine la un nivel stabil intensitatea procesului pe o perioadă relativ mai mare (fig.1 a, b).

În primele zile de insuficienţă de umezeală (30% CTA) gradul de reducere a transpiraţiei la fasolea de lima era de 5 ori mai mic decât la fasolea obişnuită. O reducere cu 50 la sută a consumului apei la acestea s-a înregistrat după 5-7 zile de secetă. S-a constatat o diminuare a conductibilităţii stomatelor la plantele cv. Nina cu 28,8 la sută deja la umiditatea 40% CTA. *Ph. vulgaris,* L. consumând pentru transpiraţie mult mai multă apă decât *Ph. lunatus,* L. şi *Ph. acutifolius,* Gray şi având o suprafaţă mare de evaporare epuizează mult mai repede rezervele de apă din sol. În limita diapazonului de umiditate 70-60-50-40% CTA procesele schimbului de apă la plantele tolerante se menţin la un nivel relativ optim, constant şi numai după 3 zile de umiditate insuficientă (30% CTA) are loc o diminuare statistic veridică a status-ului apei. Nişa ecologică favorabilă în care organismul poate exista normal fără perturbări evidente ale

proceselor fiziologice a reprezentanţilor speciei *Ph. vulgaris*, L. este cuprinsă în limita unui diapazon îngust de variaţie a umidităţii.

Deci, plantele de *Phaseolus* se adaptează la condiţiile de umiditate suboptimală prin majorarea CRA în ţesuturi, activitatea sistemului radicular de absorbţie a apei şi reglementarea consumului apei în procesul de transpiraţie. Plantele cu un potenţial înalt de rezistenţă (*Ph. lunatus,* L. şi *Ph. acutifolius,* Gray) în aceleaşi condiţii de umiditate suboptimală (30% CTA), se caracterizează prin proprietatea de a păstra la un nivel relativ stabil hidratarea ţesuturilor, iar plantele de *Ph. vulgaris*, L. se deosebesc printr-o sensibilitate mărită faţă de stres. Reglarea conţinutului de apă, reactivitatea aparatului stomatal, capacitatea înaltă de stabilizare şi restabilire a consumului apei, reflectă strategia conservativă a plantelor tolerante din sp. *Ph. lunatus,* L. şi *Ph. acutifolius,* Gray. Potenţialul de adaptare şi autoreglare a schimbului de apă la tensionarea regimului de umiditate la aceste specii se realizează prin reacţii fiziologice diferite: prin majorarea CRA şi reactivitatea stomatelor la prima specie şi prin capacitatea sistemului radicular de absorbţie a apei din sol şi reactivitatea stomatelor la reprezentanţii *Ph. acutifolius,* Gray. Genotipurile de *Ph. lunatus,* L. şi *Ph. acutifolius,* Gray, luate în studiu se deosebesc prin proprietăţi morfogenetice de pre adaptare la deficitul de apă şi arşiţă moderate.

Plantele de fasolea din specia *Ph. lunatus, L.*, după caracterele ecologice se atribuie la xerofite. Reprezentanţii speciei *Ph. acutifolius,* Gray sunt tipic xerofite.

Plantele din specia *Ph. vulgaris,* L. (cr. Nina) după caracterele ecologice se atribuie la mezofite, dezvoltă un sistem radicular viguros, orientat orizontal în stratul arabil. în condiţii de insuficienţă de umiditate, perturbarea status-ului apei în organism condiţionează modificări autentice ale parametrilor morfologici ale plantelor din toate cele trei specii luate în studiu.Se ştie, că datorită sensibilităţii şi toleranţei diferite a organelor, are loc perturbarea legăturilor coordinative dintre acestea, integrităţii funcţionale şi structurale a organismului, ceea ce conduce la reducerea productivităţii plantelor, sau chiar la pieirea acestora.

S-a stabilit (fig. 2), că impactul secetei asupra status-ului apei organelor vegetative şi generative se desfăşoară în mod diferit. Deosebiri cantitative maxime au fost înregistrate în efectul net al secetei asupra status-ului apei în rădăcinile şi inflorescenţele plantelor. Astfel acţiunea netă a secetei asupra conţinutului de apă în rădăcinile plantelor de *Ph. vulgaris,* L., cr. Nina a fost de ≈ 3 ori mai mare decât asupra conţinutului de apă în tulpini şi de 2,3 ori mai mare decât în frunze. La inflorescenţe nu se induc procesele de reparaţie a perturbărilor status-ului apei chiar şi după ameliorare umidităţii solului [4]. Probabil, prin aceasta poate fi explicat fenomenul de cădere a florilor la plantele de fasolea în condiţii de secetă. Numai după ameliorarea condiţiilor de umiditate la cultivarele studiate are loc regenerarea şi restabilirea status-ului apei în inflorescenţele nou formate.

Se ştie, că rolul determinativ în formarea mecanismelor de rezistenţă la secetă a plantelor la faza juvenilă de dezvoltare revine celulelor meristematice proliferative ale rădăcinii şi lăstarului în timpul dividerii cărora sunt activate de factorii mediului alte subprograme genetice. Din datele obţinute (fig.3) reiese, că toleranţa poate fi indusă experimental în plante prin deshidratare uşoară, cauzată de o secetă moderată (30% CTA, 7 zile) la fazele iniţiale de dezvoltare (faza I-ei frunze trifoliate).

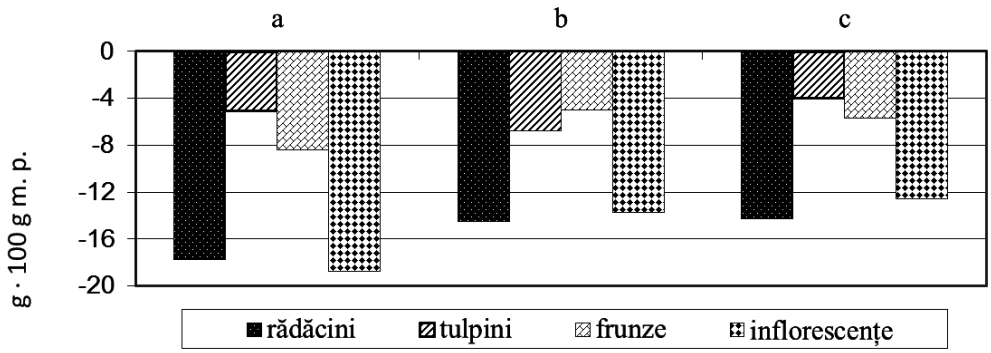


Fig. 2. Efectul secetei (acţiunea netă a factorului, g · 100 g m. p.) asupra conţinutului de apă în organele plantelor de *Phaseolus* din diferite specii: a - *Ph. vulgaris*, L., cv. Nina; b - *Ph. acutifolius,* Gray, cv. Acutifolius 5; c - *Ph. lunatus,* L., cv. Fetanisa.

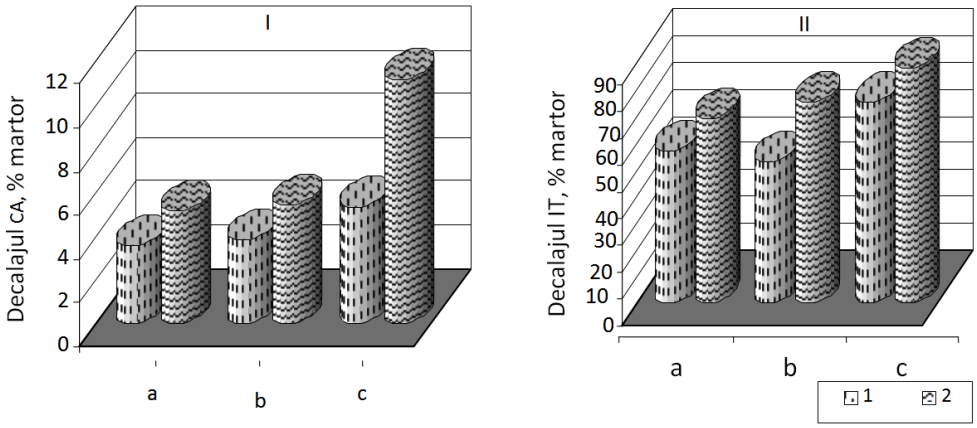


Fig. 3. Efectul stresului hidric asupra parametrilor status-ului apei la plantele adaptate şi neadaptate de fasolea. Legenda: I – conţinutul de apă în ţesuturi; II – intensitatea transpiraţiei. a – *Ph. lunatus,* L., cv. Fetanisa; b –*Ph. acutifolius,* Gray, cv. Acutifolius 5; c – *Ph. vulgaris,* L., cv. Nina. 1-plante adaptate (stresate la fazele juvenilă şi de înflorire); 2- plante neadaptate (stresate la faza de înflorire).

Rezultatele experimentale demonstrează că plantele, supuse unui stres hidric moderat şi de scurtă durată la fazele iniţiale de dezvoltare, suportă fără prea grave consecinţe acţiunea ulterioară a secetei la faza de înflorire şi formare a bobului. La astfel de plante, se manifestă un efect de adaptare exprimat prin micşorarea sensibilităţii la un nou stres hidric. Efectul adaptării la plantele de *Ph. vulgaris,* L. este mai mic comparativ cu celelalte două specii. Plantele adaptate la un regim hidric moderat, posedând o activitate mărită a sistemului radicular, capacitate înaltă de atracţie a apei în organele vegetative şi, îndeosebi generative, precum şi capacitate înaltă de reţinere a apei, repede şi mai complet î-şi refac rezerva de apă din ţesuturi, î-şi maximalizează turgescenţa. Deficitul de saturaţie la plantele neadaptate continuă să rămână ceva mai ridicat faţă de plantele martor şi după ameliorarea umidităţii solului.

Potenţialul redus de rezistenţă la secetă a plantelor de *Ph. vulgaris,* L se datorează inhibării proceselor fiziologice la un potenţial al apei mai înalt în sol, deshidratării,

diminuării drastice a conductibilităţii stomatelor şi apariţiei speciilor reactive de oxigen (tab. 2).

Tabelul 2. Schimbarea conţinutului de fosfolipide, DAM şi activităţii enzimelor de protecţie antioxidantă în frunzele plantelor *de Phaseolus* în condiţii de secetă.

Parametri	Umiditatea solului		
	70 % CTA	30 % CTA	Δ. %
	M ± m	M ± m	
Conţinutul de fosfolipide, mkg.g^{-1} s.u.	741.8 ± 4.17	320.2 ± 3.85	-56,83
Conţinutul DAM, mkM/g. s. p.	7.44 ± 0.18	16.24 ± 0.44	-118,28
Activitatea SOD, un. conv./ g. s. p.	68.26 ±1.06	130.0 ± 2.14	-90,45
Activitatea CAT, mM/g. s. p.	12.01± 0.28	21.32 ± 0.25	-77,51
Activitatea AscPO, mM/g. s. p.	9.47 ± 0.12	23.74 ± 0.23	-150,69
Activitatea GlPO, mM/g. s. p.	126.45 ± 0.97	184.02 ± 1.96	-45,53
Activitatea GwPO, mM/g. s. p.	247.71 ± 2.18	392.27 ± 3.34	-58,36
Activitatea GlRed, mM/g. s. p.	156.56 ± 1.23	264.42 ± 2.18	-68,89

Comparativ cu martorul,la plante ne expuse acţiunii secetei, conţinutul di-aldehidei malonice (DAM) în frunze, considerat marcherul SO şi OPL [1; 7], se majorează în mediu de 2,2 ori. Intensificarea proceselor de oxidare peroxidică a lipidelor a condus la diminuarea conţinutului de fosfolipide în frunzele plantelor cu 56,8 la sută. Se ştie, că şi în condiţii normale permanent în celulele plantelor are loc un anumit nivel de oxidare peroxidică a lipidelor, dar care se menţine constant datorită sistemelor de protecţie antioxidantă. La determinarea acţiunii nete a secetei asupra schimbării conţinutului de di-aldehidă malonică şi activizării superoxid dismutazei s-au identificat efecte diferite în dependenţă de durata factorului de stres. La plantele de fasolea activizarea SOD nu este suficientă pentru dismutarea SRO.

Prin urmare, plantele de *Phaseolus* se adaptează la condiţiile de umiditate suboptimală datotirită proprietăţii de autoreglare a status-ului apei: prin majorarea CRA în ţesuturi, activitatea sistemului radicular de absorbţie a apei şi reglementarea consumului apei în procesul de transpiraţie. Reglarea conţinutului de apă, reactivitatea aparatului stomatal, capacitatea înaltă de stabilizare şi restabilire a consumului apei, reflectă strategia conservativă a plantelor tolerante din sp. *Ph. lunatus,* L. şi *Ph. acutifolius,* Gray.

Concluzii

1. Strategia conservativă a plantelor din spp. *Ph. lunatus* L. şi *Ph. Acutifolius* Gray se realizează prin menţinerea la nivel relativ stabil şi echilibrat a status-ului apei comparativ cu plantele sp. *Ph. Vulgaris L.*, datorită anumitor proprietăţi fiziologice (CRA, IT, intensitatea absorbţiei apei) şi caractere morfogenetice (frunze cutinizate, pubescente, sistem radicular penetrabil, etc.) care asigură pre adaptarea la umiditate suboptimală.

2. La plantele stres-tolerante capacitatea de restabilire compensatorie a proceselor fiziologice la ameliorarea regimului condiţiilor de umiditate este mai rapidă.

3. Plantele care au suportat un stres hidric moderat la faza juvenilă de dezvoltare suportă mai uşor un stres hidric repetat.

4. Potenţialul redus de rezistenţă a plantelor de fasolea se datorează inhibării proceselor fiziologice la un potenţial al apei mai înalt în celule, diminuării drastice a conductibilităţii stomatelor, apariţiei SRO, dereglării gradului de coordonare a activităţii enzimelor de protecţie antioxidantă.

Bibliogragie

1. Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplast and their functions. //Plant Physiology. 2006.141. P. 391 – 396.

2. Boyer J.S. Water transport . //Ann. Rev. Plant Physiol. 1985. V. 36. p. 473-516.

3. Bray E. Molecular Responses to Water Deficit. //Plant Physiol. 1993. V. 103. P. 1035-1040.

4. *Brânză L.,* Stres-reacţia - expresie particulară a rezistenţei plantelor la umiditate redusă. //Teza de doctor în ştiinţe biologice. Chişinău. 2003. 173 p.

5. Chance B. şi Machly A. Assay of catalases and peroxidases. //Methods in Enzymology, S. P. Colowick and N.O. Kaplan (ed). N.Y.: Acad. Press. 1955. V. 2. P. 764-775.

6. *Cherry J.H.* Environmental stress in plants. //Biochemical and Physiological Mechanisms. NATO ASI Series G: Ecological Sciences. Springer-verlag. 1989 .V. 19. P. 369.

7. Foyer C.H., Noctor G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in physological responses. //The Plant Cell. 17. 2005. P.905 – 971.

8. Grime J.P. Plant Strategies and Vegetation Processes. //Chichester, Brisbane, Toronto: J. Willey and Sons. 1979. 222 p.

9. Ingram J., Bartels D. The molecular basis of dehydration on tolerance in plants. //Annu Rev. Plant. Physiol. V. 47. 1996. P. 377-403.

10. Keshavkant S., Naithani S.C. Chilling-induced oxidative stress in young sal (Shorea robusta) seedlings. //Acta Physiologia Plantarum. 2001. V. 23 No. 4. P. 457-468.

11. Kramer P.J., Boyer J.S. Water relations of plant and soil. //San Diego: Academic Press. 1995. 489 p.

12. Levitt J. Recovery of turgor by Wilted, excised cabbage leaves in the absence of water uptake. A new factor in drought acclimation. //Plant Physiology. 1986. V. 82. N. 1. P. 1945 - 1952.

13. Nacano Y., Asada K. Hydrogen Peroxide Is Scavenged by Ascorbate Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. //Plant Cell Physiol. 1981. V. 22. P. 867-880.

14. Schadle M., Bassham J.A. Chloroplast. Glutathione reductase. //Plant Physiology. 1977. V. 59. No. 4. P. 1011.

15. Shinozaki Kazuo, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki. Molecular Responses to Cold, Drought Heat and Salt Stress in Higher plants. //R. G. Landes Company. Austin. Texas. U.S.A. 1999. 170 p.

16. Smith J.A.C., Griffiths H. Integrating plant water deficits from cell to community. // Water Deficits. Bioc. Scientific Publishers. 1993. P. 1-5.

17. Курганова Л.Н., Веселов А.П., Гончарова Т.А., Синицына Ю.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система защиты в хлоропластах гороха при тепловом шоке. //Физиология растений. 1997. Т. 44. С. 725 – 730

18. Полеская О.Г., Каширина Е.И., Алехина Н.Д. Изменение активности антиоксидантных ферментов в листьях и корнях пшеницы в зависимости от формы и дозы азота в среде. //Физиология растений. 51. 2004. №5. С. 686 – 691.

19. *Чевари С., Чаба И., Секей Й.* Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её в биологических материалах. //Лабораторное дело. № 11. 1985. С. 578-681.

EFECTUL ACIDULUI SALICILIC ASUPRA PROCESULUI DE ADAPTĂRE A PLANTELOR LA SECETĂ

Melenciuc M.

Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

S-a studiat efectul acidului salicilic şi derivaţilor lui cu cationi de NH_4^+, K^+, Mg^{++} asupra proceselor fiziologice a plantelor isohidrice de *Zea mays* L. şi anisohidrice de Sorghum bicolor L., Möench în diferite condiţii de umiditate. S-a stabilit, că particularităţile de autoreglare a status-ului apei, induse de secetă, sunt asociate cu caractere morfologice adaptive: reducerea suprafeţei de evaporare prin senescenţa frunzelor inferioare (la porumb) şi lăstarilor adventivi (la sorg), frunze rulante (la porumb), cutinizare şi exudaţii de oxizi de siliciu (la sorg). S-a demonstrat, că salicilaţii participă în inducţia mecanismelor de toleranţă a plantelor la secetă prin modularea absorbţiei, conductibilităţii hidraulice, rezistenţei stomatelor şi intensităţii transpiraţiei. Atare modificări adaptive sunt orientate spre eficientizarea maximă a utilizării apei în procesul de producţie. Tratarea seminţelor înainte de semănat şi aparatului foliar al plantelor cu salicilaţi relevant majorează toleranţa organismului la intemperiile ulterioare, ceea ce se repercutează asupra creşterii, productivităţii şi recoltei plantelor.

Cuvinte cheie: status-ul apei, conductibilitatea stomatelor, caractere morfologice, secetă, rezistenţă.

Depus la redacţie 28 septembrie 20015

Adresa pentru corespondenţă: Melenciuc Mihail, Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Pădurii, 20, MD 2002 Chişinău, Republica Moldova; e-mail: melenciuc79@mail.ru

Introducere

Studiul mecanismelor de adaptare şi formare a rezistenţei la secetă a plantelor, îndeosebi a mezofitelor de cultură, reprezintă una din direcţiile prioritare ale biologiei contemporane. Deficitul de umiditate este cel mai răspândit şi violent factor abiotic, care negativ marchează procesele de creştere şi productivitate [1, 8]. Pierderile de producţie, cauzate de acţiunea factorilor nefavorabili din mediul ambiant, impune necesitatea lărgirii investigaţiilor privind elucidarea mecanismelor ce stau la baza adaptării şi toleranţei plantelor la condiţii suboptimale de mediu, precum şi prospecţiunii căilor de minimizare al impactului negativ al acestora.

În ultimul timp se pune în discuţie afirmaţia tradiţională despre reglarea consumului apei numai prin reactivarea aparatului stomatal şi prin modificarea stării termodinamice a apei [16-18]. Din informaţia literaturii, analizată în sinteza dată, urmează că proprietatea plantelor de homeostatare a apei în organe în condiţii de deficit moderat de umezeală este, la nivel celular şi de ţesut, co-dependentă de modificarea capacităţii de reţinere a apei (CRA), de intensitatea absorbţiei osmotice a apei, evenimente cuplate cu consum suplimentar de energie şi care se află sub control metabolic [4-6]. La nivel de organism menţinerea echilibrului hidric este condiţionată de reglarea intensităţii absorbţiei, translocării apei prin plantă şi consumului ei în procesul transpiraţiei [2,7]. Scăderea umidităţii solului mai jos de nivelul de prag provoacă astfel de schimbări

în status-ul apei în plantă, la care sistemele de reglare nu sunt în stare să compenseze deshidratarea ţesuturilor prin formarea biopolimerilor hidrofili şi reducerea potenţialului osmotic în celulele rădăcinilor [10]. Mecanismele implicate în autoreglarea status-ului apei plantelor de cultură în condiţii de secetă, sunt studiate incomparabil mai slab. Puţin se cunoaşte despre particularităţile plantelor de cultură de autoreglare a status-ului endogen al apei în funcţie de intensitatea şi durata stresului hidric. Reieşind din faptul că reglarea şi coordonarea creşterii, dezvoltării şi productivităţii plantelor se află sub controlul fitohormonilor, tot mai multe cercetări în fitofiziologie sunt orientate spre elucidarea mecanismelor şi prospecţiunea căilor de reglare exogenă a stării funcţionale a plantelor în condiţii de secetă moderată [20, 21]. Se consideră, că un rol deosebit în preîntâmpinarea perturbării balanţei fitohormonilor indusă de factorul de stres, aparţine acidului salicilic (AS) [11, 12, 14, 22, 25, 26,]. Se presupune, că AS participă în reglarea conductibilităţii hidraulice (Lp) a plantelor [9]. În literatura de specialitate puţine investigaţii sunt subordonate elucidării mecanismelor de acţiune a AS asupra componentelor status-ului apei, creşterii, dezvoltării şi productivităţii plantelor de cultură în condiţii de secetă.

Materiale şi metode de cercetare

Ca obiecte de studiu au servit plante de *Zea mays* L., cultivarele (cv.) P459 şi M291, precum şi *Sorghum bicolor* (L.) Möench, cv. Pişcevoi 1 şi Moldovenesc 40. După cerinţele înaintate faţă de regimul hidric al solului porumbul se atribuie la mezofitele isohidrice; sorgul - la xerofitele anisohidrice [21]. Pentru rezolvarea obiectivelor trasate au fost efectuate serii de experienţe de laborator, în condiţii dirijate de umiditate în Complexul de vegetaţie, precum şi pe câmpurile experimentale ale IGFP. În experienţe dirijate plantele au fost crescute în containere de vegetaţie cu capacitatea de 35kg sol absolut uscat. Regimul de umiditate se menţinea prin udarea plantelor de 2 ori pe zi după greutate conform nivelului de capacitate totală pentru apă a solului (CTA), luându-se în consideraţie masa plantelor. Stresul cauzat de secetă a fost modelat la etapa a VI – ea a organogenezei prin reducerea aprovizionării cu apă a plantelor şi menţinerii nivelului de umiditate de 30% CTA.

Pe variante paralele a fost studiat efectul AS. Experienţele de câmp au fost realizate pe sol cernoziom argilo-nisipos prin metoda de blocuri în trei repetări cu variantele repartizate rendomizat. Schema experienţelor cuprindea variantele: 1 - martor; 2 - plante tratate cu AS; 3 - plante tratate cu combinaţia salicilaţilor de NH_4^+, Mg^{2+}, K^+ (preparatul Salmet). Suprafaţa fiecărei parcele în variantă constituia 30 m^2. Pe parcursul studiului s-au determinat următorii indici: conţinutul de apă (CA), deficitul de saturaţie (DS), CRA, IT, Lp în segmentul „rădăcină-tulpină" şi "tulpină – frunze", eficacitatea utilizării apei (EUA) [11,25], precum şi creşterea liniară, acumularea biomasei şi suprafaţa foliară [13]. Conductibilitatea hidraulică a plantelor a fost determinată prin inhibarea canalelor apei cu $HgCl_2$ [13] şi calculată din relaţia $F = L_p.\Delta \Psi_w / \Delta x$; unde, F – rata transpiraţiei, sau fluxul volumetric al apei; L_p – factorul de proporţionalitate definit ca conductibilitatea hidraulică; Δx – distanţa dintre metamerele de organe; Ψ_w – valoarea potenţialului apei [5]. Rezultatele au fost analizate statistic, utilizând pachetul de programe "Statistica 7" pentru computere. Autenticitatea deosebirilor este veridică la nivelul de probabilitate $P \leq 0,05$ şi $P \leq 0,01$.

Rezultate şi discuţii

Capacitatea de adaptare a plantei este fixată în programul genetic, desfăşurarea căruia are loc coordonat în timp şi depinde de condiţiile concrete ale mediului extern [15]. Mediatori între programele genetice şi mediul înconjurător sunt fitohormonii – factori potenţiali de reglare exogenă a proceselor vitale precum şi toleranţei organismului la condiţiile nefavorabile [19,20]. La fitohormonii cu proprietăţi de reglare a creşterii şi dezvoltării plantelor este atribuit şi acidul salicilic [3,4]. Se consideră, că efectul lui este asociat cu menţinerea balanţei dintre AIA, ABA şi CK [4]. Rezultatele testării efectului compuşilor studiaţi au demonstrat că aceştea posedă proprietăţi de SFA, ce se manifestă în schimbarea stării funcţionale a plantelor atât în condiţii prielnice de umiditate cât şi de secetă moderată. Pretratarea seminţelor cu salicilaţi condiţionează accelerarea proceselor de creştere a plantelor la etapele iniţiale ale ontogenezei (tab.1).

Tabelul 1. Influenţa salicilaţilor asupra creşterii plantulelor de Zea mays L., cv. P459 pe fond de „secetă fiziologică" la etapa iniţială a ontogenezei. Exp. lab.

Varianta	Lungimea, mm		Biomasa, mg		
	Radicicolă	Coleoptil	Radicicolă	Coleoptil	Plantulă
Martor	132,11± 0,69	84,52±1,4	373,33±7,2	145,5±1,73	618,92±4,5
Salicilat	156,0± 0,85	98,85±0,4	381,00±5,2	277,9±2,37	658,94±3,8
Martor*Secetă	121,56±0,58	77,69±1,2	282,63±3,4	189,1±5,29	471,80±4,3
Salicilat* Secetă	132,06±1,67	86,83±0,3	358,05±6,2	200,3±4,87	558,36±5,5

Plantulele din seminţe tratate cu salicilaţi se deosebesc prin viteză de absorbţie şi conţinut majorat al apei în ţesuturi comparativ cu plantulele din varianta martor. Efectul salicilaţilor este în deosebi de evident la plantulele expuse „secetei fiziologice", menţinute pe soluţii de polietilenglicol. Creşterea liniară a radicicolei plantulelor din seminţe tratate cu salicilaţi depăşea valorile rădăcinei embrionare a plantulelor martor cu 20 - 40%. Seceta fiziologică a inhibat creşterea sistemului radicular a plantulelor din seminţe netratate cu 8,7 - 10,00%, pe când valorile sistemului radicular al plantulelor tratate nu se deosebea semnificativ de cele ale plantulelor „martor", neexpuse stresului. Viteza diurnă de acumulare a biomasei plantulelor „martor" în primele 5 zile după germinare constituia 123,78 mg · pl^{-1}; a plantulelor tratate cu AS – 131,8 mg m. p. · pl^{-1}. Inaccesibilitatea apei pentru plantulele de pe fond de „secetă fiziologică" a condiţionat o reducere a acumulării biomasei cu 147,12 mg. m. p. în 48 h la plantulele netratate şi cu 60,54 mg m. p. – la cele tratate (tab. 1). Ca urmare a efectului AS şi salicilaţilor creşterea liniară a radicicolei a depăşit de două ori valorile medii a lungimii radicicolei plantelor martor. Totodată lungimea coleoptilului era cu 17,3 la sută mai mare ca lungimea coleoptilului plantulelor din seminţe tratate cu apă. De aici rezultă, că AS la etapele iniţiale ale ontogenezei favorizează creşterea plantulelor în general, dar cu precădere majorează rata de creştere a sistemului radicular. Particularităţile dezvoltării sistemului radicular al plantulelor din seminţe pretratate corelează cu caracterele morfologice ale plantelor tolerante. La plantele stres-tolerante biomasa relativă este mai mare decât la plantele sensibile. Datele obţinute de noi indirect argumentează ideia formulată de Raskin I. [11] precum că salicilaţii au proprietatea de a menţine echilibrul dintre AIA, ABA şi CK. [23,24]. După toate probabilităţile, AS stimulează şi biosintezele, deoarece

după cum urmează din datele tab. 1, viteza de acumulare a biomasei plantulelor tratate cu AS depăşea de 1,4 – 1,5 ori acumularea biomasei plantulelor martor. O consecinţă a deosebirilor vitezei de creştere a organelor plantelor la etapa iniţială a ontogenezei a fost modificarea raportului masa lăstarului / masa rădăcinii (m_l / m_r) . Pe fondalul accelerării proceselor de creştere a plantulei în întregime, AS la etapele iniţiale ale ontogenezei accelerează cu precădere formarea sistemului radicular. Efectul distinctiv al AS asupra modificării coraportului creşterii rădăcinilor şi lăstarului au permis de presupus, că *priming-ul* seminţelor cu AS ar putea servi ca modulator al creşterii, dezvoltării şi rezistenţei plantelor în condiţii de umiditate suboptimală. Doar se ştie, că una din premisele toleranţei la secetă a plantelor este dezvoltarea unui sistem radicular viguros, profund penetrabil, şi cu activitate de absorbţie înaltă. Mai mult ca atât, unul din factorii principali, ce determină mărimea roadei în condiţii de subaprovizionare cu apă, este gradul de dezvoltare a rădăcinilor. S-a stabilit, că la plantele bine aprovizionate cu apă sub influienţa salicilaţilor se majorarează veridic Lp în conexiunea „rădăcină – frunză”

Tabelul 2. Influenţa salicilaţilor asupra parametrilor statusului hidric a plantulelor de Zea mays L., cv. P459 pe fond de „secetă fiziologică” la etapa iniţială a ontogenezei. Exp. lab.

Varianta	Conţinutul de apă, g · 100 g m. p.		Intensitatea transpiraţiei, $g \cdot dm^{-2} \cdot h^{-1}$	L_p mg.cm.h
	Radicicolă	coleoptil		
1. Martor	89,67± 0,53	65,37± 0,87	0,68±0,012	4,4375±0,07
2. Salicilat	90,05± 0,63	96,55± 0,72	0,78±0,009	4,7737±0,13
3. Martor*Secetă	84,53± 0,47	56,67± 1,10	2,87±0,007	1,0249±0,04
4. Salicilat*Secetă	85,65± 0,03	60,40± 0,75	0,89±0,004	2,9541±0,05

şi se menţine valoarea acesteia la un nivel semnificativ mai înalt în condiţii de deficienţe în accesibilitatea apei. Valoarea Lp în condiţii optime creşte cu 9,11% faţă de martor. După 24 h de stres („secetă fiziologică”) L_p la acestea din urmă s-a redus de 4,9 ori, pe când la plantulele din seminţe tratate cu salicilaţi – numai de 1,4 ori (tab. 2). După 48 h de „secetă fiziologică” conductibilitatea hidraulică a plantulelor din seminţe tratate depăşea L_p a plantulelor din seminţe netratate de 3,44 ori. Deosebirile nesemnificative a valorilor L_p în conexiunea „rădăcină – frunză” a plantelor martor, ne expuse acţiunii stresului hidric şi celor tratate cu AS pe fond de secetă, permit de presupus implicarea salicilaţilor în menţinerea în stare activă a canalelor apei sau deblocarea lor în condiţii de stres moderat şi de scurtă durată. Argumente despre particularităţile de homeostatare a status-ului apei de către plantele de *Zea mays* L. şi *Sorghum bicolor* (L.) Möench au fost obţinute şi în experienţe de vegetaţie pe fond de umiditate controlată (tab.3). Cele mai mari valori ale L_p au fost înregistrate în segmentul „tulpini – frunze superioare” la ambele culturi îndeosebi la cele tratate cu AS şi salicilaţi. Efectul de stabilizare a status-ului apei produs de compuşii AS se datorează proprietăţii acestora de reglare a conductibilităţii hidraulice şi stării stomatelor. Salicilaţii sporesc capacitatea de atracţie a apei, în special, spre frunzele de la vârful plantei, inducând redistribuirea apei în organe. Reacţia la secetă a plantelor de sorg se caracterizează nu atât prin reducerea consumului de apă în procesul de transpiraţie, cât prin proprietatea de a se aproviziona

cu apă din contul majorării suprafeţei sistemului radicular şi forţei de absorbţie a apei din sol, precum şi păstrării conductibilităţii hidraulice a plantei. Sporirea intensităţii de livrare a apei permite plantei de a păstra stomatele întredeschise un timp mai îndelungat, ceea ce facilitează asimilarea CO_2 şi acumularea biomasei. Deci, seceta condiţionează schimbări prompte atât în intensitatea transpiraţiei apei, cuplate cu modificarea conductanţei stomatelor, cât şi în valoarea potenţialelor apei şi presiunii hidrostatice ale frunzelor plantelor. Micşorarea fluxului apei spre frunze (IT) sunt asociate cu reducerea conductibilităţii hidraulice a ţesuturilor – mai semnificative la plantele sensibile spre deosebire de plantele tipic anisohidrice tolerante la o secetă de lungă durată. Efectul de stabilizare a status-ului apei produs de compuşii acidului salicilic este o consecinţă a menţinerii conductibilităţii hidraulice şi stării stomatelor.

Tabelul 3. Influenţa salicilaţilor asupra parametrilor status-ului apei plantelor de Zea mays L. cv. P459 şi Sorghum bicolor (L.) Möench cv. Moldovenesc 40 în condiţii de insuficienţă de umiditate. Experienţa de vegetaţie.

Cultivar	Varianta	DS, % de la saturaţia deplină	Conductibilitatea stomatală, g · dm^{-2}	Intensitatea transpiraţiei, mg · dm^{-2} ·h^{-1}	L_p, mg.cm.h
P459	70%	1,42±0,04	44,15 ± 0,86	508,7 ± 14,9	0,475±0,012
	70% + Salmet	1,32±0,03	47,54 ± 0,81	535,2 ± 15,6	0,56±0,009
	30%	18,70±0,23	16,34 ± 0,68	201,7 ± 8,45	0,235±0,007
	30% + Salmet	14,01±0,25	24,17 ± 0,71	225,6 ± 10,7	0,275±0,004
Moldovenesc 40	70%	0,95±0,04	59,20 ± 1,13	844,85 ± 18,4	0,855±0,011
	70% + Salmet	0,76 ±0,02	63,85 ± 1,83	822,74 ± 9,5	0,91±0,006
	30%	2,72±0,07	47,42 ± 1,12	676,77 ± 16,3	0,55±0,008
	30% + Salmet	1,71±0,05	53,00 ± 1,49	719,36 ± 12,9	0,64±0,010

Identificarea diferenţelor morfofiziologice ale plantelor de *Zea mays* L., cv. P459 şi de *Sorghum bicolor* (L.), Möench, cv. Pişcevoi 1 (fig. 1) în condiţii de umiditate controlată, a scos în evidenţă reacţia diferită a plantelor de porumb şi sorg la deficitul de apă din sol şi schimbările compensatorii, induse de AS la nivel de organism, realizate prin menţinerea creşterii, acumulării biomasei, formării suprafeţei de asimilare, etc. Seceta î-şi lasă amprenta asupra formării aparatului asimilator atât prin reducerea suprafeţei foliare a frunzelor metamerelor inferioare, ca consecinţă a uscării acestora, cît şi prin stoparea creşterii frunzelor de la nivelele mediu şi superior de inserţie. Deja după 5 zile de secetă (30% CTA) suprafaţa foliară totală s-a redus la plantele de *Zea mays* L., cv P459 cu 33,0%, iar la cele de *Sorghum bicolor* (L.) Möench, cv. Pişcevoi 1 – cu 19% comparativ cu plantele martor, ne expuse stresului hidric. Utilizarea AS a redus efectul negativ al secetei cu 6,2 şi 5,1 la sută respectiv la plantele de porumb şi sorg. De menţionat, că suprafaţa frunzelor nivelelor mediu şi superior s-a redus în condiţii de insuficienţă de umiditate cu 28,1 şi 39,4% faţă de martor la plantele de sorg şi cu 30,9 şi 40,0% - la cele de porumb. La acestea din urmă, de rând cu tendinţa de inhibare a creşterii frunzelor superioare, s-a înregistrat şi o reducere autentică mai considerabilă a suprafeţei frunzelor inferioare (fig. 1). O particularitate distinctă a plantelor de sorg cu tipul de creştere indeterminant este reducerea suprafeţei de evaporare nu atât din contul

frunzelor lăstarului principal, cât ca urmare a uscării parţiale a frunzelor lăstarilor adventivi. Efectul AS s-a manifestat prin atenuarea impactului secetei, îndeosebi, asupra suprafeţei frunzelor de la nivelul de jos şi mediu. Pretratarea seminţelor pentru semănat şi plantelor în timpul creşterii organelor vegetative a condiţionat şi modificarea masei specifice a frunzelor (fig. 1, II).

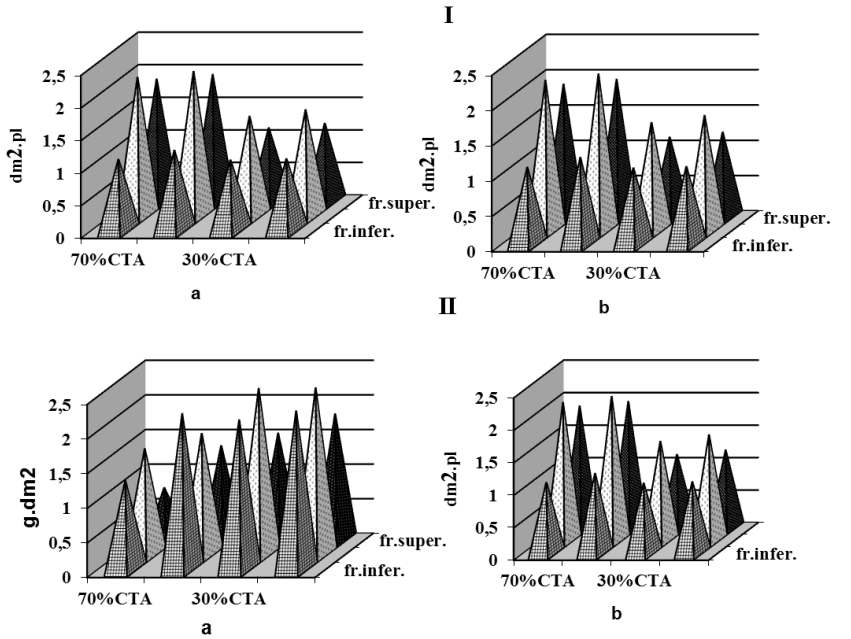


Fig. 1. Influenţa acidului salicilic asupra formării suprafeţei frunzelor diferitor metamere, dm² (I) şi masei specifice, g · dm² (II) a plantelor de *Sorghum bicolor,* L. Möench cv. Pişcevoi 1 (a) şi *Zea mays,* L., cv. P459 (b) în diferite condiţii de umiditate.

Plantele tratate se caracterizau prin frunze cu masa specifică veridic mai mare. Creşterea în înălţime a plantelor de porumb în condiţii de insuficienţă de apă s-a micşorat cu 33,0% la plantele netratate şi cu 26,8% faţă de martor – la plantele tratate cu AS. Creşterea în înălţime a plantelor s-a redus datorită diminuării parametrilor liniari ai internodurilor. Asupra plantelor de sorg seceta a avut un impact mai puţin drastic. Vigurozitatea plantelor era mai mică faţă de control cu 19,5 şi 14,3 la sută respectiv în funcţie de tratament. Prin urmare, plantele tratate seminal şi foliar cu AS mai uşor depăşesc ascendenţa stresogenă. Efectul distinct al acestuia se realizează prin o mai bună formare a aparatului asimilator, acumulării biomasei cea ce, fără îndoială, se răsfrânge asupra procesului de producţie.

Comparând datele obţinute la determinarea parametrilor status-ului apei şi caracteristicilor morfologice ale plantelor s-a putut de preconizat o sporire a eficacităţii utilizării apei de către plantele tratate cu compuşii acidului salicilic în condiţii de secetă. Analiza eficienţei utilizării apei de către plantele de porumb în condiţii de câmp a demonstrat că, pentru sinteza 1g de masă proaspătă (cu grad de hidratare 79,19%) plantele cv. M291 şi P459 tratate cu compuşii acidului salicilic consumă 334,83 - 418,61 g apă respectiv, spre deosebire de plantele „martor”, care consumă 401,77 – 402,94 g apă pentru acumularea unui g de substanţă uscată (tab. 4).

Tabelul 4. Influenţa SFA asupra caracteristicilor morfologice, productivităţii şi structurii recoltei plantelor de *Zea mays* L.

Variante	Masa plantei, g · pl^{-1}	Masa boabelor, g · şt^{-1}	Recolta, q·ha^{-1}, la umidit. 14%	UPA* g s. u. · 1000 g^{-1} apă	EUA**, g. apă/g s.u.
M291					
Martor	583,33 ± 19,2	177,66 ± 2,4	68,90 ± 1,9	1,62±0,04	617,28±24,76
AS	744,45 ± 20,0	190,65 ± 1,5	81,81 ± 3,2	1,78±0,03	560,28±11,27
Salmet	755,55 ± 22,3	192,72 ± 4,8	84,99 ± 2,2	1,98±0,02	505,05±10,38
P459					
Martor	672,22 ± 18,4	240,20 ± 1,8	83,89 ± 0,6	2,72±0,06	367,65±7,34
AS	744,44 ± 11,1	257,60 ± 8,5	99,75 ± 3,5	3,32±0,07	301,20±8,96
Salmet	736,34 ± 23,6	245,55 ± 4,3	110,56 ±3,1	3,17±0,05	315,46±9,18

***UPA - utilizarea productivă a apei. ** EUA – eficienţa utilizării apei**

Reieşind din faptul că atât plantele tratate, precum şi cele netratate (martor), în experienţele de câmp s-au aflat în condiţii identice de umiditate şi totuşi au realizat o productivitate diferită, se poate de concluzionat, că plantele tratate au asigurat o eficienţă mai mare a utilizării apei spre deosebire de plantele „martor”. Astfel, pentru acumularea unei unităţi (1 kg) de producţie de boabe plantele M291 din varianta martor consumă 617,28 kg apă; plantele tratate cu AS - 560,68. Plantele cărora le-a fost administrat preparatul Salmet se deosebeau prin consum economicos de apă - 505,05. Deci, rezultatele investigaţiilor conduc spre concluzia, că antrenarea salicilaţilor în reglarea status-ului apei şi proceselor de creştere asigură o sporire a eficienţei utilizării apei pentru acumularea biomasei plantei (productivităţii primare) (fig. 2). Iar pentru sinteza 1g de masă uscată plantele cv. M291 şi P459 tratate consumă 334,8 – 337,6 g apă, spre deosebire de plantele „martor”, care consumă 401,8 – 402,9 g apă pentru acumularea aceleiaşi unităţi de producţie. Respectiv AS asigură majorarea EUA de către plantele de sorg cu 4,3 - 9,3 la sută (fig 2).

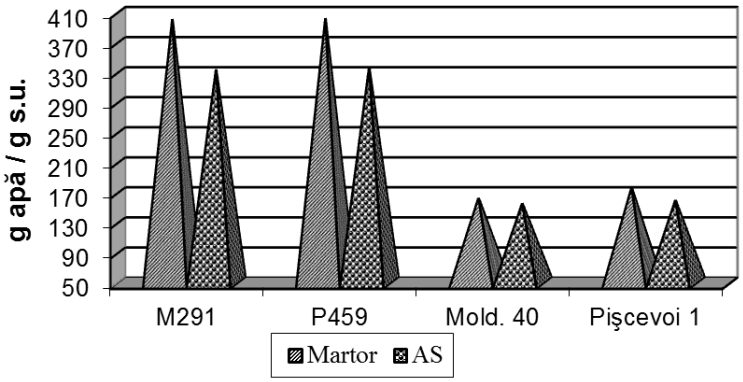


Fig. 2. Eficienţa utilizării apei (g apă ·g^{-1} s.u.) de către plantele de *Zea mays* L., cv. M291 şi P459 şi *Sorghum bicolor* (L.) Möench cv. Moldovenesc 40 şi Pişcevoi 1.

Prin urmare, tratarea plantelor cu salicilaţi are efect pozitiv atât în condiţii favorabile, cât şi la un deficit moderat de umiditate. Efectul se manifestă prin proprietatea de homeostatare a apei în organismul vegetal: majorarea gradului de hidratare a ţesuturilor, micşorarea DS, creşterea turgescenţei, CRA şi EUA.

Generalizând informaţia din literatura de specialitate şi rezultatele obţinute în investigaţiile din cadrul temei, se poate de conchis, că aplicarea exogenă a AS şi salicilaţilor utilizaţi atât individual cât şi în combinaţie condiţionează optimizarea stării funcţionale, creşterii şi dezvoltării plantelor atât în condiţii favorabile de umiditate, cât şi la un deficit moderat de apă.

Concluzii

1. Proprietatea de homeostatare a apei în organismul vegetal indus de AS se realizează prin intensificarea / amplificarea absorbţiei apei de către sistemul radicular, majorarea conductibilităţii hidraulice, gradului de hidratare a ţesuturilor, micşorarea deficitului de saturaţie şi creşterea turgescenţei organelor.

2. Salicilaţii condiţionează activizarea proceselor vitale deja la etapele iniţiale ale dezvoltării individuale a plantelor, stimularea creşterii sistemului radicular şi lăstarului, formarea unor plante mai viguroase în condiţii de regim hidric suboptimal, diminuarea impactului asupra productivităţii.

3. Fenotipul de plante, format la administrarea AS, se deosebeşte prin toleranţă sporită la intemperiile din timpul perioadei de vegetaţie.

Bibliografie

1. Boian I., şi alţii., Raportul III Naţional privind implimentarea Convenţiei Naţiunilor Unite pentru Combaterea deşertificării în Republica Moldova. //Mediul ambiant, 2006. 80 p.

2. Chavies M. M., Maroco J. P., Pereira J. S. Understating plant response to drought: from genes to the whole plant. //Functional Plant Bilogy. 2003. V. 30, P. 239 – 264.

3. Gudvin T. W., Mercer E. I. Introduction to Biochemistry. Second Edition. Oxford. New York. Toronto. Sydney. Paris. Frankfurt: Pegamon Press. 1983. P. 123 – 126.

4. Gupta N. K., Gupta S., Kumar A. Exogenous cytikinine application increases sell membrane and chlorophyl stability in wheat (Triticum aestivum L.). //Cereal Research Communication. V. 28, No. 3, 2000, P. 287-291.

5. Jones H. G. Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. //Journal of Experimental Botany. V. 58, 2007. P. 119 – 130.

6. Jones H. G. Drought tolerance and water - use efficiency. Water Deficits: plant responses from cell to community. Editor: W. J. Davies. University of Lancaster, 1993. P. 193 -203.

7. Levitt J. Recovery of turgor by Wilted, excised cabbage leaves in the absence of water uptake. A new factor in drought acclimation. //Plant Physiology. V. 82, N. 1, 1986, P. 1945-1952.

8. McElroy M. B. Climate of the earth: an overview. //Environmental Polution. V. 83, 1994, P. 3 – 21.

9. Moreshet S., et. al. The Partitioning of Hidraulic Conductances within Mature Orange Trees. //J. of Exp. Bot. V. 41, No. 228, 1990, P. 833-839.

10. Passioura J. The drought environnment: physical, biological and agricultural perspectives. //Jornal of Experimental Botany. V. 58, N. 2, 2007, P. 113 – 117

11. Raskin I. Role of Salicilyc Acid in Plants. //Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. V. 43, 1992. P. 439-463.

12. Shachirova F. M., et. al. Changes in Hormonal Status of Weat Seedlings Induced by Salicilyc Acid and Salinity. //Plant Sci. V. 164, 2003, P. 317-322.

13. Zhongin Lu., Newmann P. Water stress inhibits Hydraulic Conductance and Leaf Growth in Pice Seedlings but Not the Transport of Water via Mercury Sensitive Water Ghanneles in the Root. //Plant Physiology. V. 120, N. 1, 1999. P. 143-151.

14. *Безрукова М. Б., Сахабутдинова А. Р., Шакирова Ф. М.* Механизмы защитного действия салициловой кислоты на растения пшеницы в условиях дефицита влаги. //Мат. Межд. Конф. „Физиология растений – наука III Тысечелетия”. Москва: Наука, 1999. С. 322.

15. *Геринг Х.,* Фитохорионая и гормональная регуляция морфогенеза. //Гормональная регуляция онтогенеза растений. Москва: Наука, 1984, С. 117-127

16. *Жолкевич В. Н.* Транспорт воды в растении и его эндогенная регуляция. Москва: Наука, 2004, 80 с

17. *Зялалов А.* Водный ток в высших растениях: физиология, эволюционное становление, системный анализ. //Физиология растений. 2004. Т. 51, N.4.

18. *Зялалов А. А., Авдуевский М. Л.* Вклад градиента химического потенциала воды в среде в энергетический баланс надземных сосудистых растений. //Ж. Общ. Биол. Т. *61,* 2000. С. 173 – 179.

19. *Кефели В. И.* Гормональная регуляция роста растений. Новосибирск: 1988. 209 с

20. *Кефели В.И.* Поведение полутантов в почвах и ландшафтах. //АН СССР. Пущчино: 1990. 134с.

21. *Лархер В.* Экология растений. 1978, Москва: Мир, 382 с.

22. *Лукоянова С. А.* Биофизические основы корневой экссудации. //Биофизика растений и фитомониторинг. Под ред. О.О. Лялина. Ленинград: 1990. АФИ, С. 45.

23. *Ниловская Н., Осипова Л., Морозова Э.* Влияние кинетина на жизнедеятельность апексов яровой пшеницы при действии водного стресса. //Регуляторы роста и развития растений. 1997. Москва: Наука, С. 220.

24. *Пустовойтова Т.Н., Баврина Т.В., Жданова Н.Е.* Особенности засухоустойчивости трансгенных растений табака с генами iaaM и iaaH биосинтеза ауксина. //Физиология растений. Т. 47, № 3, 2000. С. 431-436.

25. *Фархутдинов Р. Г., и др.,* Гидравлическая и устьичная проводимость проростков пшеницы при повышении температуры воздуха. //Агрохимия. № 7, 2004, С. 53-57.

26. *Шакирова Ф. М.* Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем. 2001. 160 с.

GENETICA, BIOLOGIA MOLECULARĂ ŞI AMELIORAREA

IDENTIFICATION OF GENES DIFFERENTIALLY EXPRESSED IN SUNFLOWER DURING INTERACTION WITH *PLASMOPARA HALSTEDII*

Şestacova Tatiana, Port Angela, Duca Maria

Laboratory of Genomics, Center of Molecular Biology,
University of the Academy of Sciences of Moldova

Rezumat

Mana, cauzată de agentul patogen din clasa oomicetelor *Plasmopara halstedii*, este una dintre cele mai devastatoare boli ale florii-soarelui cultivate (*Helianthus annuus* L.). Cu toate acestea, interacţiunea între floarea-soarelui şi *P. halstedii* nu este bine studiată. Pentru identificarea genelor cu expresia diferenţiată în cazul reacţiei florii-

soarelui la *P. halstedii* a fost analizată activitatea transcipţională a genelor asociate cu răspunsul defensiv la cinci genotipuri de floarea-soarelui din RM, care au fost infectate natural cu mana. În total 14 secvenţe de gene şi opt EST-uri au fost luate în studiu. În baza clasificării după funcţie la plante model şi gradului înalt de omologie au fost atribuite categorii funcţionale secvenţelor studiate. Grupul cel mai mare a cuprins genele superoxid dismutazelor, catalazelor etc. Mai mult ca atât, în acest studiu au fost incluse genele implicate în transducerea semnalelor şi factori de transcripţie, expresaţi în timpul răspunsului defensiv la patogeni. Evidenţierea genelor cu expresie diferenţiată în răspunsul florii-soarelui la mana a relevat parţial mecanismul molecular asociat cu rezistenţa.

Cuvinte-cheie: *Helianthus annuus* L. – *Plasmopara halstedii* – răspunsul defensiv – genele cu expresia diferenţiată – PCR cantitativ.

Depus la redacţie 24 septembrie, 2015.

Adresă pentru corespondenţă: Şestacova Tatiana, Universitatea Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 3/2, MD 2028 Chişinău, Republica Moldova; E-mail: tatiana.shestacova@gmail.com; tel. (+37322) 79610435.

Introduction

Plants, unlike animals, have no immune system cells specialized for providing the defense mechanisms, but they are attacked by many pathogens, such as bacteria, oomicete, fungi, viruses, and nematodes which cause large losses of yield. During the evolution plants have developed complex mechanisms for recognizing and responding to the infection caused by a large number of pathogens [7].

Downy mildew of sunflower induced by *Plasmopara halstedii* F. Berl et de Toni is a major disease in all regions of the world, where sunflower is cultivated [9]. This pathogen spreads throughout the soil, air and seeds. Significant losses occure in more than 50% of infected plants in fields, and leading to yield losses of up to 80% [8]. *P. halstedii* belongs to the class Oomycetes with numerous representatives: saprophytic organisms, pathogens of plant, insects, fish, nematodes, vertebrates, and various classes of microorganisms [4]. Phytopathogenic oomycetes infect a wide range of host plants, including crops, weeds, ornamental plants and trees [6].

In order to stop the spread of the disease are used systemic fungicides with long-term properties, such as metalaxyl or similar compounds [13]. But the most effective method to prevent desease is growing of resistant hybrids [5, 14, 15]. The emergence of new pathogenic races questioning the successful cultivation of resistant hybrids in some regions [3,5] and there is a need to search and combine new sources of resistance with existing [14, 15].

As an alternative for specific resistance sources in sunflower can be quantitative, non-specific resistance, which is not dependent on host-pathogen interaction. These ideas were developed by Vear et al in 2006 and widely studied for three years. A significant level of partial resistance was shown for sunflower lines that do not possess effective *Pl* genes for known pathotypes. This type of resistance and pathogen virulence occurs regardless of heredity that is under additive control [12]. Quantitative resistance on sunflower has been studied by Serre et al in 2008 under greenhouse conditions, which highlighted the importance of plant age and interaction with the environment during the host response [10]. Another research have demonstrated the possibility of

obtaining of sunflower hybrids with partial resistance to downy mildew but with a high content of oil [2]. Recently, Tourvieille of Laboruhe et al suggested the importance of identifying forms with non-specific resistance to downy mildew and to include them in agricultural practice [11].

In this research, expression of some genes and their functional role in sunflower-downy mildew interaction were studied.

Materials and methods

Plant and pathogen material. Five sunflower genotypes (Drofa Rf, Drofa CMS, Drofa F_1 hybrid and two isogenic lines 393A and B) were grown in field during summer of 2011. Biological samples were collected in field from normal and naturally downy mildew infected plants with different degree of infection: systemic, medium, infected and non-infected leaves of weakly infected plants, control; frozen in liquid nitrogen and stored at – 80ºC.

Total RNA isolation and cDNA synthesis. Total RNA was isolated using TRI Reagent (*Ambion*), 0,6 µg of total RNA was treated with DNase (*Promega*) and first-strand cDNA was synthesized with RevertAid Reverse Transcriptase and Random hexamer and Oligo-dT18 primers *(Fermentas*) according to the manufacturer's instructions.

Gene expression study by qPCR. The primers were designed through Primer3Web v. 3.0.0. software for the sequences of interest from NCBI Nucleotide and EST databases. Gene expression was estimated using RT qPCR using Maxima SYBR Green/ ROX qPCR Master Mix (*Fermentas*) and Real-Time cycler DT-96 (*DNA technology*, Russia).

Sequence and bioinformatics analysis. Sequences were analysed using BLASTX [1] performed for sequences of model organism *Arabidopsis thaliana*. On the base of function, processes and cellular component established in model plant, such categories were assigned for investigated sequences.

Results and discussion

Several genes, known as modulators and key-elements of plant defense responses to biotic and abiotic stress were studied.

Functional categories of genes responsive to P. halstedii infection. For the 22 sequences was performed homology analysis with BLASTx tool in GenBank on the model organism *Arabidopsis thaliana*. Query coverage within selected group of genes varied from 31 % (*defensin*) to 100 % (*GST*). Identity ranged from 47 % (*GST*) to 87 % (*AOXIA*, *CATA1* and *CATA2*). For eight ESTs included in study were established similarities with following genes in Arabidopsis: L-ascorbate peroxidase, L-ascorbate peroxidase 1, alternative oxidase 1A, peroxiredoxin-2F, glutathione synthetase, transcription factor *TGA2*, transcription factor *TGA6* and single-stranded DNA-binding protein *WHY3* (Table 1).

The major part of investigated genes consist of enzymes with antioxidant functions, such as superoxide dismutases, catalases, peroxidases etc., which ensure efficient response to oxidative stress induced in cell during defense.

For investigated genes were attributed different functions, such as diverse types of enzymatic activities, protein binding, DNA binding and some of genes were not

attributed molecular function (category – unknown molecular function). The largest functional categories were: SOD activity (18 %), catalase activity (18 %), DNA binding (14 %), L-ascorbate peroxidase activity (9 %) and unknown molecular function (9 %). Other categories were 4-5 % each (Figure 1A).

Table 1. The list of genes and ESTs included in analysis

Gene/EST	GenBank accession no.	Accession no. of matching sequence	Matching sequence from database	E-value	Query coverage	Identity
Mn-superoxide dismutase II	DQ812552.2	NP_187703.1	Superoxide dismutase [Mn]	1e-133	73%	79%
Mn-superoxide dismutase I	DQ812551.2	NP_187703.1	Superoxide dismutase [Mn]	5e-135	71%	81%
Cu/Zn superoxide dismutase; (sod2 gene)	AJ786258.1	NP_172360.1	superoxide dismutase [Cu-Zn]	5e-80	62%	81%
Cu/Zn superoxide dismutase precursor; (sod1 gene)	AJ786257.1	NP_565666.1	copper/zinc superoxide dismutase 2	8e-93	75%	80%
Catalase	L28740.1	NP_195235.1	catalase 2	0.0	84%	87%
Catalase 3 (CATA3)	AF243518.1	NP_195235.1	catalase 2	0.0	79%	77%
Catalase 2 (CATA2)	AF243517.1	NP_195235.1	catalase 2	0.0	84%	87%
Catalase 4 (CATA4)	AF243519.1	NP_195235.1	catalase 2	0.0	78%	78%
Glutathione peroxidase	Y14429.1	NP_192897.2	glutathione peroxidase 6	2e-84	74%	70%
Phenylalanine ammonia lyase	Y12461.1	NP_181241.1	phenylalanine ammonia-lyase 1	0.0	89%	85%
NPR1 (NPR1)	AY667500.1	NP_193701.2	NPR1-like protein 4	3e-21	98%	65%
Defensin	AF364865.1	NP_173391.2	defensin-like protein 19	4e-18	31%	55%
Pathogenesis-related protein 5-1 (PR5-1)	AF364864.1	NP_192902.1	osmotin-like protein OSM34	6e-105	77%	69%
Glutathione S-transferase (GST)	AY667502.1	NP_180510.1	glutathione S-transferase tau 1	2e-14	100%	47%
QHJ20E24.yg.ab1	BU032190.1	NP_195226.1	L-ascorbate peroxidase	5e-123	91%	80%
DH0AC027-ZF05FM1	CD849992.1	NP_172267.1	L-ascorbate peroxidase 1	3e-25	50%	84%
CCFT3158.b1_K21.ab1	GE502151.1	NP_188876.1	alternative oxidase 1A	2e-140	87%	87%
CCFU1199.b1_M11.ab1	GE515985	NP_566268.1	peroxiredoxin-2F	7e-95	82%	74%
DH0ANA3ZD01-FM1	CX946030.1	CAA58318.1	glutathione synthetase	6e-72	60%	72%
CCFU2042.b1_D07.ab1	GE516848.1	NP_196312.1	transcription factor TGA2	2e-98	82%	75%
CCFT8591.b1_N11.ab1	GE512673.1	NP_566415.3	transcription factor TGA6	2e-92	95%	74%
CCFS537.b1_B15.ab1	GE491965.1	NP_001077872.1	single-stranded DNA-binding protein WHY3	2e-104	71%	73%

*** Actin (reference gene) AF282624.1**

Investigated genes and ESTs showed in previous studies made on Arabidopsis implication in different processes, such as response to metal ions; response to biotic stress, defence response; response to abiotic stress, caused by different factors – salt, heat, cold, ozone, etc.; response to starvation of different elements; response to oxidative stress; toxin catabolic process; glutathione biosynthetic process; transcription regulation and SAR. The largest category – 28 % included sequences involved in responses to abiotic stresses induced in various conditions. 22 % were accounted for "response to oxidative stress". Another large categories were "response to metal ions", such as zinc, copper, iron and cadmium and "response to biotic stress, defense response" – 15 % each (Figure 1B).

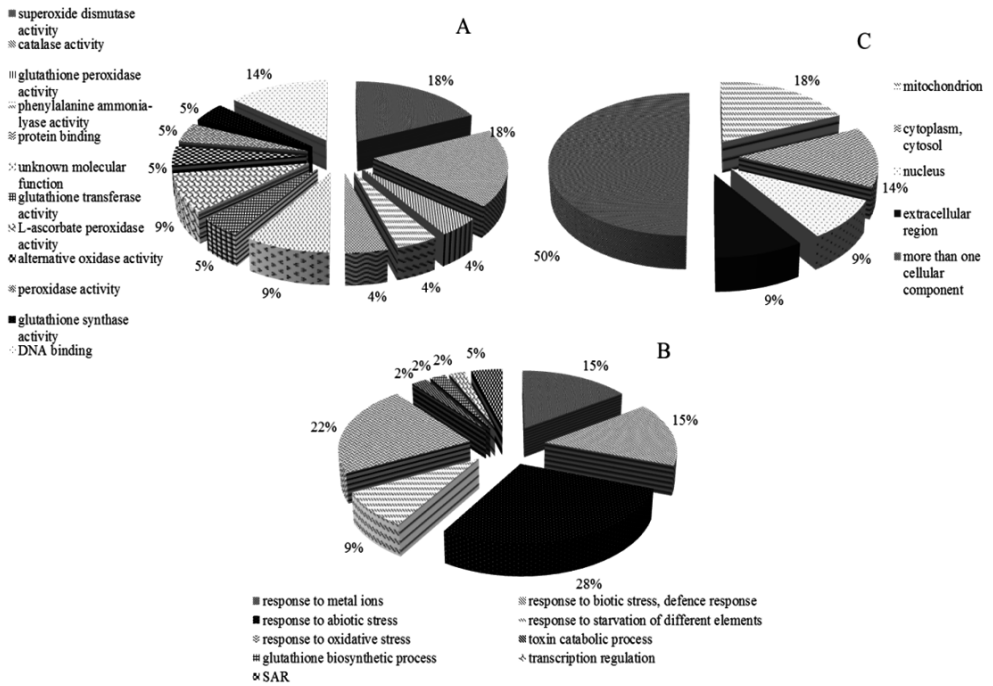


Figure 1. Functional categories (A), molecular process (B) and cell localization (C) of studied genes.

Investigations regarding cell localization of studied transcripts revealed that the major part (50 %) of these are localized in more than one cell compartment, 18 % in mitochondria, 14 % in cytosol or cytoplasm, 9 % in nucleus and 9 % in extracellular region (Figure 1C). In extracellular region were located transcripts than have defense functions against pathogen attacks – *PR5* and *defensin*.

Thus, using data from NCBI databases and available bioinformatics tools was performed a brief analysis regarding functions, processes and cell localization of sequences from gene set selected for expression analysis. It revealed that most of these sequences are implicated in metabolic pathways, especially in response to oxidative stress and have enzymatic activity function.

Gene expression studies during sunflower-downy mildew interaction. Gene expression studies performed for cDNA samples collected from systemic, medium and

weakly infected plants revealed differential expression of investigated genes in function of infection degree (Figure 2). There are genes which are up-regulated in weakly infected plants and non-infected tissues of these (*SOD* genes, *CATA1*, *GSS*, *Why1*, *defensin*, *APX1*) and in systemic and medium infected plants (*CuZnSOD II*, *CATA3*, *CATA4*, *GST*, *NPR1*, *TGA5*, *PAL*) or in all cases (*CuZnSOD I*, *PR5*). These genes are predominantly involved in superoxide metabolism, SAR and defense reponses.

The increase in expression of the gene encoding the transcription factor *Why1*, in the weakly infected plants suggested that the establishment SAR in infected and non-infected parts these plants is independent from *NPR1*.

Differential down-regulation was demonstrated for eight genes in systemic and medium infected plants (*MnSODs*, *CuZnSOD I*, *CATA1*, *CATA2*, *Why1*, *defensin* in isogenic lines, *APX1*), four genes in weakly infected plants *(PRXIIF*, *GPX*, *TGA5*, *PAL*) and two genes (*AOXIA* and *APX3*) suppressed in both cases, appeared to be predominantly involved in superoxide and peroxide metabolism.

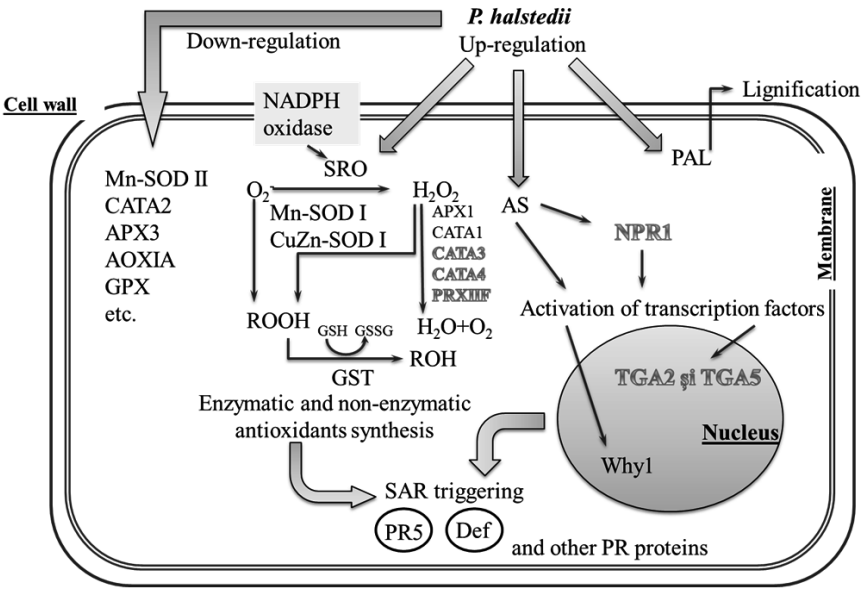


Figure 2. Hypothetic model which elucidates mechanisms associated with sunflower resistance to downy mildew.

Significant changes in the pattern of gene expression of antioxidant enzymes were detected: up-regulated expression of mitochondrial *Mn-SOD I*, chloroplastic *CuZn-SOD I, CATA1*, *GST*, *APX1* in weakly infected plants, and *CATA3, CATA4, PRXIIF* in systemically and medium infected or down-regulated expression of *Mn-SOD II, CATA2, APX3, GPX.* Such modifications ensure physiological process of efficient detoxification and scavenging of ROS, using minimal energy.

In conclusion, it could be mentioned that as a result of sunflower infection with downy mildew it is activated a series of general defense mechanisms, which differ significantly in terms of resistance potential of host plant (Figure 2). Elucidating the genetic aspects of resistance as well as the fundamental defense mechanisms will contribute significantly to facilitating the process of obtaining resistant hybrids.

Conclusions

Genes selected for analysis have functions such as diverse types of enzymatic activities, especially superoxide and peroxide dismutation; protein binding; DNA binding and other. Some of these genes are up-regulated during infection (*CuZnSOD II, PR5*), other were down-regulated (*AOXIA, APX3*). It was observed relationship between infection degree (weakly, medium and systemic infected plants) and expression profile of studied genes.

Expression and functional analysis of these genes helped us to understand some aspects of the molecular mechanism of resistant defense response in sunflower against *P. halstedii*.

References

1. Altschul S. F., Gish,W., Miller,W. et al. Basic local alignment search tool. //J. Mol. Biol., 1990, vol. 215, p. 403–410.

2. Baldini M., Danuso F., Turi M. et al. Main factors influencing downy mildew (*Plasmopara halstedii*) infection in high-oleic sunflower hybrids in Northern Italy. //Crop Protection, 2006, vol. 27, p. 590–599.

3. Diagnostics - Diagnostic: *Plasmopara halstedii.* //Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 2008, vol. 38, p. 343-348.

4. Grenville-Briggs L. J. and van West P. The Biotrophic Stages of Oomycete–Plant Interactions. //Adv. in Appl. Micr., 2005, vol. 57, p. 213-243.

5. Gulya T.J., Sackston W.E., Virányi F. et al. New races of the sunflower downy mildew pathogen (*Plasmopara halstedii*) in Europe and North and South America. //J. Phytopath., 1991, vol. 132, p. 303-311.

6. Koch E. and Slusarenko A. Arabidopsis is susceptible to infection by a downy mildew fungus. //Plant Cell, 1990, vol. 2, p. 437–445.

7. Liu J., Liu X., Dai L. et al. Recent progress in elucidating the structure,function and evolution of disease resistance genes in plants. //J. Genet. Genomics, 2007, vol. 34(9), p. 765-776.

8. Molinero-Ruiz M.L., Melero-Vara J.M., Dominguez J. Inheritance of resistance to two races of sunflower downy mildew (*Plasmopara halstedii*) in two *Helianthus annuus* L. lines. // Euphytica, 2003, vol. 131, p. 47-51.

9. Sackston W.E. Downy mildew of sunflower. //In: The downy mildews (Ed. by Spencer D.M.), Academic Press, London, UK, 1981, p. 545-575.

10. Serre F., Walser P., Roche S. et al. Research on a growth chamber test to measure quantitative resistance to sunflower downy mildew. //Velasco L. (ed.) Proceedings of the 17th International Sunflower Conference, Cordoba, Spain, 2008, vol. 1, p. 109-114.

11. Tourvieille L.D., Serre F., Walser P. et al. Quantitative resistance to downy mildew (*Plasmopara halstedii)* in sunflower (*Helianthus annuus*). //Euphytica, 2008, vol. 164, p. 433-444.

12. Vear F., Serre F., Roche S. et al. Recent research on downy mildew resistance useful for breeding industrial – use sunflowers. //HELIA, 2007, vol. 30, nr. 46, p. 45-54.

13. Virányi F. and Oros G. Developmental stage response to fungicides of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). //Mycol. Res., 1991, vol. 95, p. 199-205.

14. Viranyi F. and Spring O. Advances in sunflower downy mildew research. //Eur. J. Plant Pathol., 2011, vol. 129, p. 207-220.

15. Vrânceanu A. Floarea-soarelui hibridă. //Bucureşti: Ceres, 2000. 520 p.

ZOOLOGIA

STRUCTURA ŞI DIVERSITATEA COMUNITĂŢILOR DE ROZĂTOARE MICI ÎN TERENURILE NEPRELUCRATE DIN ZONA CENTRALĂ A REPUBLICII MOLDOVA

Sîtnic Veaceslav, Nistreanu Victoria, Larion Alina, Munteanu Andrei, Anatolie Savin, Postolachi Vlad, Chihai Nina

Institutul de Zoologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

Cercetările s-au efectuat în două tipuri de terenuri neprelucrate din zona centrală a republicii în anii 2012-2014. Au fost utilizate metode de capturare şi marcare pentru stabilirea structurii spaţiale a populaţiilor de rozătoare mici. S-a analizat structura şi diversitatea comunităţilor de mamifere mici pe un teren şi livadă neprelucrate pe parcursul perioadei de primăvară–toamnă. S-a stabilit, că în terenul neprelucrat are loc o creştere a densităţii din primăvară spre toamnă la speciile *Apodemus sylvaticus* şi *Apodemus uralensis*, ea fiind mai mare la *A.sylvaticus.* Ponderea sedentarilor descreşte în această perioadă, iar valoarea acestui parametru o depăşeşte pe cea a speciei *A.uralensis,* deoarece spre toamnă se intensifică activitatea indivizilor migranţi.

Cuvinte cheie: rozătoare mici, communităţi, abundenţă, densitate, similaritate

Depus la redacţie: 27 februarie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Sîtnic Veaceslav, Institutul de Zoologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei 1, MD-2028, Chişinău, Republica Moldova, e-mail: *sitnicv@gmail.com.* tel. +373 22 739786

Introducere

Structura comunităţilor şi diversitatea ecologică reprezintă manifestările fundamentale de interacţiune a speciilor. Diversitatea constituie o particularitate a ecosistemului, parametru principal al procesului evoluţiei, fiind, totodată, factorul, ce acţionează conform principiului conexiunii inverse. Importanţa studierii biodiversităţii constă în posibilitatea elucidării mecanismelor de formare a structurii comunităţilor şi ecosistemelor. Comunităţile de organisme sunt sisteme funcţionale diferenţiate conform nişelor ecologice, iar structura lor în contextul factorului spaţial-temporal şi diversitatea speciilor – manifestări intercorelate a speciilor în comunităţi. O mare importanţă pentru elucidarea legităţilor fundamentale şi aplicative ale ecologiei populaţionale a animalelor şi elaborarea teoriei oscilaţiei efectivului numeric are studiu comunităţilor mamiferelor mici. Oscilaţiile efectivului numeric şi alternanţa intensă a generaţiilor sunt condiţionate de tempourile înalte şi, relativ labile, de reproducere a rozătoarelor, durata scurtă a vieţii şi instabilitatea la diferiţi factori ai mediului [1-5,17,18]. Din această cauză în comunităţile mamiferelor mici mai pregnant sunt exprimate mecanismele homeostazei populaţionale, se desfăşoară mai intens procesele microevoluţiei [6-14]. Cunoaşterea legităţilor oscilaţiei efectivului populaţiilor constituie fundamentul pronosticului variaţiei efectivului numeric al speciilor studiate; pronostic necesar pentru elaborarea măsurilor de combatere a focarelor de maladii infecţioase, a dăunătorilor din agricultură şi silvicultură etc. Oscilaţia efectivului populaţiei este determinată de un complex de

adaptări a lor la mediul ambiant, dar şi de o influenţă multilaterală a factorilor climatici, de nutriţie, precum şi de maladii şi prădători.

O mare atenţie s-a acordat rolului şi caracterului de manifestare a adaptărilor de autoreglare a populaţiilor, acţiunea cărora depinde mult de densitatea populaţiei şi de gradul ei de corespundere resurselor biotopului. Condiţiile mediului extern deseori influenţează asupra indivizilor prin intermediul adaptărilor populaţionale şi a mecanismelor care le determină.

Structura comunităţilor mamiferelor mici reprezintă o formă deosebită a adaptării ecologice. Menţionăm o corelaţie organică, multilaterală şi complexă a acestei particularităţi a populaţiei cu totalitatea de factori, ce rezidă din tipurile biotopurilor şi trăsăturile biologice ale speciei.

Pierderea continuă a biodiversităţii a fost unanim recunoscută ca fiind cea mai stringentă problemă de mediu, cu care se confruntă la ora actuală societatea. Bogăţia fondului natural şi a habitatelor reprezintă un element de mare valoare pentru calitatea vieţii noastre. Modificările comunităţilor naturale în urma valorificării landşaftului au contribuit esenţial la apariţia mozaicităţii mediului ambiant. Cercetarea diversităţii şi structurii comunităţilor de mamifere mici permite elucidarea rolului habitatelor menţionate în menţinerea acestei diversităţii.

Materiale şi metode

Cercetările ştiinţifice au fost efectuate în zona centrală a republicii, la staţionarul "Horăşti-Rezeni", selectându-se terenurile-probe în biotopurile cu diferit grad de eterogenitate şi activitate antropică: terenul de marcare cu o suprafaţă de 1,5 ha situat pe un câmp neprelucrat pe parcursul anilor 2012–2013 şi unul de 1 ha dintr-o livadă neprelucrată. Capturarea, marcarea şi eliberarea indivizilor s-a efectuat în perioadele de primăvară, vară şi toamnă, câte 4 zile consecutive. Determinarea componenţei specifice şi abundenţei speciilor a fost efectuată prin metodele de apreciere relativă a efectivului numeric (capcane-nopţi, numărări pe traseu, pe parcelele de probă, după amprente şi activitatea trofică etc.) [15,16]. Evaluarea numerică absolută a fost efectuată prin utilizarea capcanelor (patru linii a câte 25 capcane fiecare cu intervalul de 20 m) pe sectoare de probă cu suprafaţa de 1 ha pe un termen neîntrerupt de 5 zile şi cu ajutorul capcanelor de prins pe viu, instalate nemijlocit la colonii. La animalele capturate au fost înregistraţi următorii parametri: specia, sexul, vârsta, starea fiziologică şi de reproducere. Au fost instalate 8400 capcane şi capturaţi 987 indivizi de mamifere mici. Au fost marcaţi cca 317 de indivizi pe plasele de marcare.

Pentru caracteristica comparativă a ecosistemelor a fost utilizat indicele de similaritate (Qs), calculat conform coeficientului lui Sorensen $Qs = 2c/(A+B)$, unde A şi B – numărul de specii întâlnite în fiecare din cenozele, care se compară şi c – numărul de specii comune pentru ambele cenoze. Analiza statistică şi multifactorială, interpretarea grafică a rezultatelor a fost efectuată, utilizând pachetul de programe Statistica Workbook, Microsoft Excel, Word.

Rezultate şi discuţii

Existenţa şi funcţionarea ecosistemelor sunt determinate, într-o mare măsură, de diversitatea specifică şi structurală a comunităţilor de vertebrate terestre. Mamiferele mici formează cele mai numeroase comunităţi de vertebrate terestre. Studierea

particularităţilor comunităţilor şi clasificarea lor reprezintă o problemă teoretică, dar şi practică, ce corelează cu procesul de evoluţie a speciilor. Grupările ecologo-faunistice de mamifere mici, fiind componente ale biodiversităţii, pot fi considerate comunităţi ale speciilor filogenetic apropiate, ce aparţin nivelurilor trofice mixte.

În luna martie a anului 2012 a fost efectuată marcarea cu recapturarea ulterioară a indivizilor pe terenul de marcare situat pe un teren neprelucrat. Densitatea mişinilor constituia în mediu 20-25 la hectar. A fost stabilit că pe terenul de 1,5 ha abundenţa acestei specii constituie 12,5% din numărul total de indivizi marcaţi, ea fiind depăşită de speciile genului *Apodemus*: *A.uralensis* cu 37,5% şi *A.sylvaticus* – 50%. Indivizii marcaţi au supravieţuit condiţiilor austere de iarnă, alcătuind grupul iernaticilor. În ceea ce priveşte structura de sex, masculii predomină cu 66,6% la *A.uralensis*, iar la *A.sylvaticus* raportul de sex este de 1:1. Ponderea indivizilor recapturaţi este de 12,5%. În luna aprilie ponderea indivizilor recapturaţi din luna precedentă a fost de 11,1%. Ca şi în luna martie specia dominantă este *A.sylvaticus* (66,6%), urmată de *A.uralensis* (22,3%) şi *M.specilegus* (11,1%). Ponderea masculilor *A.uralensis* este maximală (97,5%), la *A.sylvaticus* –83,3% şi 99,2% – la *M. specilegus*. În a doua jumătate a lunii mai plasele de marcare au fost instalate sub formă de reţea. Se conturează două grupări alcătuite – una – din femele subadulte *A.uralensis*, situate la distanţa de 20 m una de alta şi cea de-a doua – din masculi adulţi *A.sylvaticus*, din care unul a fost marcat în luna aprilie. Ponderea indivizilor marcaţi şi recapturaţi din luna precedentă a constituit 28,6%. Indivizii *M. arvalis* reprezintă 9,1% din numărul total de indivizi capturaţi. În luna iulie au fost continuate cercetările pe terenul de marcare de 1,5 ha. Au fost capturaţi 12 indivizi, din care 33,3% – recapturaţi din perioada precedentă. De asemenea, predomină speciile genului *Apodemus*: *A.sylvaticus* şi *A.uralensis* – cu cîte 33,3% şi 25%. *Cricetulus migratorius* are o abundenţă de 8 %. La *A.flavicollis* predomină femelele, iar la *A.sylvaticus* –masculii. Ponderea femelelor la *A.uralensis* este 75%.

O explozie demografică s-a produs peste două luni – în luna septembrie – pe terenul de 1,5 ha cu pîrloagă. Densitatea rozătoarelor a crescut de 12,5 ori, de asemenea din contul speciilor genului *Apodemus*. Ea a constituit mai mult de 80 indivizi la hectar, din care *A.sylvaticus* – 64 ind/ha, *A.uralensis* – 12 ind/ha, *M. arvalis* – 2 ind/ha, *M.spicilegus* – 5,3 ind/ha şi *A.flavicollis* – 1 ind/ha. Acest fenomen se explică prin immigrarea de pe cîmpurile învecinate de culturi agricole – porumb şi grîu de toamnă, ca factori externi şi prin potenţialul reproductiv sporit al indivizilor – ca factor intern. Menţionăm că chiar şi în condiţiile aridităţii potenţialul reproductiv se manifestă destul de intens. Pe terenul de marcare speciile *A.sylvaticus* şi *A.uralensis* au o abundenţă respectiv de 72,8% şi 17,7%. *M.spicilegus* constituie 7,4% din numărul indivizilor capturaţi, *M.arvalis* – 1,3%, iar *A.flavicollis* – 0,8%. La specia *A.sylvaticus,* cu cea mai mare abundenţă, raportul masculi:femele este de 49,5%:50,5%. Domină indivizii subadulţi şi juvenili –84,4% la masculi şi 84,7% – femele. Aria grupărilor variază în limitele 300 – 1500 m^2. Migranţii constituie 13,2% din efectivul populaţiei *A.sylvaticus*. *A.uralensis* formează 3 grupări populaţionale, în care domină femelele cu 63,6%. Aria lor variază de la 350 m^2 la 1200 m^2. Ponderea juvenililor este de 86,3%. La *M.spicilegus* indivizii au fost capturaţi în imediata apropiere a mişunilor în construcţie. Ponderea masculilor este de 66,6%, aceeaşi pondere reprezentînd juvenilii. Din cauza lipsei vegetaţiei suculente

este foarte mică densitatea speciei *M.arvalis*. Chiar şi în aşa condiţii, indivizii acestei specii continuă să se reproducă.

Tabelul 1. Abundența speciilor de mamifere mici (%) pe terenul și livada neprelucrate.

Specia Luna	A.sylvaticus	A.uralensis	A.flavicolis	A.agrarius	Mus spicilegus	Microtus arvalis	Cricetulus migratorius
Terenul neprelucrat, anul 2012							
Aprilie	66,6	22,3			11,1		
Mai	45,4	18,2	9,1		18,2	9,1	
Iulie	33,3	25,0	12,6	2,7	18,4		8,0
Septembrie	72,8	17,7	0,8		7,4	1,3	
Octombrie	66,1	25,8			8,1		
Terenul neprelucrat, anul 2013, continuare							
Aprilie	100,0						
Iunie	42,9	14,3			28,5	14,3	
Octombrie	61,3	10,2	1,7		1,1	32,4	2,3
Livada neprelucrată, anul 2014							
Mai	14,1	8,6	20,1	4,0	2,6	50,6	
Iunie	14,4	3,2	21,6			54,8	
Octombrie		28,6	50,0			21,4	

În luna octombrie densitatea rozătoarelor pe terenul de marcare se menţine, de asemenea înaltă, dar au fost înregistrate numai 3 specii: *A.sylvaticus, A.uralensis* şi *M.spicilegus* respectiv cu următoarele densităţi: 27 ind/ha, 10,7 ind/ha, 3,3 ind/ha şi abundenţă 66,1%, 25,8%, 8,1%. Ponderea rozătoarelor marcate în perioada precedentă este de 48,4%. Indivizii noi marcaţi ai speciei *A.sylvaticus* reprezintă 65,6% din totalul de indivizi marcaţi, *A.uralensis* 21,9% şi *M.spicilegus* -12,5%. Deci, comparativ cu numărul total de indivizi se observă o scădere nesemnificativă a abundenţei pentru *A.sylvaticus,* mai pronunţată pentru *A.uralensis* şi o creştere pentru *M.spicilegus*. La specia *A.sylvaticus* raportul masculi:femele de 3:1. Masculii subadulţi reprezintă 77,4%, iar femelele subadulte – 100%, în general subadulţii în populaţie – 83%. Aria acestor grupări este de 450– 1500 m^2, deci este aproximativ aceeaşi ca şi a grupărilor din luna septembrie. Indivizii *A.uralensis* sunt distribuiţi mai dispersat decît indivizii *A.sylvaticus.* Ei formează, de asemenea patru grupări populaţionale cu un raport masculi:femele de 1:2. Spre deosebire de specia precedentă, la *A.uralensis* predomină femelele. Ponderea indivizilor subadulţi este de 75%. Aria grupărilor populaţionale este de 150 –700 m^2. La specia *M.spicilegus* predomină masculii juvenili (80%).

În luna aprilie a anului 2013 au fost continuate cercetările din anul precedent pe sectorul de marcare cu aria de 1,5 ha, situat pe acelaș teren neprelucrat ca și în anul precedent. În această perioadă pe teren predomină resturile de vegetaţie uscată din anul trecut. Plantele ruderale de abea încep procesul de vegetaţie. Pe teren cresc, de asemenea, arbuşti de măcieş. Indivizi marcaţi în anul trecut n-au fost recapturaţi. Abundenţa speciei *Apodemus sylvaticus* este 100%, subadulţii reprezintă 50%, iar

femelele – 66,7%. Densitatea acestei specii constituie 4 indivizi la hectar. Indivizii sunt distribuiţi dispersat pe sector. În aceasta perioadă în agrocenoză se semnalează o densitate foarte joasă a populaţiilor de micromamalii (0,6–2 % de captivitate la 100 de capcane pocnitoare). La începutul verii covorul vegetal pe terenul de marcare, ca urmare a sporirii cantităţii de precipitaţii, s-a dezvoltat intens, fiind alcătuit din lucernă, golomăţ, pelin, mac. Procentul de recapturare din luna aprilie a constituit 33,3%. În această perioadă am semnalat o creştere a diversităţii specifice a comunităţii de micromamalii. Pe lângă specia *A.sylvaticus* cu o densitate de 2 indivizi la hectar, au mai fost capturate şi speciile *A.uralensis* (0,7 ind/ha), *Mus spicilegus* 1,33 ind/ha, *Microtus arvalis* (0,7 ind/ha). S-a înregistrat o descreştere a abundenţei speciei de fon A.sylvaticus. La această specie ponderea juvenililor reprezintă 33,3%, iar a femelelor – 66,7%.

Toamna densitatea rozătoarelor pe terenul de marcare a crescut de 16 ori comparativ cu perioada precedentă de studiu. A crescut diversitatea rozătoarelor, fiind înregistrate 6 specii: *A.sylvaticus, A.uralensis, A.flavicollis, M.arvalis, Cricetulus migratorius* şi *M.spicilegus* respectiv cu următoarele densităţi: 61,3 ind/ha, 12 ind/ha, 2 ind/ha, 38 ind/ha, 2,7 ind/ha şi 1,3 ind/ha şi abundenţa de 52,27%, 10,22%, 1,7%, 32,39%, 2,27% şi 1,13% . Ponderea rozătoarelor marcate în perioada precedentă şi recapturată în această perioadă este de 0,6%. Indivizii *A.sylvaticus* constituie două grupări populaţionale cu un raport masculi:femele de 54,3%:45,7%. Aceste grupări sunt separate de o mirişte de porumb. Masculii subadulţi reprezintă 62%, iar femelele subadulte – 64,2%, în general subadulţii în populaţie – 63%. Aria grupărilor este de 6000 m^2, crescând de cca 7 ori comparativ cu primăvara. Ponderea indivizilor recapturaţi în această perioadă este de 15,2%. Indivizii *A.uralensis* sunt distribuiţi mai dispersat decît indivizii *A.sylvaticus.* Ei formează 4 grupări populaţionale cu un raport masculi:femele de 2:1. Ponderea indivizilor subadulţi este de 94,4%. Aria grupărilor populaţionale este de 150 –700 m^2. Cu toate că pe teren este puţină vegetaţie suculentă, femelele speciei *M.arvalis* se reproduc (20% din femelele adulte). Raportul masculi:femele este de 52,6%:47,4%. Subadulţii reprezintă jumătate din efectivul populaţiei (masculii subadulţi –53,3%, iar femelele – 44,4%). Ponderea indivizilor recapturaţi în această perioadă este de 14%. La *M.spicilegus* predomină masculii juvenili (100%). În pîrloagă am înregistrat o densitate de 9 mişuni la hectar. Pe cîmpurile cu lucernă densitatea *M.arvalis* a crescut pînă la 80-120 indivizi la hectar. La specia *Cricetulus migratorius* predomină femelele juvenile (75%), iar la *A.flavicollis* ponderea masculilor adulţi este 74 %.

Terenul neprelucrat este populat, în primul rând, de *Apodemus sylvaticus*, formând iniţial o populaţie nestructurată, alcătuită, cu preponderenţă, din masculi migranţi. O anumită structurare cu formarea grupărilor reproductive a fost semnalată la această specie la începutul verii. În această perioadă ele sunt alcătuite din mascul şi femelă, mai rar mascul şi câteva femele.

În anul următor, 2014, cercetările au fost continuate într-o livadă de meri neprelucrată. Învelişul ierbos în această staţiune este foarte dezvoltat, predominând plante graminee din flora spontană etc. Livada se mărgineşte din partea de sud-vest cu o pajişte.

Pe terenul de marcare cu o arie de 1 ha specia dominantă este *M.arvalis* (50,6%). Indivizii acestei specii sunt dispersaţi pe toată suprafaţa. 80,8% din indivizi sunt femele reproducătoare, iar 22,8% din ele aparţin generaţiei de primăvară, fapt ce denotă un

potenţial colosal de reproducere. Recapturările alcătuiesc 20,5%. Migranţii constituie 79,5%. Indivizii speciei *Apodemus flavicollis* cu o pondere de 20,1% formează 4 grupări intrapopulaţionale. Diferenţa semnificativă a ariei sectoarelor individuale ale masculilor adulţi, care au iernat (169,4±49,5 m^2) şi a celor din generaţia de primăvară (97±10,4 m^2) este 2,5. Pentru femelele, aparţinând acestor generaţii, n-a fost stabilită o diferenţă semnificativă a ariei sectoarelor individuale (t=1,5). Grupările reproductive ale acestei specii sunt structurate. 41,9% din numărul total de indivizi constituie femelele. Au fost recapturaţi 54,8% din indivizi. Ponderea migranţilor este de 45,2%, din care 58,1% – masculi. 3 grupări intrapopulaţionale au fost înregistrate la specia *Apodemus sylvaticus.* Populaţia acestei specii este formată din grupări nestructurate, iar sectoarele individuale sunt puţin evidenţiate. Ponderea femelelor este de 47,6%, ceea ce demonstrează, un potenţial mai redus decât la *M.arvalis.* Indivizii *A.uralensis* au fost capturaţi în partea superioară a terenului, fiind încadraţi în pajişte.

Mus spicilegus are o pondere nesemnificativă din efectivul comunităţii de micromamalii (2,6%). La specia *A.agrarius*, cu o pondere de 4% femelele reprezintă numai 16,7%. Indivizii formează 2 grupări. În luna iunie abundenţa speciei *M.arvalis* a crescut cu 4,2% comparativ cu luna mai. 75,9% sunt femele reproducătoare, iar 42,1% din indivizi aparţin generaţiei de vară. Indivizii juvenili alcătuiesc 29,8%, iar recapturările – 43%. Migranţii constituie 57%, cu 22,5% mai puţin decât în luna precedentă de studiu. Fertilitatea femelelor, capturate în capcanele pocnitoare este 5,1. Ponderea indivizilor *Apodemus flavicollis* a crescut cu 1,5% faţă de luna precedentă. Ei formează 5 grupări intrapopulaţionale. Are loc o reducere semnificativă a ariei sectoarelor individuale ale masculilor adulţi, activitatea lor micşorându-se substanţial (t = 2,07). 33,4% din numărul total de indivizi constituie femelele, iar juvenilii – 44,4%. Au fost recapturaţi 68,9% din indivizi. Ponderea migranţilor este de 31,1%. *Apodemus sylvaticus* formează 4 grupări intrapopulaţionale. Ponderea femelelor acestei specii este de 68,4% cu 20,8% mai mult decât în luna mai. *M.spicilegus* manifestă o activitate neînsemnată pe sectorul de marcare, femelele constituind 25%.

În perioada de toamnă s-a stabilit o descreştere a abundenţei speciei *M.arvalis* în terenul de marcare (21,4%). Populaţia acestei specii este alcătuită integral din indivizii tineri. Dominantă este specia A.flavicollis (50%). Abundenţa ei a crescut de cca 2,3 ori comparativ cu perioada precedentă de studiu. Este o populaţie viabilă, ponderea femelelor constituind 71,4%. Acelaşi lucru se poate afirma şi despre populaţia *A.uralensis*, cu o creştere a abundenţei de 3,7 ori şi o pondere covârşitoare a indivizilor tineri (95%). Ponderea indivizilor marcaţi şi recapturaţi din perioada precedentă constituie 28,6%.

În livada neprelucrată grupări reproductive apar la finele primăverii. Grupările la *A.sylvaticus* sunt mai numeroase decât la *A.uralensis*. *A.uralensis* colonizează primăvara pârloaga, formând iniţial în luna mai o populaţie bine structurată cu grupări reproductive, în care domină femelele (65%). Toamna, grupările în livada neprelucrată sunt mai numeroase (5,2–8,3 indivizi). În această staţiune la *A.uralensis* pe întreaga perioadă de cercetare, predomină masculii (57- 60%), demonstrând importanţa, într-o măsură mai mare, a acestui biotop ca refugiu, mai des pentru masculii migranţi. Toamna, în perioada de densitate maximă, în pârloagă numărul de grupări este mare (5), aria grupărilor fiind minimală (560±78 m2). Numărul de indivizi în grupări creşte în luna octombrie, fiind de 5,6±1,9.

În faza de depresie reproducerea la *A.uralensis* este mai intensă la sfârşitul verii şi continuă până în octombrie, când în grupări ponderea subadulţilor este de 94,4%. La *A.sylvaticus* pe parcursul acestei faze procesul de reproducere este mai puţin intens, iar în grupări în perioada de toamnă ponderea indivizilor tineri este mai mică (63%).

Indivizii din anul cu densitate maximală sunt recapturaţi foarte rar pe terenul de marcare în anul următor (0,5%). Recapturarea are loc până la sfârşitul lunii iunie. Procesul de înnoire lunară a grupărilor speciei *A.sylvaticus* este mai mare de 60%, iar la *A.uralensis*–75%, cauzat de deplasările indivizilor, dar şi de reproducere şi mortalitate. În pârloagă formarea grupărilor populaţionale are loc mai devreme comparativ cu agrocenozele, mai ales la *A.sylvaticus* dispersia indivizilor şi efectivul grupărilor este mai mare. Prin aceasta creşte eterogenitatea populaţiei.

Unul din factorii, care determină densitatea indivizilor este ponderea sedentarilor (Fig.1). S-a stabilit, că în terenul neprelucrat are loc o creştere a densităţii din primăvară spre toamnă la ambele specii, ea fiind mai mare la *A.sylvaticus.* Ponderea sedentarilor descreşte în această perioadă, iar valoarea acestui parametru o depăşeşte pe cea a speciei *A.uralensis,* din cauza că spre toamnă se intensifică activitatea indivizilor migranţi.

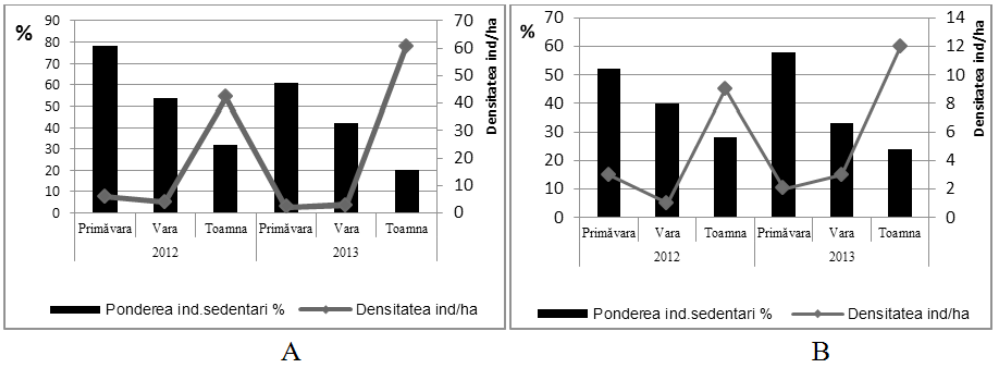


Figura 1. Oscilaţia densităţii indivizilor şi ponderea sedentarilor în populaţia *A.sylvaticus* (A) şi *A.uralensis* (B).

Pentru caracteristica comparativă a staţiunilor studiate a fost utilizat indicele de similaritate, care are valoare de 0,92, ceea ce denotă ca majoritatea speciilor semnalate sunt comune pentru ambele staţiuni. Condiţiile din pârloagă stimulează activitatea spaţială a indivizilor *A.sylvaticus*. La ambele specii din genul *Apodemus* atât la masculi, cât şi la femele, în pârloagă aria sectoarelor individuale este mai mare comparativ cu livada neprelucrată. Însă masculii *A.uralensis* sunt mai activi în pârloagă. În anii cu o secetă severă schema generală de distribuţie a indivizilor *M.arvalis* se schimbă esenţial, influenţând structura spaţială [5]. Evident, pe parcursul a câtorva ani secetoşi se va păstra numai o reţea a celor mai rezistente colonii din biotopurile mai umede şi anume în ecosistemele arboricole-arbusticole în apropierea bazinelor de apă. Sistemul de colonii elementare în acest caz pot fi analizate ca un bufer, când condiţiile climatice devin nefavorabile [3]. Tipul pulsativ al structurii spaţiale este caracteristic pentru biotopurile cu un grad sporit al influenţei antropice. El se caracterizează prin transformarea tipului mozaical de colonizare în cel difuz cu conservarea reţelei coloniilor elementare permanente.

Concluzii

În terenul neprelucrat dominante sunt speciile genului *Apodemus.* Abundența speciei *A.sylvaticus* variază pe parcursul anului 2012 de la 33,3 % la 66,6 %, iar la *A.uralensis* – de la 17,7 % la 25 %. În anul următor s-a înregistrat o creștere substanțială a abundenței *A.sylvaticus*: 100% – în luna aprilie și 61,3 % – în octombrie. În livada neprelucrată dominante sunt speciile *A.flavicolis* (50%) şi *Microtus arvalis* (50,6%).

S-a stabilit, că în terenul neprelucrat are loc o creştere a densităţii din primăvară spre toamnă la ambele specii, ea fiind mai mare la *A.sylvaticus.* Ponderea sedentarilor descreşte în această perioadă, iar valoarea acestui parametru o depăşeşte pe cea a speciei *A.uralensis*. Aceasta se explică prin faptul, că spre toamnă se intensifică activitatea indivizilor migranţi.

Lucrarea a fost realizată în cadrul proiectului de cercetări fundamentale 15.187.0211F.

Bibliografie

1. Inchausti P., Carslake D., Attie C., and Bretagnolle V. Is there direct and delayed density dependent variation in population structure in a temperate European cyclic vole population? // Oikos, 2009,118 (8):1201-1211.

2. Jacob J. and Tkadlec E. Rodent outbreaks in Europe: dynamics and damage. // Rodent outbreaks - Ecology and impacts, edited by G. R. Singleton, S. Belmain, P. R. Brown, and B. Hardy, Los Baños, Philippines:International Rice Research Institute, 2010: 207-223.

3. Lisicka L., Losik J., Zejda J., Heroldova M., Nesvadbova J., and Tkadlec E.. Measurement error in a burrow index to monitor relative population size in the common vole. Folia Zoologica, 2007, 56 (2):169-176.

4. Mazurkiewicz M. Spatial organization of the population. //Ecology of the bank vole. Acta theriol.-1983.-Vol. 28, No. l.: 117-127.

5. Muntyanu A., Sîtnic V. Spatial structure of population M. rossiaemeridionalis in ist phases of dinamicus numbers. //Polishe Ecologie. Poland, 1994, 30, N 3-4:257-263.

6. Olsauskas A. Influence of recreation on plants cover in Western Lithuania, Monograph. - Klaipeda: Klaipeda univ., Europ. union for coastal conservation, 1996. :210p.

7. Ostfeld R. S. Limiting resources and territoriality in Microtina rodents. //Am. Nat., 1985. Vol. 126.: 1-15.

8. Păltineanu Cr., Mihăilescu I.F., Seceleanu I., Dragotă Carmen, Vasenciuc Felicia. Using aridity indexes to describe some climate andsoil features in Eastern Europe: a Romanian case study. //Theoretical and appliedclimatology, Springer Velag.- 2007.-Vienna, Volume 90, no. 3-4.: 263-274.

9. Petrusewicz K. Numbers and the number of discrete individuals, turnover //Ecology of the bank vole. Acta theriol. 1983. Vol. 28, No. 1.: 89-94.

10. Wynne-Edwards V. C. Animal dispersion in relation to social behavior. //Edinburgh. L.: Oliver and Boyd, 1962.

11. Zorenko T., Leonteva T. Species diversity and distribution of mammals in Riga. //Acta Zoologica Lituanica, 2003, 13(1): 78–86.

12. Богомолов П.Л., Тихонов И.А., Тихонова Г.Н., Ковальская Ю.М., Суров А.В., Опарин М.Л. Особенности распространения видов-двойников *Microtus arvalis* и *M. rossiaemeridionalis* в степной и полупустынной зонах России. //Биоресурсы и биоразнообразие экосистем Поволжья: прошлое, настоящее, будущее: Материалы межд. совещ. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2005:144 – 146.

13. Джиллер П. Структура сообществ и экологическая ниша. М.: Мир, 1988. 184 с. 3.

14. *Картавцева И.В., Тиунов М.П., Лапин А.С.* 2011. Новый вид серой полёвки для территории Дальнего Востока России. //Материалы межд. совещ.«Териофауна России и сопредельных территорий», 1-4 февр. 2011, М.: 201.

15. *Наумов Н.П.* Мечение млекопитающих и изучение их внутривидовых связей. // Зоол. журн., 1956, 35(1):3-15.

16. *Никитина Н.А.* О размерах индивидуальных участков грызунов фауны СССР. // Зоол. журн., 1972, 51(1): 119-126.

17. Уиттекер Р.Х. Сообщества и экосистемы. М.: Прогресс, 1980. 327 с.

18. Шенброт Г.И. Экологические ниши, межвидовая конкуренция и структура сообществ наземных позвоночных. //Итоги науки и техники. Зоология позвоночных. 1986.Т.14. С.5-70.

CONŢINUTUL METALELOR GRELE ÎN MIERE ŞI PROPOLIS

Gliga Olesea, Cebotari Valentina, Buzu Ion, Chihai Nina

Institutul de Zoologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

Scopul acestei lucrări a fost determinarea reziduurilor de metale grele precum sunt Pb, Cd şi Cu în miere şi propolis, în diferite zone ale republicii Moldova, cu diferit impact antropic. Pentru aceasta, au fost selectate 4 zone de cercetare (zona forestieră, zona agricolă, zona transport auto şi zona industrială) unde au fost amplasate câte 12 familii de albine. În perioada 2012-2013 în luna mai şi iunie, de la fiecare familie au fost colectate câte 10g de produs apicol cercetat. Analiza cantitativă a metalelor grele studiate în produsele apicole a fost efectuată folosind metoda Spectrometriei de Absorbţie Atomică cu atomizare termică (GFASS). A fost constatat, că conţinutul MG în miere şi propolis depinde de specificul zonei amplasării stupinei. Rezultatele cercetărilor au depistat, prezenţa MG cercetate în toate probele de miere analizate, cu excepţia de *Cd*, care nu a avut valori detectabile. Cel mai mare conţinut de *Pb* şi *Cu* în miere a fost înregistrat în zona industrială (0,162 ± 0,021 şi 0,481 ± 0,055 mg/kg), iar cel mai mic conţinut - în zona forestieră (0,017 ± 0,002 şi 0,031 ± 0,003 mg/kg). A fost constatată prezenţa MG şi în probele de propolis cercetate. Cel mai mare conţinut de Pb şi *Cd* în propolis a fost înregistrat în zona industrială (9,23 ± 1,08 şi 0,402 ± 0,055 mg/kg), iar cel mai mic conţinut în zona forestieră (2,28 ± 0,44 şi 0,038 ± 0,002 mg/kg). Cel mai mare conţinut de *Cu* în propolis a fost înregistrat în zona transport auto (6,74 ± 0,33 mg/kg), iar cel mai mic în zona forestieră (3,24 ± 0,26mg/kg). Concentraţiile de MG în mierea şi propolisul din Republica Moldova nu depăşesc LMA stabilite de normele europene şi internaţionale. Prin urmare, putem concluziona că produsele apicole cercetate precum şi zonele din care au fost culese nectarul şi propolisul nu sunt poluate cu metale grele.

Cuvinte cheie: miere, propolis, metale grele, plumb, cadmiu, cupru.

Depus la redacţie 01 septembrie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Gliga Olesea, Institutul de Zoologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei 1, MD 2028 Chisinau, Republica Moldova;
e-mail camiprim@inbox.ru; tel. +373 22 73 98 09

Introducere

Creşterea excesivă a emisiilor în atmosferă de la transport, întreprinderile industriale, agricultură etc., influenţează negativ mediul ambiant. Principalele surse de poluare a componentelor de mediu în Republica Moldova sunt emisiile provenite de la mijloacele

de transport, industrie şi poluarea transfrontalieră [12, 19]. Un prim rezultat al acestor activităţi antropice este creşterea conţinutului acestor poluanţi în sol, apă, plante şi alte componente ale mediului ambiant. Totodată, fiind evacuaţi în mediu, poluanţii nu rămân doar în zona de evacuare a lor ci, odată cu masele de aer pot fi transportaţi la distanţe mari. Metalele grele (MG) precum sunt: *Cd*, *Pb*, *Hg*, *Co*, *Cr*, *Cu*, *Ni* şi *Zn* cu impact negativ asupra mediului, sunt emise în atmosferă sub formă de praf, iar la temperaturi ridicate sub formă de gaze ca rezultat al arderii combustibililor şi de la diferite procese industriale [10]. Poluarea cu metale grele a sistemelor ecologice reprezintă o problemă de importanţă majoră, deoarece, odată pătrunse în lanţul trofic acestea se concentrează la baza fiecărui nivel trofic datorită mobilităţii slabe. Poluanţii de tip metale grele sunt deosebit de periculoşi prin persistenţa de lungă durată în sol, precum şi datorită preluării lor de către plante şi animale. Prezenţa concentraţiilor ridicate a metalelor toxice în sistemele ecologice, în special în cele agricole, poate cauza implicaţii serioase asupra sănătăţii animale şi umane. De asemenea, poate fi afectată şi situaţia economică, prin scăderea productivităţii biologice şi prin modificarea relaţiilor comerciale, atât pe plan intern cât şi extern.

În acest sens, o legătură cu cele menţionate mai sus îl are şi *Apis mellifera* (albina meliferă) cu o importanţă enormă, atât pentru menţinerea echilibrului ecosistemelor naturale şi antropizate, cât şi pentru rolul său economic şi social exprimat prin beneficiile rezultate din polenizarea dirijată a culturilor agricole şi valorificarea produselor apicole (polen, miere, propolis, ceara) oferite.

Aproape, toate componentele de mediu (solul, apa, aerul, vegetaţia) sunt vizitate de albina meliferă, ca rezultat o gamă vastă de produse (polen, nectar, propolis, apă) sunt aduse în stup şi, odată cu ele, şi poluanţii. Aceşti poluanţi se acumulează în corpul albinei (datorită activităţii vitale) şi în produsele ei (miere, polen, propolis) [14].

Materiale şi metode

Cercetările au fost efectuate în 4 zone din centrul ţării cu diferit impact antropogen: zona forestieră, zona agricolă , zona transport auto şi zona industrială. În calitate de zonă martor a fost luată zona forestieră**,** unde este situată stupina experimentală a Institutului de Zoologie, (Sectorul de Pădure nr. 21, Cantonul nr 9 al Întreprinderii Silvice Ghidighici, mun. Chişinău). În raza de 3 km (zborul productiv al albinei) de la stupină nu există surse majore de poluare, terenurile forestiere din această zonă constituie - 32,2%, unde predomină plantele melifere: teiul, salcâmul şi alte plante erbacee de pădure. Zona agricolă a fost situată la marginea localităţii Brăviceni (rnul Orhei). Potenţiale surse de poluare în această zonă fiind fostul depozit de pesticide care a fost evacuat cu 2,5 decenii în urmă, precum şi tehnica agricolă care prelucrează terenurile agricole, transportul de pe traseul auto Chişinău - Bălţi,. În această zonă prevalează terenurile arabile cu - 62,8%, după care urmează păşuni şi fâneţe cu – 22,2%. Zona transport auto este amplasată la periferia oraşului Chişinău (şoseaua Balcani). Potenţialele surse de poluare în această zonă sunt: traficul intens cu peste 1200 autovehicule într-o oră, 12 staţii de alimentare cu carburanţi, piaţa auto, Fabrica de asfalt „Edilitate”, Combinatul Auto, poluarea ce vine dinspre oraş etc. În zona menţionată prevalează terenurile intravilane 45,3%, urmată de terenurile forestiere cu 24,9% (parcuri). Zona industrială, la fel, situată la periferia oraşului Chişinău (strada Industrială 14/2), întrunind cele mai multe surse poluatoare. Potenţialii poluatori în

această zonă fiind: transportul auto, peste 20 de staţii de alimentare cu carburanţi, gazele fumigene ce vin dinspre oraş, Uzina de sticlă, Fabrica de produse chimice de uz casnic „Agurdino”, Centralele electro-termice (CET-I, CET-II) etc. Această zonă este dominată de terenurile intravilane cu 63,1%, iar terenurile forestiere (parcuri mici) constituie numai - 13,9 %.

În fiecare din aceste zone au fost amplasate câte 12 familii de albine experimentale, de la care, pe parcursul a 2 ani de cercetare 2012 - 2013 în lunile mai - iunie, au fost colectate probe de miere şi propolis. De la fiecare familie experimentală, au fost prelevate prin decupare fragmente de fagure cu miere căpăcit (10g) şi depozitate în recipiente sterile. Probele de propolis (10g) au fost prelevate de pe ramele stupilor experimentali cu ajutorul daltei apicole sterile, la fel, depozitate în recipiente. Probele prelevate au fost transportate în laborator pentru analiză. Prepararea probelor, a constat în calcinarea uscată şi a transferului substanţei cenuşii în soluţie prin extracţie cu acid, conform standardelor în vigoare [25, 26, 27]. După carbonizare probele au fost mineralizate. Esenţa metodei de mineralizare a constat în descompunerea completă a materiilor organice prin arderea probelor, la temperaturi controlate, într-un cuptor electric, mărind treptat temperatura până la 450ºC, cu obţinerea de cenuşă gri. Apoi a avut loc extracţia. Esenţa metodei de extracţie cu acizi a constat în extragerea metalelor grele din cenuşă prin fierbere cu acid azotic şi acid clorhidric. Conţinutul metalelor grele din produsele apicole a fost determinat în laboratorul acreditat al Institutului de Geologie şi Seismologie al Academiei de Ştiinţe al Moldovei, utilizând metoda Spectrometriei de Absorbţie Atomică cu atomizare termică a elementelor în atomizator cu grafit (AAnalist 800, f. Perkin Elmer 2001) [20, 21]. Metoda se bazează pe măsurarea lungimii de undă a absorbţiei de rezonanţă a vaporilor atomici ai elementului, generat ca rezultat al atomizării electrotermice a probei în cuptorul cu grafit.

Datele obţinute în experienţe au fost prelucrate statistic utilizând programul computerizat „Statistica 7”. Au fost calculate media aritmetică (M), eroarea mediei (m) şi deviaţia standard (б). Rezultatele cercetărilor obţinute au fost supuse analizei statistico - biometrice variaţionale după metodele lui Плохинский Н.А., 1969 [30]. A fost calculat coeficientul de certitudine (t_d) a diferenţelor obţinute între zonele de cercetare după formula:

$$t_d = \frac{d}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

în care: d= M_1- M_2; (diferenţa dintre mediile aritmetice); m_1 - eroarea mediei M_1; m_2 - eroarea mediei M_2. Ca rezultat a fost stabilit pragul de certitudine a diferenţelor după Student.

Rezultate şi discuţii

Conţinutul de MG în miere. „Mierea – substanţă naturală dulce produsă de albinele Apis mellifera din nectarul plantelor sau din secreţiile secţiunilor vii ale plantelor ori din excreţiile pe secţiunile vii ale plantelor, ale insectelor care se hrănesc prin sucţiune din plante şi pe care albinele le colectează, le transformă, combinîndu-le cu substanţe proprii specifice, le depozitează, le deshidratează, le adună şi le lasă în faguri pentru a se macera şi a se maturiza” [7].

Pentru producerea a 0,5 kg de miere, albina meliferă trebuie să viziteze 3 - 4 milioane de flori să colecteze şi să transporte 75 000 încărcături de nectar la colonia lor. Prin invertirea nectarului în miere sunt încorporate glucide, proteine, acizi, substanţe minerale, inclusiv metale, substanţe biologic active de origine organică, vitamine, antibiotice naturale, hormoni şi polen. Însă, odată cu acestea pot pătrunde şi o serie de substanţe contaminante cum ar fi metalele grele, pesticidele etc.

În general, potrivit informaţiilor unor cercetări [9, 2], prezenţa metalelor în mierea de albine depinde de originile botanice ale mierii, de tipul solului şi de activităţile antropice care au loc în zona respectivă a mediului dat.

Conţinutul de *Pb* în miere. În urma analizelor efectuate, am constatat faptul, că conţinutul de Pb în probele de miere analizate variază în funcţie de an şi este în legătură foarte strânsă cu specificul zonei în care a fost amplasată stupina (tab. 1). Prezenţa *Pb,* a fost constatată în toate probele de miere analizate, în ambii ani de cercetare, variind de la minim - 0,008 mg/kg (zona forestieră), până la maxim 0,311 mg/kg (zona industrială).

Tabelul 1. Conţinutul de *Pb* în miere, mg/kg.

Denumirea zonei experimentale	Concentraţia medie, M ± m	Min - max	Diferenţa faţă de zona forestieră		t_d	P
			d	%		
anul 2012						
Zona forestieră	0, 017 ± 0,002	0,008 - 0,029	-	-	-	-
Zona agricolă	0,023 ± 0,002	0,013 - 0,038	0,006	35,9	2,68	< 0,05
Zona transport auto	0,138 ± 0,010	0,076 - 0,190	0,121	711,7	7,50	< 0,001
Zona industrială	0,162 ± 0,021	0,084 - 0,311	0,145	852,9	6,90	< 0,001
anul 2013						
Zona forestieră	0,015 ± 0,001	0,009 - 0,022	-	-	-	-
Zona agricolă	0,019 ± 0,002	0,009 - 0,033	0,004	26,6	1,78	< 0,1
Zona transport auto	0,133 ± 0,013	0,083 - 0,214	0,118	786,6	9,07	< 0,001
LMA, UE*	max. 0,20	-	-	-	-	-
LMA, FAO/OMS**	max. 0,20	-	-	-	-	-
LMA, MD***	max. 0,20	-	-	-		-

Remarcă: *UE Standard (European Honey Directive of the European Honey Commission) : ** International Standard (Codex Alimentarius Standard of F.A.O./ O.M.S Commission): ***Directiva 2001/110/CE A Cosiliului din 20 decembrie 2001 privind mierea.

În anul 2012 de cercetare, concentraţiile medii de *Pb* din probele de miere din zona industrială (0,162 ± 0,021 mg/kg) şi zona transport auto (0,138 ± 0,010 mg/kg), au fost semnificativ mai mari, în comparaţie cu zona forestieră (0,017 ± 0,002 mg/kg), respectiv, cu 0,145 şi 0,121 mg/kg sau 852,9 % şi 711,7 % (t_d = 6,90 - 7,50; P < 0,001). O diferenţă cu mult mai mică comparativ cu zonele industrială şi transport auto, a fost constată la conţinutul de *Pb* în mierea extrasă din zona agricolă, fiind mai mare faţă de zona forestieră cu 0,006 mg/kg sau 35,9 % (t_d = 2,68; P < 0,05).

O situaţie similară a fost constatată şi în anul 2013, în care concentraţia de *Pb* în mierea din zona transport auto (0,133 ± 0,013 mg/kg), a fost semnificativ mai mare, comparativ cu cea din zona forestieră (0,015 ± 0,001 mg/kg) cu 0,118 mg/kg sau 786,6 % (t_d = 9,07; P < 0,001). Concentraţia de *Pb* în miere din zona agricolă, a avut doar o tendinţă de a fi mai mare comparativ cu zona de fond cu 0,004 mg/kg sau 26,6 % (t_d = 1,78; P < 0,1).

Prin urmare, din rezultatele cercetărilor putem concluziona că probele de miere, extrase din zonele mai afectate ecologic, precum sunt zona industrială şi zona transport auto, care sunt permanent expuse traficului auto şi emisiilor industriei au un nivel al concentraţiei de *Pb* mai mare decât în zonele izolate cum sunt zona forestieră.

Ţinem să menţionăm faptul, că nici în una din zonele cercetate de noi, concentraţiile medii de *Pb* în miere nu prezintă valori mai mari decât LMA stabilită de standardele *UE*, şi *F.A.O.* de 0,20 mg/kg, fiind departe şi de limitele stabilite de standardele ruseşti *Сан ПиН de* 1,0 mg/kg .

Cercetări asemănătoare, au fost efectuate de cercetătorii din mai multe ţări. Spre exemplu, cercetătorii români [24], în urma analizei *Pb* în probele de miere din diferite regiuni ale României, au înregistrat concentraţii medii de 0.1209± 0.0445 mg/kg în zonele nepoluate şi concentraţii de 0.1907 ± 0.0437 mg/kg în zone poluate. Ţinem să menţionăm, că prin "zone poluate" autorul subînţelege amplasarea stupinei în apropierea traficului auto intens şi întreprinderilor industriale. Rezultatele cercetărilor noastre sunt în concordanţă cu rezultatele multor alţi cercetători [2, 5], care au depistat concentraţii mai sporite de metale grele în mierea colectată din zonele industrial poluate şi concentraţii mai scăzute în zonele nepoluate.

Conţinutul de *Cd* în miere. Cercetările din anii 2012 - 2013, privind reziduurile de *Cd* în probele de miere din zonele forestieră, agricolă, transport auto şi industrială, nu au demonstrat concentraţii de nivelul detectabil (< 0,001 mg/kg). Normele stabilite de standardele *UE* şi cele internaţionale *F.A.O.* privind conţinutul de *Cd* în miere fiind de 0,02 mg/kg.

Asemenea cercetări, au fost efectuate de cercetătorii din România [24], care au constatat concentraţii medii de *Cd* în miere de 0.0103 ± 0.0027 mg/kg în zonele nepoluate şi concentraţii de 0.0167± 0.0012 mg/kg în zonele poluate din apropierea traseului auto şi instalaţiilor industriale. Datele acestor autori, privind concentraţia de *Cd* în miere au fost cu mult mai mari în comparaţie cu rezultatele înregistrate în zonele cercetate de noi, dar de asemenea, nu depăşeau limita maxim admisibilă stabilită de normele UE.

Conţinutul de *Cu* în miere. Rezultatele cercetărilor, în ambii ani de studiu, au demonstrat prezenţa *Cu* în toate probele de miere analizate, variind de la minim 0,017 mg/kg (zona forestieră), până la maxim 0,818 mg/kg (zona industrială), (tab 2).

Astfel, în anul 2012, concentraţia medie de *Cu* în probele de miere din zonele industrială (0,481 ± 0,055 mg/kg) şi transport auto (0,292 ± 0,041mg/kg) , depăşea nivelul în mierea extrasă din zona forestieră (0,031 ± 0,003 mg/kg), respectiv, cu 0,450 şi 0,261 mg/kg sau de 12,3 şi 9,4 ori (t_d = 8,33 şi 6,37; P < 0,001). Diferenţe mai mici au fost înregistrate între mierea din zona agricolă (0,164 ± 0,030 mg/kg) şi cea din zona martor (forestieră) care constituiau 0,133 mg/kg sau de 320,5 % (t_d = 4,43; P < 0,001).

Tabelul 2. Conţinutul de *Cu* în miere, mg/kg.

Denumirea zonei experimentale	Concentraţia medie, M ± m	Min - max	Diferenţa faţă de zona forestieră		t_d	P
			d	%		
anul 2012						
Zona forestieră	0,031 ± 0,003	0,017 - 0,052	-	-	-	-
Zona agricolă	0,164 ± 0,030	0,080 - 0,411	0,133	320,5	4,43	< 0,001
Zona transport auto	0,292 ± 0,041	0,091 - 0,494	0,261	841,9	6,37	< 0,001
Zona industrială	0,481 ± 0,055	0,207 - 0,818	0,450	1450,6	8.33	< 0,001
anul 2013						
Zona forestieră	0,039 ± 0,004	0,019 - 0,068	-		-	-
Zona agricolă	0,242 ± 0,043	0,092 - 0,562	0,203	520,5	4,71	< 0,001
Zona transport auto	0,359 ± 0,047	0,144 - 0,553	0,320	820,5	6,78	< 0,001
LMA, EU	max. 0,50	-	-	-	-	-
LMA, FAO/OMS	max. 0,50	-	-	-	-	-
LMA, MD	max. 0,50	-	-	-	-	-

O situaţie similară, a fost constatată şi în anul 2013 de cercetare, în care concentraţia de *Cu* în probele de miere din zonele transport auto (0,359 ± 0,047 mg/kg) şi cea agricolă (0,164 ± 0,030 mg/kg), a fost semnificativ mai mare, comparativ cu cea din zona forestieră (0,039 ± 0,004 mg/kg), respectiv cu 0,320 şi 0,203 mg/kg sau de 9,2 şi 6,2 ori (t_d = 6,78 şi 4,71; P < 0,001).

Concentraţiile mai sporite de *Cu* din zonele industrială şi transport auto pot fi explicate prin degajările surselor industriale şi a unor terenuri agricole din raza zborului productiv al albinelor

În ambii ani cercetaţi, nici una din concentraţiile medii de *Cu* în miere, nu depăşea limitele impuse de Comisia Europeană (European Honey Directive of the European Honey Commission) [8] şi cea Internaţională (Codex Alimentarius Standard of F.A.O. / O.M.S Commission) [7], care sunt de maxim 0,50 mg/kg.

Cercetări asemănătoare, au fost efectuate şi de cercetătorul rus, Ефимеко, în anul 2012 care a înregistrat concentraţii de *Cu* în miere de la 0,058, până la 0,096 mg/kg [28]. Alte cercetări din Rusia [31] au înregistrat concentraţii mult mai mari, de la 1,10, până la 1,90 mg/kg în probele de miere, depăşind standardele UE şi F.A.O. de 2 - 4 ori, după care s-ar putea face concluzii că autorii au cercetat mierea obţinută din zonele puternic poluate.

Schema nivelului de acumulare a metalelor studiate în probele de miere din diferite zone de cercetare este reprezentată în succesiunea: *Cu* > *Pb* > *Cd.* Diagrama construită în baza concentraţiilor obţinute poate fi vizualizată în figura 1.

Mai mulţi cercetători [31, 15], nu consideră mierea un bun marker în poluarea locală cu metale grele. Aceasta se explică, în primul rând, prin aceia că albina meliferă posedă capacităţi excepţionale de filtrare şi acumulare a contaminaţilor în corpul ei. Pe lângă aceasta, mierea pe parcursul depozitării şi maturizării în alveolele fagurelui, este supusă unor procese biologice de fermentare, transformare, conservare, iar concentraţia

metalelor grele este mult modificată (denaturată) comparativ cu produsele-predecesoare culese din natură.

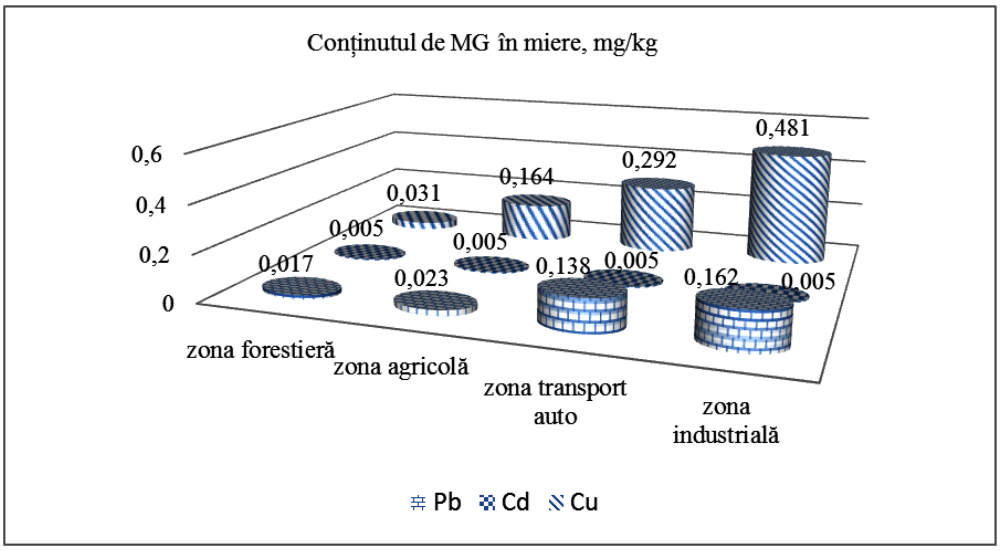


Fig. 1. Conţinutul mediu de *Pb*, *Cd* şi *Cu* în miere din diferite zone de cercetare.

Generalizând rezultatele, putem constata faptul, că în ambii ani de cercetare, cea mai mică concentraţie de metale grele a fost înregistrată în mierea extrasă din zona forestieră, şi cea mai mare concentraţie a acestor metale a fost constatată în cea extrasă din zonele industrială şi transport auto. Nici una din concentraţiile medii de MG în probele de miere analizate, nu au depăşit limitele impuse de standardele UE şi F.A.O., prin urmare, utilizând mierea în calitate de bioindicator al mediului după conţinutul de metale grele, putem concluziona, că nici una din zonele cercetate de noi nu este poluată.

Conţinutul de MG în propolis. Propolisul este un produs balsamic răşinos, colectat de albinele melifere de pe mugurii, frunzele şi scoarţa coniferelor, plopilor, prunilor şi altor plante care secretă substanţă răşinoasă. Propolisul este modificat în stup prin adăugarea secreţiilor salivare şi ceară [22]. Acesta este utilizat de către albine pentru ermetizarea stupului şi lustruirea celulelor fagurelui. [13]. Compoziţia lui chimică este influenţată de factorii botanici, geografici şi ecologici. În general propolisul constă din 50% răşini şi balsamuri vegetale, 30% ceară, 10% uleiuri esenţiale şi aromatice, 5% polen şi 5% alte substanţe inclusiv resturi organice [6]. În general, datorită compoziţiei şi proprietăţilor sale, propolisul este utilizat în industria farmaceutică.

Metalele grele pătrund în propolis din sol, prin secreţia plantelor şi a substanţelor răşinoase, acesta fiind un proces de durată. Concomitent, plantele pot acumula sau prelua substanţele poluante din aer. De asemenea, albinele pot amesteca în propolis cantităţi de *Pb* şi *Cd* preluate din particulele gudronului de asfalt şi alte surse netradiţionale [31].

Conţinutul de *Pb* în propolis. În ambii ani de cercetare, a fost constatată prezenţa *Pb* în propolis în toate probele analizate, variind de la minim - 0,97 (zona forestieră), până la 16,73 mg/kg (zona transport auto), (tab. 3.).

Tabelul 3. Conţinutul de *Pb* în propolis, mg/kg.

Denumirea zonei experimentale	Concentraţia medie, M ± m	Min - max	Diferenţa faţă de zona martor		t_d	P
			d	%		
anul 2012						
Zona forestieră	2,28 ± 0,44	0,97 - 6,12	-		-	-
Zona agricolă	6,41 ± 0,75	2,44 - 10,62	4,13	181,1	4,75	< 0,001
Zona transport auto	8,11 ± 1,03	4,16 - 16,73	5,83	255,7	5,21	< 0,001
Zona industrială	9,23 ± 1,08	4,07 - 15, 24	6,95	304,8	5.99	< 0,001
anul 2013						
Zona forestieră	2,85 ± 0,56	0,82 - 7,19	-	-	-	-
Zona agricolă	5,81 ± 0,55	2,89 - 9,17	2,96	103,85	3,77	< 0,001
Zona transport auto	8,67 ± 0,95	3,47 - 13,17	5,82	204,2	5,29	< 0,001
LMA, Japan Conf.	20,0					

În anul 2012 de cercetare, concentraţia medie de *Pb* în propolis din zona industrială (9,23 ± 1,08 mg/kg) şi cea transport auto (8,11 ± 1,03 mg/kg), a fost semnificativ mai mare, în comparaţie cu zona forestieră (2,28 ± 0,44), respectiv cu 6,95 şi 5,83 mg/kg sau cu 304,8 şi 255,7% (t_d = 5,99 şi 5,29; P < 0,001). La fel şi cea din zona agricolă (6,41 ± 0,75 mg/kg) a înregistrat o diferenţă semnificativă de 4,13 mg/kg sau 181,1 % (t_d = 4,75; P < 0,001), faţă de zona martor.

O situaţie similară, a fost constatată şi în anul 2013, în care concentraţia de *Pb* în propolisul colectat din zona transport auto (2,85 ± 0,56 mg/kg) şi zona agricolă (5,81 ± 0,55 mg/kg), au fost mai ridicate în comparaţie cu cea din zona forestieră (2,85 ± 0,56 mg/kg), respectiv cu 5,82 şi 2,96 mg/kg sau cu 204,2 sau 103,8 % (t_d = 5,29 şi 3,77; P < 0,001).

Limita maximă de *Pb* în propolis nu este reglementată de normele UE. Pe când, *Japan Propolis Conference* a stabilit limita maximă pentru acest metal în propolis de 20 mg/kg [23].

Comparând rezultatele obţinute de noi privind concentraţia de *Pb* în propolis cu limita stabilită de *Japan Propolis Conference*, observăm, că în ambii ani de cercetare (2012-2013), nu au fost înregistrate concentraţii poluante în probele de propolis colectate din zonele industrială, transport auto, agricolă şi cea forestieră, fiind în medie de 2,2; 2,5; 3,1; 8,8 şi respectiv de 2,3; 3,4 şi 7,0 ori mai mici decât limita stabilită (t_d = 3,77 - 5,99; P< 0,001).

Asemenea cercetări, au fost efectuate în mai multe ţări, unde concentraţia de *Pb* în propolis variază în proporţii destul de mari, de la o regiune la alta. Spre exemplu, propolisul din Marea Britanie conţine valori ale *Pb* până la - 461 mg/kg în apropierea zonelor industriale (UK Food Standards Agency 1995) [3], în Uruguay şi China, în 32% din probele de propolis analizate, a fost înregistrat nivelul de *Pb* în concentraţii mai mari de 10 mg/kg, în unele regiuni din Rusia [29] conţinutul mediu al *Pb* în propolis este de - 10,90 mg/kg, în Brazilia [1] au fost înregistrate concentraţii de la 19 până la 48 mg/kg.

Prezenţa concentraţiilor sporite de *Pb* în propolisul colectat de albine în zonele industrială şi transport auto este cauzat de mai mulţi factori: transportul auto a cărui

pondere la poluarea mediului poate constitui până la două treimi, fiind şi principalul poluator. O altă sursă este poluarea urbană (deşeurile, gazele fumigene emanate de centralele electrice, termice). În afară de factorii locali, destul de semnificativă poate fi şi poluarea transfrontalieră cu *Pb*, influenţată de ţările vecine Ucraina şi România.

Conţinutul sporit de *Pb* în propolisul colectat din zona agricolă se datorează, în mare parte, preparatelor agrochimice prezente cândva la depozitele de chimicale şi reziduurile încă existente în componentele solului, gazelor de eşapament de la transportul auto de pe autostrada principală situată la o distanţă de 1,5 km în raza zborului productiv al albinelor. După Bogdanov, 2006 [2], *Pb* reprezintă riscul major de contaminare a propolisului în comparaţie cu alte metale grele. Concentraţiile sporite de *Pb,* comparativ cu alte MG*,* în probele cercetate, demonstrează că propolisul este un bun acumulator de metale. Mai mulţi cercetători au confirmat faptul că concentraţia metalelor grele în propolis poate fi mai mare decât în mediul ambiant. Aceasta se explică prin faptul că albina meliferă poate amesteca în propolis cantităţi de *Pb* din diverse surse netradiţionale (gudronul asfaltului), din aceste considerente propolisul nu poate servi în calitate de bioindicator al mediului ambiant. Concentraţiile sporite de *Pb* în propolisul din zonele industrială şi transport auto ne indică doar la faptul că acest produs apicol recoltat din zonele respective, nu poate fi utilizat în scopuri utile pentru om.

Conţinutul de *Cd* în propolis. Prezenţa *Cd* a fost depistată în toate probele de propolis cercetate, însă concentraţia acestui metal greu a fost sub limita maximă admisibilă de 1,0 mg/kg stabilită de normele UE (tab 4.).

În anul 2012 de studiu, probele de propolis analizate au înregistrat concentraţii de la minim 0,011 până la maxim 0,735 mg/kg. Cele mai mari concentraţii medii de Cd în propolis, au fost înregistrate în zonele industrială (0,402± 0,055 mg/kg) şi transport auto (0,275 ± 0,026 mg/kg), care depăşeau nivelul în propolisul din zona forestieră cu 0,361 şi 0,234 mg/kg sau 880,5 sau 570,7 % (t_d = 6,51 şi 8,73; P < 0,001). În zona agricolă nivelul concentraţiei de *Cd* în propolis (0,054 ± 0,003 mg/kg) avea o tendinţă de a fi mai mare, comparativ cu zona forestieră.

Rezultate similare, au fost constatate şi în anul 2013 de cercetare. Astfel, concentraţia de *Cd* din propolisul din zona transport auto (0,150 ± 0,016 mg/kg) şi cea agricolă (0,046 ± 0,003 mg/kg), depăşea nivelul în propolisul colectat din zona forestieră (0,038 ± 0,002 mg/kg), respectiv cu 0,112 şi 0,008 mg/kg sau 294,7 şi 21,0 % (t_d = 6,95 şi 2,42; P < 0,001 şi 0,05).

Asemenea cercetări, au fost efectuate de mai mulţi cercetători, care au depistat diferite concentraţii de *Cd* în propolis. Spre exemplu, unii cercetători [4], au constatat concentraţii de *Cd* < 3mg/kg, în regiunea Opole (Franţa) [18], nivelul de acumulare al *Cd* în propolis înregistrează concentraţii de 0,218 mg/kg, iar cercetătorii ruşi [29] au constatat o concentraţie medie de *Cd* în propolis de 0,08 mg/kg.

Principalele surse care au influenţat concentraţia de *Cd* în probele de propolis în zonele industrială şi transport auto au fost: vulcanizările anvelopelor, fabricile de încălţăminte, deşeurile menajere, fabrica de asfalt, praful ce se ridică de pe drumurile oraşului şi suburbiilor etc.

Ca rezultat al cercetărilor putem concluziona, că după concentraţiile de *Cd* în propolis, zonele cercetate de noi nu sunt poluate. Propolisul este un slab acumulator

de *Cd*, deoarece concentraţiile medii ale acestui metal sunt cu mult sub nivelul LMA, conform normelor în vigoare.

Tabelul 4. Conţinutul de *Cd* în propolis, mg/kg.

Denumirea zonei experimentale	Concentraţia medie, M ± m	Min - max	Diferenţa faţă de zona martor		t_d	P
			d	%		
anul 2012						
Zona forestieră	0,041 ± 0,007	0,011 - 0,092	-	-	-	-
Zona agricolă	0,054 ± 0,003	0,036 - 0,080	0,013	31,7	1,71	< 0,1
Zona transport auto	0,275 ± 0,026	0,158 - 0,453	0,234	570,7	8,73	< 0,001
Zona industrială	0,402± 0,055	0,135 - 0,735	0,361	880,5	6,51	< 0,001
anul 2013						
Zona forestieră	0,038 ± 0,002	0,011 - 0,088	-	-	-	-
Zona agricolă	0,046 ± 0,003	0,029 - 0,061	0,008	21,0	2,42	< 0,05
Zona transport auto	0,150 ± 0,016	0,083 - 0,258	0,112	294,7	6,95	< 0,001
LMA, EU	1,0	-	-	-	-	-
LMA, MD	1,0	-	-	-	-	-

Conţinul de *Cu* în propolis. Prezenţa *Cu*, a fost depistată în toate probele de propolis analizate, variind de la minim 1,48 mg/kg în zona forestieră, până la maxim 9,02 mg/kg în zona transport auto, însă nici una din concentraţiile medii din zonele cercetate nu depăşesc limitele maxime admisibile (tabelul 5.).

Tabelul 5. Conţinutul de *Cu* în propolis, mg/kg.

Denumirea zonei experimentale	Concentraţia medie, M ± m	Min - max	Diferenţa faţă de zona martor		t_d	P
			d	%		
anul 2012						
Zona forestieră	3,24 ± 0,26	1,48 - 5,31	-	-	-	-
Zona agricolă	4,37 ± 0,31	2,89 - 6,20	1,13	34,8	2,79	< 0,01
Zona transport auto	6,74 ± 0,33	5,05 - 9,02	3,53	208,0	8,40	< 0,001
Zona industrială	5,12 ± 0,36	2,99 - 7,34	1,88	58,0	4,23	< 0,001
anul 2013						
Zona forestieră	4,46 ± 0,56	2,46 - 8,32	-	-	-	-
Zona agricolă	5,38 ± 0,34	4,01 -7,83	0,92	20,62	1,40	< 0,1
Zona transport auto	6,08 ± 0,36	3,71 - 8,22	1,62	36,3	2,43	< 0,05
LMA, Сан ПиН *	15	-	-	-	-	-

Remarcă. *Normele UE şi MD nu reglementează conţinutul de *Cu* în propolis

Analizând rezultatele, observăm, că concentraţiile de *Cu* în propolis variază în funcţie de an şi depinde de specificul zonei în care a fost amplasată stupina. În anul 2012 de cercetare, cele mai mari concentraţii medii de *Cu* au fost depistate în zona transport auto - 6,74 ± 0,33 mg/kg cu o depăşire de 3,53 mg/kg faţă de zona forestieră (t_d = 8,40; P < 0,001). Valori ceva mai mici de concentraţie a *Cu* au fost înregistrate în propolisul colectat din zona industrială (5,12 ± 0,36 mg/kg), fiind mai

mari comparativ cu cele ale propolisului din zona forestieră cu 1,88 mg/kg sau 58,0 % (t_d = 4,23; P < 0,001). Propolisul colectat din zona agricolă avea o concentraţie de *Cu* (4,37 ± 0,31mg/kg) mai mare faţă de cel din zona forestieră cu 1,13 mg/kg sau 34,8 % (t_d = 2,79; P < 0,01). Principală sursă de *Cu* în această zonă fiind preparatele ce conţin *Cu* utilizate de agricultori la tratamentul culturilor de viţă de vie, livezi şi legume.

O situaţie similară a fost constatată şi în anul 2013, unde concentraţia de *Cu* în probele de propolis din zona transport auto şi cea agricolă a fost mai mare în comparaţie cu zona forestieră, respectiv cu 1,62 şi 0,92 mg/kg sau 36,6 şi 20,62 % (t_d = 2,43 şi 1,40; P < 0,05 şi 0,1).

Cercetări asemănătoare au fost efectuate şi de cercetătorii francezi [18], care au constatat concentraţii de *Cu* în propolis de 7,12 mg/kg, iar cei spanioli [3], au depistat concentraţii medii de 3,45 ± 0,68 mg/kg.

Prin urmare, nivelul conţinutului de *Cu* în propolisul cercetat de noi este în concordanţă cu nivelurile concentraţiilor depistate de mulţi alţi cercetători în domeniu. Generalizând concentraţiile de Cu în propolis putem concluziona că nici una din zonele evaluate de noi nu este poluată cu metalul greu *Cu*, deoarece concentraţiile acestuia nu depăşesc normele standardelor oficiale. Schema nivelului de acumulare a metalelor grele studiate în probele de propolis este reprezentată în felul următor: *Pb* > *Cu* > *Cd.* Mai evident conţinutul de MG în propolis poate fi vizualizat în figura 2.

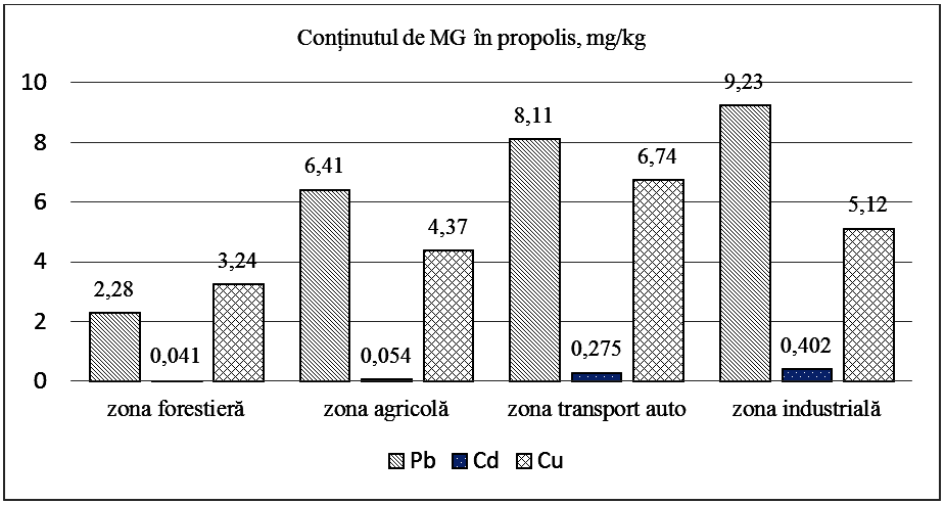


Fig. 2. Conţinutul mediu de *Pb*, *Cd* şi *Cu* în propolis din diferite zone de cercetare.

Generalizând rezultatele, putem afirma faptul, că gradul de concentraţie a MG în propolis variază de la o zonă la alta, în dependenţă de mai mulţi factori, aceasta fiind constatată de mai mulţi cercetători. În ambii ani de cercetare, cele mai mari concentraţii de MG în propolis au fost depistate în probele din zonele industrială, aceste fiind influenţate de poluarea urbană şi existenţa fabricii de asfalt.

În ambii ani de cercetare, în nici una din zonele cercetate nu au fost înregistrate concentraţii poluante de metale grele (*Pb*, *Cd* şi *Cu*) în probele de propolis colectate. Generalizând rezultatele cercetărilor putem conclude că, după conţinutul de MG în miere şi propolis, zonele cercetate de noi nu sunt poluate, deoarece conţinutul acestora nu depăşeşte LMA conform normelor în vigoare.

Concluzii

1. A fost stabilit, că concentraţia MG în miere şi propolis este în dependenţă de impactul antropic din zonele de amplasare a familiilor de albine. Cele mai mici concentraţii de MG au fost înregistrate în probele de miere, iar cele mai mari concentraţii în probele de propolis.

2. Cel mai mare conţinut de MG atât în miere, cât şi în propolis a fost înregistrat în zonele industrială şi transport auto, iar cel mai mic conţinut - în zonele forestieră şi agricolă.

3. În toate zonele de cercetare, conţinutul de MG în miere nu au depăşit limitele maxime admisibile (LMA) stabilite de normele europene şi mondiale.

Bibliografie

1. *Alcici, N. & Freire, M.* Heavy metals in propolis: Practical and simple procedures to reduce the lead in the Brazilian propolis, First German Bee Products and Apitherapy Congress with International Participation. 2002.

2. *Bogdanov S.,* Contaminants of bee products. In: Apidologie, Springer Verlag (Germany), 37 (1), 2006. p.1-18.

3. *Bonvehí J.S. and Bermejo F.J.* Element content of propolis collected from different areas of South Spain. In: Environ Monit Assess, 2013. p. 6035–6040.

4. *Bonvehi, J. S., Coll, F. V., & Jordà, R. E.* The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics. Journal of the American Oil Chemists Society, 71, 1994. p. 529–532.

5. *Bratu, I., Georgescu C.* Chemical contamination of bee honey – identifying sensor of the environment pollution, Journal of Central European Agriculture Journal of Central European Agriculture, Vol. 6, No 1. 2005. p. 467-470.

6. *Burdock G.* Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chem Toxicol*. PubMed.1998;36:347–363.

7. Codex Alimentarius (1994) Codex Standard for Honey, Codex Stan 12-1981, Rev.1(1987), Volume 11, FAO, Rome.

8. Council Directive 2001/110/EC relating to honey.

9. *Conti M., Botre F.* Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. In: Environmental Monitoring and Assessment, 69, 2000. p. 267-282.

10. EMEP/CCC-Report 4/2013. Heavy metals and POP measurements, 2011. Norwegian Institute for Air Research PO Box 100, NO-2027, Kjeller, Norway, 2013. 136 p.

11. FAO/WHO. (2011). The 53rd Meeting of the Joint Expert Committee on Food Additives.2000. htpp://inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44jec12.htm

12. *Mustea M.* Protecţia aerului atmosferic. În: Anuarul IES – 2010 „Protecţia mediului în Republica Moldova”/IES. Chişinău: Tipogr.-Sirius, 2011. p. 16-36.

13. *Park YK, Ikegaki M.* Preparation of water and ethanolic extracts of propolis and evaluation of the preparations. Biosci Biotechnol Biochem. 1998. 62: p. 2230–2232.

14. *Porrini C. et al.* Honey bee and bee products as monitor of the environmental contamination. In: Apiacta 38, 2003, p. 63-70.

15. *Porrini C. et al.* Use of honey bees as bioindicators of evoronmental pollution in Italy. In: Honey bees: The Environmental Impact of Chemicals. London, 2002, p. 186 – 247.

16. Propolisul. Cercetări ştiinţifice şi păreri cu privire la compoziţia, caracteristicile şi utilizările sale în scopuri terapeutice. Apimondia. Bucureşti, 1975. 215 p.

17. Regulamentul (CE) NR. 1881/2006 al Comisiei din 19 decembrie 2006 de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiţi contaminanţi din produsele alimentare) (JO L 364, 20.12.2006, p. 5).

18. *Roman A. et al.* Comparative study of selected toxic elements in propolis and honey. In: Journal of Apicultural Science Vol. 55 No. 2, 2011. p. 97 – 106.

19. Starea mediului în Republica Moldova în 2007-2010 (Raport Naţional). Caracterizarea generală a mediului natural. Chişinău: Nova-Imprim SRL, 2011. 192 p.

20. SM SR EN 14084-2006. Produse alimentare. Determinarea microelementelor. Determinare plumb, cadmiu, zinc, cupru şi fier prin spectrometrie de absorbţie atomică (SAA) după digestie cu microunde. Standard Moldovean, Chişinău, 2006.

21. SM SR EN 14083-2006. Produse alimentare. Determinarea microelementelor. Determinare plumb, cadmiu, crom şi molibden prin spectrometrie de absorbţie atomică cu cuptor de grafit (GFAAS) după digestia sub presiune.

22. *Simões L.* et al. Effect of Brazilian green propolis on the production of reactive oxygen species by stimulated neutrophils. In*:* J Ethnopharmacol. PubMed. 2004; 94: p. 59–65.

23. *Yamamoto T.* Present State of Basic Studies on Propolis in Japan Speechof the International Conference on Bee Product Properties Application andApitherapy, Tel-Aviv, Israel, May, 1996

24. *Zugravu C. et al.,* Correlations between Lead and Cadmium pollution of Honey and Environmental Heavy Metal Presence in Two Romanian Counties. In: Bulletin UASVM Agriculture, 66 (2)/2009. ISSN 1843-5246. p. 230 - 233.

25. ГОСТ Р 52097-2003. Продукты пчеловодства. Минерализация проб для определения токсичных элементов. Государственный Стандарт. Москва. 2003. 7 с.

26. ГОСТ 30178-96.Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов. Межгосударственный Стандарт. Москва, 2010. с.25-32.

27. ГОСТ 26929 - 94. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. Минск

28. *Ефименко А.* Апимониторинг Биоресурсов Краснодарского Края и оценка их состояния на загрязненность антропогенными поллютантами. Автореферат диссертации, 2012. 23с.

29. *Кодесь Л., Бычьков Н.* Миграция тяжелых металлов в продуктах пчеловодства. журнал "Пчеловодство". № 3, 2010.

30. *Плохинский Н.А.* Руководство по биометрии для зоотехников. Изд.«Колос», Москва, 969, 256 с.

31. *Туктарова Ю.В., Фархутдинова Р.Г.* Автомобильное загрязнение и качество продуктов пчел. № 4, 2010. http://al-bee.narod.ru/avtzagi.htm (vizitat 27.11.2012).

АНТРОПОГЕННАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ И ЕЕ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ УРБАНИСТИЧЕСКИХ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ *(*ACARINA*: IXODIDAE)* В РАЙОНАХ НИЗОВЬЯ ДНЕСТРА

Кравченко Оксана Владимировна

Институт Зоологии Академии наук Молдовы

Rezumat

În lucrare sunt prezentate rezultatele unui studiu al căpuşelor ixodide colectate în perioada 2011- 2014, în unele zone supuse presiunii antropice din regiunea Nistrului inferior. Sunt sintetizate datele proprii şi din literatură privind componenţa specifică, este prezentată dinamica numerică a căpuşelor, în funcţie de factorii abiotici.

Cuvinte cheie: căpuşe, epidemie și semnificația, epizootică, impactul antropic, focare natural, factor abiotic.
Depus la redacţie 11 martie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Cravcenco Oxana, Institutul de Zoologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei,1, MD 2028 Chişinău, Republica Moldova; e-mail: kalitas@list.ru; tel: (373777)47089

Введение

Клещи рода *Ixodes* являются хозяевами множества патогенов из самых разных систематических групп животного царства: вирусов, бактерий, простейших, гельминтов, насекомых [1], причем для многих природно-очаговых болезней иксодовые клещи являются специфическими переносчиками [2], имея тем самым важное эпидемиологическое и эпизоотологическое значение. На современном этапе приоритетным направлением считается мониторинг за известными и выявление новых природных очагов, связанных с иксодовыми клещами.

В мировой фауне насчитывается 680 видов этих членистоногих, относящихся к двум подсемействам и 14 родам, а фауна России представлена 55 видами [2]. Характерно повсеместное распространение иксодовых клещей, встречаясь даже в полярных областях единичными видами. Природные очаги трансмиссивных заболеваний обнаруживаются в различных районах земного шара, в том числе и на территориях, подвергшихся интенсивному антропогенному воздействию, где наблюдаются качественно-количественные изменения фаунистических комплексов и нарушения экологического равновесия в биоценозах.

Из материалов научных источников известно, что на территории центральной зоны республики Молдова выявлено 11 видов иксодовых клещей из 22 зарегистрированных для фауны республики [9,11]. Также, в литературе широко представлены данные о фаунистических комплексах иксодовых клещей на территориях с разной антропогенной нагрузкой разнообразных зон республики Молдова, но встречаются места, которые в связи с социально-экономическими ситуациями за последние 20 лет не исследовались.Таким образом, целью настоящей работы было проведение исследований по изучению фаунистического комплекса иксодовых клещей, определение видового состава и биотопического распределения иксодовых клещей на территориях подвергающихся антропогенной трансформации некоторых зон низовья Днестра.

Материалы и методы исследования

Материалом для настоящей работы послужили собственные наблюдения и полевые сборы проведенные на территориях городов Тирасполь, Бендеры, Днестровск, пгт. Первомайск,сел Гиска, Суклея, Хаджимус, Меренешты, Кицканы, Незавертайловка, побережье Кучурганского водохранилища, в период 2011-2014 годов. Основные места исследования, представлены ограниченными территориями, где влияние антропогенных факторов приводит к разнообразным изменениям в биотопах, в связи с чем увеличивается уровень эпидемиологической напряженности по многим трансмиссивным заболеваниям: парковые зоны, искусственно созданные зоны отдыха, побережье реки Днестр,

лесокустарниковые участки, остатки природных лесных массивов с примесью лесопосадок, опушки лесных массивов, придорожные лесополосы, территории летних оздоровительных лагерей, городские лесонасаждения и т. п.

Фаунистические и экологические исследования проводились еженедельно с 2011 по 2014 гг. на 3 основных стационарных (дозорных) маршрутах (г.Бендеры, г.Тирасполь, с.Гиска), и открытых стациях в различных ландшафтно – географических зонах региона, подверженных различной антропогенной нагрузке. Сбор клещей и учет их численности проводился в соответствии с общепризнанными методами (на 100 м²). За время исследований было собранно и определено 1154 имаго, 461 нимфа и 96 личинки иксодовых клещей. Всего было собрано 1711 экземпляров иксодовых клещей – 6 видов. Учёты численности иксодовых клещей на растительности велись с помощью волокуши. Клещи помещались в пробирки с 70% спиртом. Видовое разнообразие, относительная численность и половозрастной состав иксодовых клещей проводились в Центре Общей и Молекулярной Биологии, Лаборатории Систематики и Молекулярной Филогении Института Зоологии АНМ, велись по таблицам Филипповой [13]. На стационарных маршрутах в течении 2012-2014 гг. регистрировались абиотические факторы: температура и влажность воздуха.

Результаты и их обсуждение

Исследуемая зона расположена в юго-восточной части республики Молдова, на юго-западной части Восточно-Европейской равнины, в низовье реки Днестр. По берегам реки и балок встречаются островные леса, кустарники в оврагах, где создаются благоприятные условия для обитания птиц и мелких млекопитающих, являющихся возможными прокормителями иксодовых клещей. Территория исследования приспособлена для выпаса скота, принадлежащего индивидуальным владельцам. Островные леса окружены агроценозами, которые составляют основные по площади формации.

Следует отметить, что территория стационарных исследований – это в основном созданный рекреационный комплекс, где в результате антропогенной трансформации сформировались искусственные лесополосы, зеленые зоны отдыха, парки, которые способствуют сохранению естественных биоценозов, что ведет с одной стороны, к сохранению отдельных участков с естественными биоценотическими комплексами, а с другой – к возникновению вторичных сообществ, значительно отличающихся от бывших здесь ранее природных. Как те, так и другие могут стать основой образования очагов повышенной численности клещей, которые в данных условиях оказываются одновременно природными очагами трансмиссивных инфекций, передаваемых иксодовыми клещами [10,11].

Климат умеренно-континентальный, характер циркулярных процессов зависит от переноса воздушных масс с Атлантического океана. Характерны мягкая короткая зима (средняя температура января –3,9 °С); ранняя, с интенсивным прогреванием почвы и воздуха, весна; продолжительное лето (средняя температура июля +21°С), теплая и затяжная осень. В результате антропогенного воздействия человека изменяются абиотические факторы в местообитаниях клещей в наибольшей степени, что способствует перманентному

росту численности клещей в некоторых зонах, в результате чего появляются новые антропургические очаги [3].

За период исследований (2011 –2014 гг.) было зарегистрировано 6 видов клещей (табл.1) семейства *Ixodidae* (Murray 1877): *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758); *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776); *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794); *Haemaphysalis punctata* (Canestrini et Fanzago, 1877); *Ixodes frontalis* (Panzer, 1798); *Ixodes laguri* (Olenev, 1929).

Таблица 1. Видовой состав иксодовых клещей собранных на территории низовья Днестра за 2011-2014 гг.

Поряд. номер	Вид клеща	Кол-во экземпляров
1.	*Dermacentor marginatus* Sulzer	31
2.	*Dermacentor reticulatus* Fabricius	25
3.	*Haemaphysalis punctata* Canestrini et Fanzago	156
4.	*Ixodes ricinus* Linnaeus	1497
5.	*Ixodes frontalis* Panzer	1
6.	*Ixodes laguri* Olenev	1
Всего:		1711

Высокую численность в сборах составляет вид *Ixodes ricinus* - 87,5 % от всех собранных клещей за весь период наблюдения. В сборах зарегистрированы единичные находки 2 видов иксодовых клещей - *Ixodes frontalis* и *Ixodes laguri,* что составило 0,1% от всех клещей соответственно.

По результатам исследований установлено, что клещи распределены неравномерно, образуя локальные очаги с высокой численностью в стациях с наиболее благоприятными для вида экологическими условиями (рис.1). Сохраненная искусственная зеленая зона вокруг городов, населенных пунктов, способствует образованию островных биоценотических микрокомплексов, в которых концентрируются позвоночные животные, являющиеся носителями и прокормителями иксодовых клещей.

На стационарных маршрутах прокормителями иксодовых клещей выступают – крупный рогатый скот, козы, домашние и бродячие собаки, в некоторой степени белки, ежи, зайцы. Очаги могут быть образованы несколькими или одним видом клещей, приурочены к более или менее стабильным биоценотическим участкам и территориально, как правило, совпадают с местами обитания различных видов микромаммалий и наземно-гнездящихся и наземно-кормящихся птиц [10,12].

Проводя мониторинг фенологических наблюдений в 2012-2014 гг. за сезонной активностью клещей можно проследить в 2012 г. активизацию клещей в конце марта - середине апреля, с пиком в мае, повторное повышение активности зарегистрировано в сентябре-октябре (рис.2).

В 2013 - 2014 гг., активность клещей наблюдалась с середины марта, подъемом в апреле, с постепенным снижением до середины лета в результате повышения среднесуточных температур, когда численность иксодовых клещей падала и осенней незначительной активизацией клещей в середине сентября и

октября месяцев. Динамика численности доминирующих видов клещей в сборах с растений в период их активности, показывает значительные количественные показатели клещей *I. ricinus* в сборах, что проявляется специфическими требованиями вида к гидротермическим условиям среды и ландшафтно-экологическим условиям региона (таб.2). Следует отметить, что показатели численности *I. ricinus* в сборах составила: в 2011 году-59 %; в 2012 году-88,1 %; в 2013 году-90,2%; в 2014 году- 88,5 %.

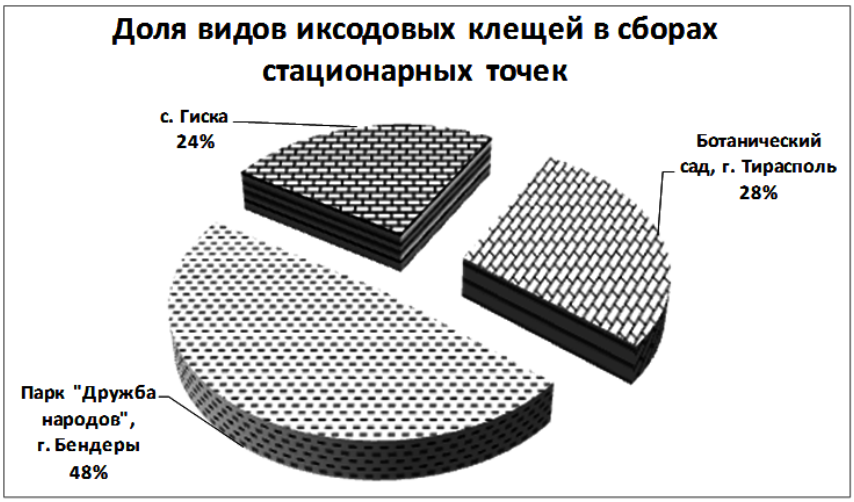


Рисунок 1. Доля видов иксодовых клещей в сборах 2011-2014 гг. на стационарных точках.

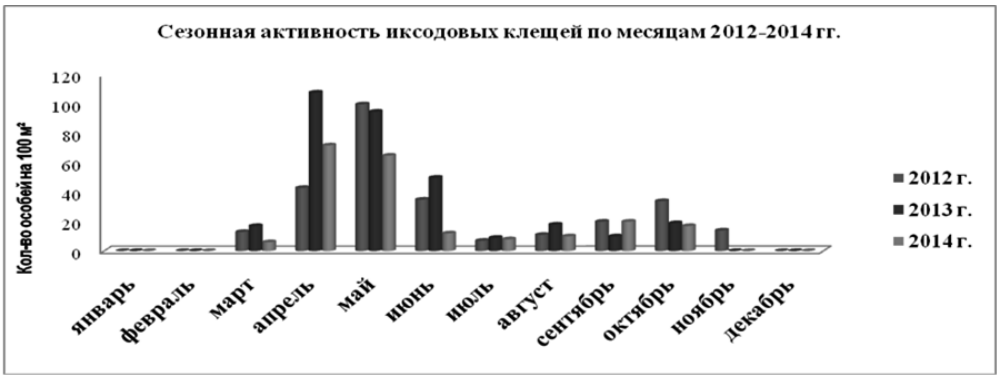


Рисунок 2. Сезонная активность иксодовых клещей 2012-2014 гг. на стационарных точках.

Обилие имаго *I. ricinus* в некоторых сборах (парк «Дружба Народов» г. Бендеры) нередко достигала 50-100 особей в пик активности клещей. Высокий уровень численности клещей в данном биотопе сформирован при участии домашнего скота, также выявлена чёткая зависимость динамики численности иксодид от влияния абиотических факторов (средняя температура воздуха 22,6±2,3 C^0, влажность 65,6±3,7%). Доказано, что наибольшее влияние на

клещей *I. ricinus* оказывают лесохозяйственные, рекреационные мероприятия и клещи на этих территориях встречаются единично или небольшими скоплениями по 3-7 экз. в одном месте.

Таблица 2. Сборы клещей на территории низовья Днестра с 2011-2014 гг.

Кол-во сборов (пройд.расст)	Кол-во клещей	Вид клеща					
		Dermacentor marginatus	Dermacentor reticulatus	Haemaphysa-lis punctata	Ixodes ricinus	Ixodes laguri	Ixodes frontalis
407 маршр. сборов 83 000 м	1155 имаго	31	25	83	1014	1	1
	460 нимфа	-	-	70	390	-	-
	96 личинки	-	-	3	93	-	-
Всего (экз):	**1711**	**31 (1,8%)**	**25 (1,5%)**	**156 (9,1%)**	**149 (87,5%)**	**1 (0,1%)**	**1 (0,1%)**

При анализе сезонной динамики для *I. ricinus* отмечены ярко выраженные пики численности в апреле (2013 г.), мае (2012 г.), а в 2014 году и в апреле, и в мае, с последующим некоторым снижением активности вплоть до середины лета. В последующие три месяца наблюдалось постепенное нарастание численности, но величины, в сравнении с весенними, были существенно ниже.В течение суток клещи *I. ricinus* наиболее активны с 10 до 13 и с 17 до 20 часов (время летнее).

Находки клещей рода *Dermacentor* встречаются на исследуемой территории - село Гиска, который представляет собой островной лесокустарниковый участок среди аграрных территорий лесного массива, в котором постоянно выпасается КРС, принадлежавший сельчанам. Следует отметить, что *D.marginatus* и *D.reticulatus* тяготеет к открытым опушечным участкам леса, где в начале весны наблюдается наиболее высокая активность копытных. Для данной территории это – домашний скот, собаки, которые являются основными прокормителями имаго *D.marginatus* и *D. reticulatus.* Для *D.marginatus* и *D. reticulatus* был характерен пик численности в марте (2012 г.), в апреле (2013 г.), в мае (2014 г.). Минимальные показатели численности у видов отмечены в летние месяцы (рис.3). В 2012 и 2014 гг. в осенние месяцы регистрировались единичные находки *D. reticulatus* в сборах.

Корреляционный анализ показал прямую зависимость между численностью клещей рода *Ixodes* и абиотическими факторами (температура и влажность воздуха). Наиболее тесная зависимость между данными параметрами отмечена весной. Показатели температуры и влажности определяют границы ареалов иксодовых клещей и их численность, что в дальнейшем определяет экологические характеристики природных очагов.

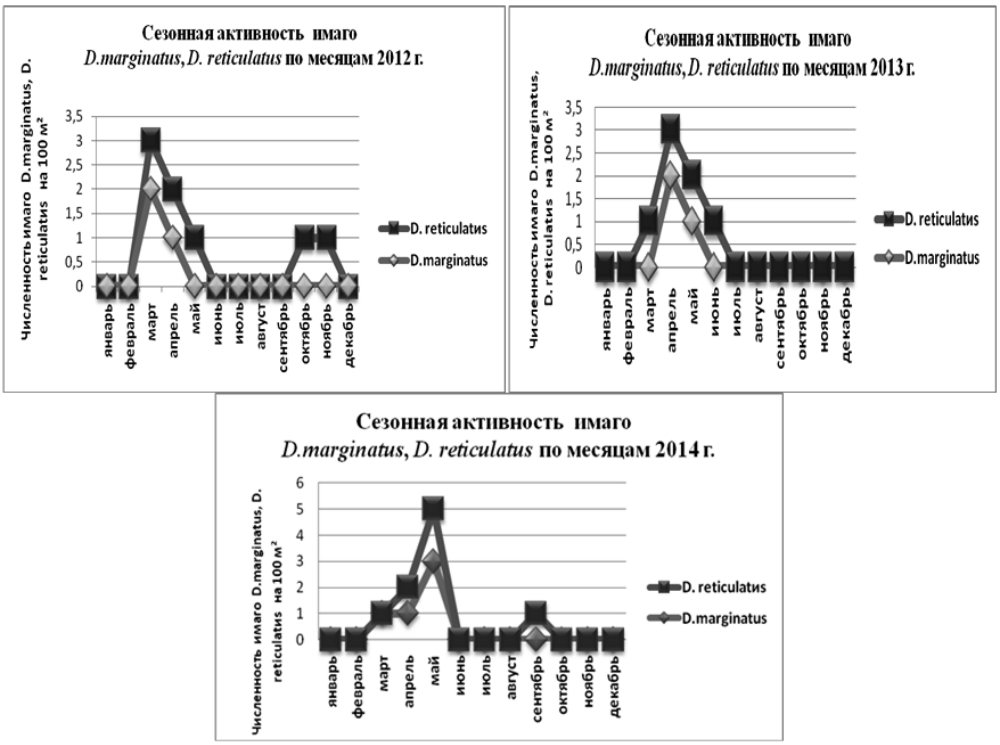


Рисунок 3. Сезонная активность имаго *D.marginatus*, *D. reticulatus* по месяцам 2012- 2014 г.

Исходя из проведенного мониторинга показателей температуры и количества обнаруженных клещей за 2012 - 2014 гг., максимум активности клещей зарегистрирован при температуре воздуха от +17 до +28°С и влажности воздуха свыше 65-67%. Первые клещи на стационарных маршрутах были зарегистрированы при температуре воздуха +12-15°С. В июне и июле 2012 года были отмечены дни с максимальной температурой воздуха +30 °С и выше, такой период составил 38-46 дней [4]. При повышении температуры воздуха свыше +30-32°С наблюдалось снижение активности клещей. Клещи одинаково активно цеплялись на флаг днем, когда температура воздуха достигала +25-27°С и вечером, с наступлением сумерек при температуре воздуха от +22 до +24°С тепла.

При сравнении полового соотношения имаго *I. ricinus,* собранных в период исследований 2012-2014 гг. следует указать на преобладание в 2012 г. в весенних сборах самцов, в 2013-2014 гг. в сборах подавляющее число занимали самки, в осенних сборах наоборот в 2012 г. большинство было в сборах самок, в 2013-2014 гг. самцы *I. ricinus* (рис.4).

В 2012 году отмечено начало массовой активности клещей в конце марта (23 марта), в 2013- 2014 гг. - в середине месяца (14-15 марта). Конец активности клещей в течении трех лет в среднем зарегистрирован в конце июля (2012-15.07; 2013-18.07; 2014 - 20.07).

Рисунок 4. Половое соотношение *Ixodes ricinus* по месяцам 2012- 2014 г.

Последние находки активных клещей зарегистрированы в 2012 году- 17 ноября, в 2013 году- 27 октября, в 2014 году – 20 октября. Продолжительность сезона активности клещей в среднем по некоторым зонам низовья Днестра в 2012 году составил 182 дня, в 2013 году 157 дней, в 2014 году 155 дней. Погодные условия осенью 2012 г., такие как умеренно теплая погода, чередование солнечных дней и дождливых, повышенная влажность, способствовали увеличению продолжительности активности клещей.

Выводы

Исходя из данных исследований, проведенных на территориях с различной антропогенной нагрузкой различных зон низовья Днестра, можно говорить о формировании небольших временных очагов с высокой численностью клещей. За период исследований выявлено 6 видов иксодовых клещей, 2 из которых – единичные находки: *Ixodes ricinus*, *Dermacentor marginatus, Dermacentor reticulatus, Haemaphysalis punctata, Ixodes frontalis, Ixodes laguri.* Стабилизация численности клещей в очагах происходит за счет возникновения благоприятных условий для их размножения в результате повышения численности прокормителей, и так как во многих местах исследований проводится выпас скота, количество заклещевленных территорий может значительно возрасти. Учитывая состояние природных факторов, которое имеется сейчас, можно предполагать, что могут создаваться условия для сохранения или даже некоторого повышения численности клещей.

Проведенные исследования расширяют современные представления по изучению фаунистического комплекса, географического распространения

и экологии иксодовых клещей некоторых зон низовья Днестра, ранее не исследуемых, а также влияние антропогенных факторов на жизнедеятельность клещей, и их видовой состав. Дальнейшие исследования будут направлены на продолжение учета численности и мониторинга иксодид и выявление их роли как переносчиков различных трансмиссивных микроорганизмов на изучаемой территории.

Список литературы

1. *Алексеев А.Н.* Система клещ-возбудитель и ее эмерджентные свойства. СПб.: Зоол. ин-т РАН. 1993, с.11
2. *Балашов Ю.С.* Иксодовые клещи - паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука, 1998, с. 5, 133-141
3. *Большаков В.Н., Пястолова О.А., Вершинина В.Л.* Специфика формирования видовых сообществ животных в техногенных и урбанизированых ландшафтах. Жур. Экология. №5, 2001, с. 343-354
4. *Боян И.* Данные Государственной Гидрометеорологической службы, http://meteo.md
5. *Дубинина Е.В.* Биоразнообразие паразитов кровососущих клещей рода *Ixodes(ACARINA: IXODIDAE)* Северо-Запада России и их возможная роль в регуляции численности беспозвоночных хозяев. Сборник научных работ по материалам Республиканской конференции, Великий Новгород,2000,с. 119-123
6. *Кравченко О.В., Мовилэ А.А.* Видовое разнообразие иксодовых клещей в районах нижнего Днестра. Международная конференция молодых ученых «Биоразнообразие. Экология. Адаптация. Эволюция». Одесса,2013, с. 88-89
7. *Кравченко О.В., Морозов А.К., Тодераш И.К., Мовилэ А.А.* Фенология массовых видов иксодовых клещей в некоторых парковых зонах Молдовы. I Евразийская научно-практическая конференция по пест-менеджменту, Москва, 2013,с. 85-89
8. *Мовилэ А.А.* Генетическое разнообразие иксодовых клещей *Ixodes ricinus* (L) и трансмиссивных микроорганизмов в очагах Республики Молдова. – Кишинев, 2008 г.
9. *Тодераш И.К.,Мовилэ А.А.*Особенности формирования фауны иксодовых клещей *(ACARINA: IXODIDAE)* на территориях с различной антропогенной нагрузкой на примере центральной зоны республики Молдова. Жур. РЭТ-инфо № 4, 2005, с. 11-16
10. *Успенская И.Г.* Основные черты антропогенной трансформации фауны иксодид Днестровско-Прутского междуречья. //Успехи медицинской энтомологии и акарологии в СССР. Материалы X сьезда Всесоюзного энтомологического Общества. 11 - 15 сентября 1989 г. АН СССР, ЗИН, Ленинград, с. 151 -153.
11. *Успенская И.Г.* Иксодовые клещи Днестровско-Прутского междуречья. Кишинев, 1987, с. 144.
12. *Успенская И.Г., Коновалов Ю.Н.* Трансформация клещевых очагов под влиянием антропогенных факторов в условиях Молдавии. Всесоюзная конференция по природной очаговости болезней. Москва, 1984, с. 170 – 171.
13. *Филиппова Н.А.* Иксодовые клещи посем. *Ixodinae*. Л.: Изд-во «Наука», Фауна СССР. Паукообразные. Т. 4. 1977, вып. 4., с. 393

THE SUPERFAMILY APOIDEA (*HYMENOPTERA, APOIDEA*) - POLLINATORS OF CULTIVATED IN MOLDOVA AROMATIC PLANTS

Veniamin Stratan

Institute of Zoology of the Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, Moldova

Rezumat

La 16 specii de plante etero-oleaginoase de cultură au fost înregistrate 84 specii de apoide-polenizatori sălbatice. În lucrare este prezentată descrierea acţiunii condiţiilor biocenozei funcţional-integrale asupra dezvoltării şi menţinerii efectivului speciilor de apoide-polenizatori.

Cuvinte cheie: Apoidea, plante etero-oleaginoase, polenizatori

Depus la redacţie: 11 februarie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Stratan Veniamin, Institutul de Zoologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028, Chişinău, Republica Moldova, tel. +373 22 739821

Introduction

The aromatic plants have been used from the ancient times. During 4 millennia until our era the Egyptians used these plants as spices to make tea, flavored drinks, to perform massages.

In India, Egypt, Ceylon and other ancient centers of civilization developed the industry of obtaining essential oils, which gradually spread throughout the world.

Nowadays essential oils have a wide use in food, medicine, cosmetics, in engineering and in high precision measuring instruments lubrication.

The raw material for obtaining these oils are species of odoriferous plants which can be grown. The number of plants that contain oils and aromatic ethers, include about thousand of species. But among this diversity of species only 10 of them are used in production of essential oils and are cultivated on large surfaces. In the recent past, the plantations of these aromatic plants, in Moldova covered about 16500 ha, representing 7.4% of the area occupied by all the agricultural crops in the country.

In Moldova such plants as: *Salvia sclareia, Lavandula angustifolia*, *Mentha piperata*, *Foeniculum vulgare, Anethum graveolens*, *Coriandrum sativum*, *Dracocephalum moldavica* and *Rosa crimeia* are cultivated on large areas. But the below listed plants are ussually cultivated on smaller areas. They are *Chamomila recutata*, *Sedum acra*, *Achilea coartata*, *Hyssopus officinalis*, *Symphitum officinale*, *Melissa officinalis* and *Hypericum perforatum*.

In present days the development rhythm of cosmetic, medical, alimentary and technical industries that use the essential oils in different spheres has considerable increased.

That is why it is necessary to increase the production of high quality raw material, that can be obtained from the cultivation of the aromatic plants. The cultivation of these plants need profound studies of their biological and ecology, use of performant technologies for their cultivation, along with study and identification of economic important species of insects-pollinators.

Most species of pollinating insects (about 90%) of aromatic plants are the wild bees and honey bees, which belong to the superfamily Apoidea.

The recording of species spectrum and the composition of pollinating Apoidea complexes, studying the role and their efficiency, will help in optimizing and directing them in the pollination of aromatic plants. The results of the research will be applied in practice to prepare recommendations for increasing amount of the harvests and quantitative and qualitative raw material with high content of active ingredients and aromatic plant cultivated.

Materials and methods

Materials included in this work were obtained in the process of the research of Apoidea fauna during the 1987-1994 mainly on the territory of Station of aromatic plant cultivation and partly on sectors with aromatic plants in the Botanical Garden of A.S.M. There were collected 1045 specimens of wild bees and there were revealed the dominant and supradominant species.

Apoidea were collected during the growing seasons using entomological manual method from the flowers of aromatic plants. Collecting samples took 2 hours in the middle of each plantation area with certain species of plant. Each sample was collected from the surface of 10 m^2 during 10 minutes. The samples from the flower sectors of Botanical Garden were collected for 30 min. Species identification of Apoidea was based upon the keys of Osinchiuk, Panfilov and Ponomariova [1].

Results and Discussion

The territory of Station of odoriferous plant cultivation, where the study of Apoidea was performed is located in the south-east of Chisinau, at the periphery. In the southeastern part, this territory is limited by a forest belt and in the south-west it borders the road route, linking the city with the airport and in the east with the road Chisinau-Tighina.

The relief of the territory represents non-homogeneous ground, crossed by many ditches, hollows and hills. Both of these slopes, the edge, the intermittent land of the forest belt and small oases have a definite condition of their exposure – southern and south-western. They are warmed by the sun, becoming favorite places for nesting and colony forming of Apoidea, beneficially contributing at shelters formation, ensuring sustainable colonies' existence.

These colonies have a specific biology, that is characterized by a relatively stable order through combining abiotic and biotic environmental factors. They were mutually adjusted over several years of the Station territory of cultivating aromatic plants existing. This agrosistem's base is formed on the natural stations and the flavoured cultures cultivation. Natural colonies of apoidea represents a necessary component of nature, because it is the source of providing the effective spieces of Apoidea with individuals, that are the main pollinators of all the entomophilous plants of biota.

The diversity of Entomophilous plant species: annual and perennial trees and shrubs that grow on the Station's territory and bloom every year, creates a permanent basis of food during the vegetal season for Apoidea and keeping them in these places.

In early spring in the fields and forests appear the flowers of ephemeral plant species: Cornus mas, Scilla bifolia, Coridalis cava, Oxalis acetosella, and on fallow ground - Primula vulgaris, Crocus hibrides, in April on the river slopes appear some

species of Salix sp. In May, some species of flowering trees: Prunus armenica, Erasius avium, Prunus fructicoza, Pirus malus and some shrub species. Apoidea species that have wintered, collect pollen and nectar from the flowers of these plants, depositing it in the galleries of nests located in the soil and in the cavities of dried stems of herbaceous plants from the previous year and lay eggs which will develop and increase brood up adults of the first generation of wild bees. The result of this process, the number density of effective Apoidea species in colonies increases.

In summer, basic forage for wild bee colonies in the Station territory is the pollen and nectar of the **aromatic** plants. Several species of flavoured plants (sown at different times of the vegetal season) in early June start to bloom at a time until the end of the season. As a result these plants create a specific conveyor for producing pollen and nectar, fully supplying food for Apoidea that simultaneously participates in flavoured plants pollination. Note that all species of wild bees that inhabit the station in the summer develop second generation, and will spend the winter in the larval stage.

The investigation of pollinating Apoidea was performed during several years in the flowering period of cultivated species of plants, by taking samples during the vegetal season from flowers of each species separately. Investigations were subjected to 16 odoriferous plant species (tab. 1).

According to the obtained data, scientists had identified the spectrum of pollinator Apoidea species (84 spieces), that several years visited flavoured plants, cultivated on the Station territory.

Analizing the complexes of Apoidea in acordance with their forming at studied spieces of plants , they can be devided into 4 groups.

First group has a big number of Apoidea species in one complex: *Anethum graveolens* - 29 species; *Coreandrum sativum* - 19 species; *Salvia sclareia* - 18; *Foeniculum vulgare* -18.

The second group has an average number of spieces: *Dracocephalum moldavica* - 13 species; *Camomilla recutata* -12; *Achilea coretata* - 11; *Hyssopus officinalis* - 9.

The third group- a small number of spieces: *Agastache foeniculum*, *Lavandula angustifolia* and *Monarda sp.* have in their complexes 7 spieces of wild bees.

The fourth group of flavoured plants that have formed no complex: *Mentha piperata*, *Sedum acra*, *Anemone sylvestris* and *Ruta graveolens* are visited by 3-4 species of Apoidea.

The variety of viziting grades depends on their adaptation in coevolution process and on the amount and the concentration of ethers in flavoured plants.

In general to 10 spieces of aromatic plants are assigned 84 spieces of Apoidea.

Dominant and subdominant species of Apoide, that populate different places, are the following: *Megachile eritrocerum*, *Halictus quadricinctus*, *H. morbilosus*, *Lasioglossum politum*, *L. malachurum*, *Andrena flavipes*, *A. nitiduscula, A. dorsata, A. nitiduscula, A. chrisosceles, A. hedikae, Bombus lucorum, B. lapidarius, B. terrestris, B. silvarum, B. lucorum*. Among these the superdominant species are: *Bombus lapidarius, B. lucorum, A. flavipes* and *A. nitiduscula*.

Table 1. Apoidea-pollinators of odoriferous plants from the Station of aromatic plant cultivation, Chişinău city

Nr.	Apoid species	Anethum graveolens	Agastache foeniculum o. Kunze	Anemone sylvestris L.	Sedum acrel	Achilea coretata payr	Chamomila recutata (L.) Rauchert	Coreandrum sativum L.	Calamenta nepeta (L.) Savi	Dracocephalum moldavica L.	Foeniculum vulgare Mill.	Hysspopus officinalis L.	Lavandula angustifolia Mill.	Monarda sp.	Mentha piperata L.	Ruta graveolens L.	Salvia sclareia L.	Number of plant species visited by one species of Apoidea
	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	*12*	*13*	*14*	*15*	*16*	*17*	*18*
1	Colletes fodiens Gef.					+												1
2	C. succintus L.					+												1
3	Hylaeus anularis Kby	+																1
4	H. cornuta Smith.	+																1
5	H. minuta F.											+						1
6	H. striaca Först	+																1
7	H. variegata F.	+																1
8	Andrena atrata Fr.	+																1
9	A. alfkenella Perk.	+																1
10	A. bimaculata Kby.	+																1
11	A. chrysosceles Kby.						+	+			+							3
12	A. chysopiga Schensk	+						+										1
13	A. combella Nar						+											1
14	A. dorsata Kby.						+	+			+							3
15	A. enslinella Stök.							+										1
16	A. falsifica Perk						+				+							2
17	A. figurata F. Mor.							+										1
18	A. flavipes F.	2					+	+	+	+	+							6
19	A. floricola Alfken	+				+					+							3
20	A. forsterella Alfken	+																1

Table 1 (Continued)

	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	*12*	*13*	*14*	*15*	*16*	*17*	*18*
21	**A. hedikae Jaeger**							+			+							2
22	**A. hystrix rufilatra Shm.**										+							1
23	**A. impunctata Péres**										+							1
24	**A. lepida Schenck**	+									+							2
25	**A. minutula Kby.**	+						+			+							3
26	**A. minutuloides**	+						+			+							3
27	**A. morawitzi Thomps.**										+							1
28	**A. nanaeformis Nosk.**	+																1
29	**A. nitidiuscula Schenck.**	+						+			+							3
30	**A. propinqua Schenck.**	+									+		+					3
31	**A. saundersella Perk.**	+																1
32	**A. subopaca Nyl.**	+						+										2
33	**A. tibialis Kby.**				+			+										2
34	**A. trimerana Kby.**	+																1
35	**A. tringa War.**							+			+							2
36	**Halictus euri-gnathus Blüt.**					+	+	+		+								4
37	**H. geminatus Rossi**					+												1
38	**H. kessleri Bramson**											+						1
39	**H. maculatus Smith**	+				+	+	+		+					+	+		7
40	**H. morio F.**																+	1
41	**H. quadricinctus F.**	+				+	+		+				+					5
42	**H. saioi Blüthgen**																+	1
43	**H. scabiose Rossi**													+				1
44	**H. sexcinctus F.**								+									1
45	**H. subauratus Rossi**					+	+											2

Table 1 (Continued)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
46	H. tumulorum L.											+						1
47	H. varipes F. Mor											+						1
48	Lasioglossum calceatum Sc.	+													+		+	3
49	L. laticeps Schenck																+	1
50	L. leucozonium Schrenck									+								1
51	L. linearis Schenck					+	+											2
52	L. lucidulum Schenck			+														1
53	L. malachurum Kby.					+	+	+		+								4
54	L. morbilosus Kby.									+								1
55	L. nigripes Lep.																+	1
56	L. politum Schenck	+						+				+		+				4
57	L. trichopigum Blüt.						+							+			+	3
58	L. tricinctus Schenck																+	1
59	L. xantopum Kby.					+												1
60	L. setulosus Rossi																+	1
61	Sphecodes pellucidus Smit															+		1
62	S. monilicornis Kby.	+																1
63	Megachila euri-cetorum Lep.																+	1
64	Melitta leporina Pz.														+			1
65	Chalcodoma ponticum Alfken								+								+	2
66	Anthidium mon-tanum F. Mor.								+								+	2
67	Hoplitis bi-dentata F. Mor.											+						1
68	H. parvura Duf. et Perez.	+						+										2
69	Nomada diversipes Latr.											+						1

Table 1 (Continued)

	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	*12*	*13*	*14*	*15*	*16*	*17*	*18*
70	**N. flavopicta Kirby.**										+							1
71	**N. mutica Nock**							+										1
72	**N. zonata Pz.**	+																1
73	**Heliophila bimaculata Alf.**		+						+	+		+	+				+	6
74	**Habropoda tarsata Spin.**																+	1
75	**Eucera chriso-pyga Peréz.**																+	1
76	**Xilocopa valga L.**										+							1
77	**Bombus hortorum L.**				+					+								2
78	**B. lapidarius L.**	+	+		+				+	+		+	+	+			+	9
79	**B. lucorum L.**	+	+	+	+				+	+	+		+	+		+	+	11
80	**B. maculidorsis Skor.**		+							+								2
81	**B. ruderatus F.**		+											+				2
82	**B. silvarum L.**		+	+					+					+			+	5
83	**B. terrestris L.**		+						+	+			+				+	5
84	**B. muscorum L.**									+			+		+			3
No of apoid species vs plant species		29	7	3	4	11	12	19	10	13	18	9	7	7	4	3	18	
Collecting period		22.VI-21.VII	28.VII-24.VIII	28.VII	23.VI-1.VII	7.VI-28.VII	7.VI	10.VI-6.VII	6.VII-24.VII	9.VIII-24.VIII	8.VI-24.VII	5.VII	22.VI-28.VII	5.VII	9.VIII	28.VI	29.V-5.VII	

For keeping the relative stability of the species spectrum of wild bees that pollinate all the entomophilous plants and for optimizing their division process, we suggest the following measures for protection of natural resources and complexes:

1. To improve the forest composition by planting trees, bushes and nectar giving plants that are missing. These will contribute in increasing insects diversity and number.
2. Keeping steppe fallow areas close to the ditches, hollows. They will help in avoiding erosions and will serve as places for forming wild bee colonies and pollinators attracted.
3. Integrate implementation of plants protection with minimalization or exclusion of toxic substances by use of agrotechnical and biological methods.
4. Locating the sown fields near the natural and artificial stations with slopes that are tipped to the south and southwestern exposure, where during several years exist colonies of wild bees.

The collected species of Apoidea, identified by us are kept the Museum of Institute of Zoology, Academy of Sciences of Moldova.

Conclusions

1. The information presented in this work represents a scientific novelty in studying the Apoidea fauna - pollinators of **aromatic** plants cultivated in Moldova.
2. In the Republic of Moldova for the first time was studied the fauna of apoid-pollinators of 16 species of cultivated **aromatic** plants, being identified 84 species of wild bees.
3. It was established the formation of apoid-pollinators complexes of each cultivated plant species and the dominant and subdominant bee species were emphasized.

References

1. Осычнюк А.З., Панфилов Д.В., Пономарева А.А. Определитель насекомых Европейской части СССР. Т.3. Перепончатокрылые. Л. Наука, 1978. Стр. 279-519.

CHARACTERISTICS OF IDENTIFIED MORPHOLOGY OF GENUS *SCHISTURA* MCCLELLAND, 1838 IN THE GIANH RIVER BASIN FROM VIETNAM

Ho Anh Tuan

Vinh University, Nghe An province, Vietnam

Rezumat

Genul *Schistura* McClelland, 1838 este reprezentat de 193 specii, dintre care 29 specii sunt răspândite, cu precădere, în sectoarele superioare ale râurilor din Vietnam. În urma studiului au fost supuse analizei 248 exemplare a genului *Schistura* McClelland, 1838 capturate în bazinul r. Giahn, Vietnam. S-au identificat 4 specii: *Schistura finis* Kottelat, 2000; *Schistura hingi* (Herre, 1934); *Schistura kottelati* Tuan et al, 2015; *Schistura pervagata* Kottelat, 2000. Două specii: *Schistura finis* Kottelat, 2000 и *Schistura kottelati* Tuan et al, 2015 sunt semnalate în premieră.

Cuvinte-cheie: ihtiofauna, biodiversitate, caractere morfometrice, ecosisteme acvatice.
Depus la redacţie: 26 octombrie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Ho Ahn Tuan, Universitatea de Stat din Moldova, str. Alexe Mateevici 60, MD-2009 Chişinău, Republica Moldova; e-mail: hoanhtuan18@gmail.com ; tel. (+373) 68 347 121

Introduction

According to Maurice Kottelat (2012), Genus *Schistura* McClelland, 1838 consists 193 species, in which 29 species mainly distribute in the upper small parts of stream and rivers in Vietnam. In all studies of genus *Schistura* McClelland, 1838 mentioned that their species are mainly endemic and limited distribution, rare species in common distribution [8, 1]. In the Gianh river basin, different studies of genus *Schistura* McClelland, 1838 showed different species composition results, such as Nguyen Thai Tu at al (1999) reported 2 species: *Schistura fasciolata* and *Schistura incerta* [12]; Nguyen Thai Tu & Ho Anh Tuan (2003) showed 2 species: *Schistura fasciolata, Schistura incerta* and 18 phenol. And Ngo Sy Van & Tran Anh Tuan (2003) indicated 3 species: *Schistura caudofurca*, *Schistura fasciolata*, *Schistura incerta* and 1 phenol [13]. In the mainstream of Gianh River, Mai Thị Thanh Phuong et al indicated 7 species: *Schistura aramis*, *Schistura huongensis*, *Schistura carbonaria*, *Schistura psittacula*, *Schistura hingi, Schistura susannae, Schistura fasciolata* and 1 phenol [11]. Moreover, Freyhof & Serov (2011) pointed that 2 species of this genus in the Gianh river: *Schistura hingi* and *Schistura pervagata* [1]. Due to these different results genus *Schistura* McClelland, 1838 of ichthyoslogists, we have already exchanged specimens and anlysed data with Maurice Kottelat and Freyhof to solve problem. From that condition, we strengthen to research the project "Characteristics of identified morphology of genus *Schistura* McClelland, 1838 in the Gianh river basin from Vietnam"

Material and methods

Fish specimens were collected mainly from fishing men in these survey regions. Fishing tools are fishnets, rackets, casting – net, multi size fishing – rods and also professional tools of fish men such as: fishing basket, fishing traps, etc. Some other specimens was bought from local people. All samples were given full information in field trip diary, sampling notes, taking pictures and fixed with formaline 8- 10% and reserving with formaline 5% in Animal Laboratory of Department of Biology, Vinh University.

Note of figure 1: A: Standard length; B: Total length; C: Dorsal head length; D: Lateral head length; E: Predorsal length; F: Pre-pelvic length; G: Pre-anus length; H: Preanal length; K: Head depth (at eye); L: Head depth (at nape); M: Body depth; N: Depth of caudal peduncle; O: Length of caudal peduncle; I: Snout length; Q: Head width (at nares); R: Body width (dorsal origin); S: Body width (anal origin); T: Eye diameter; U: Interorbital width; V: Height of dorsal fin; Z: Length of upper caudal lobe; W: Depth of anal fin; X: Length of pelvic fin; Y: Length of pectoral fin; CC: Barbel length; AA: Lateral head length; BB: Not lateral head length.

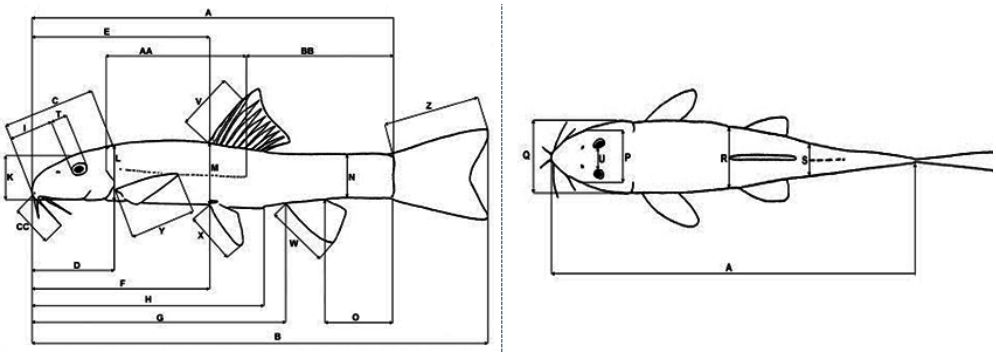


Figure 1. Measurements taken on *Schistura* species by Maurice Kottelat.

Results and discussion

By the time of sample collection, indentification, and exchange specimens and thankful helps of Maurice Kottelat and Freyhof, we have already indentified 4 species of genus *Schisturs* McClelland, 1838 in the Gianh river basin from Vietnam. They are discribed in morphological characteristics as below

2.1. *Schistura finis* Kottelat, 2000 (n = 86)

Diagnosis

Distinguished from all other species of the genus in Southeast Asia by the following combination of characters: body and head massive, cylindrical; snout blunt; cheeks slightly swollen in individuals larger than about 80 mm SL; no median notch in upper lip; lower lip with a median incision; lower jaw with a median notch. (Figure 2, Table 1)

Table 1. Morphometric data of *Schistura finis* & *Schistura hingi.*

Morphometric data	*Schistura finis* (n = 86)				*Schistura hingi* (n = 64)			
In percents of SL	Mean	Min	Max	SD	Mean	Min	Max	SD
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*
Total length	120.5	119.8	121.2	0.7	120.4	118.7	123.4	1.7
Dorsal head length (HL)	19.5	19.1	20.0	0.4	22.0	21.1	23.7	0.8
Lateral head length	21.9	21.7	22.1	0.2	24.4	23.8	25.0	0.4
Predorsal length	53.3	52.2	54.3	1.0	53.6	51.3	55.7	1.3
Pre-pelvic length	51.3	51.2	51.4	0.1	54.6	53.7	56.3	1.1
Pre-anus length	68.2	67.5	69.0	0.8	69.3	67.6	72.6	1.6
Preanal length	77.4	77.1	77.7	0.3	79.1	77.2	82.5	1.7
Head depth (at eye)	9.6	9.5	9.8	0.2	11.4	10.6	12.4	0.6
Head depth (at nape)	12.2	11.9	12.5	0.3	13.9	12.6	14.7	0.8
Body depth	17.9	16.8	18.9	1.0	18.0	15.2	20.9	2.0
Depth of caudal peduncle	11.9	11.4	12.3	0.5	15.0	12.8	17.2	1.6
Length of caudal peduncle	17.4	17.0	17.7	0.4	14.8	13.5	15.8	0.8
Snout length	9.4	9.3	9.6	0.2	11.6	11.1	12.2	0.4

Table 1 (Continued)

1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*
Head width (at nares)	10.1	10.0	10.1	0.0	13.3	10.9	14.8	1.2
Maximum head width	14.9	14.7	15.1	0.2	16.7	15.2	18.7	1.2
Body width (dorsal origin)	11.9	11.6	12.2	0.3	14.5	12.1	16.7	1.5
Body width (anal origin)	7.3	7.0	7.6	0.3	9.0	7.6	10.3	0.9
Eye diameter	3.9	3.6	4.2	0.3	4.2	3.7	4.9	0.4
Interorbital width	6.2	5.9	6.5	0.3	7.7	6.9	8.9	0.7
Height of dorsal fin	18.2	18.0	18.4	0.2	20.7	19.2	21.7	0.9
Length of upper caudal lobe	20.0	19.9	20.2	0.1	21.8	19.9	23.2	1.3
Length of lower caudal lobe	20.2	19.4	21.1	0.8	21.5	18.8	23.7	1.7
Length of median caudal rays	16.2	16.1	16.3	0.1	16.8	15.7	17.5	0.6
Depth of anal fin	15.6	14.9	16.2	0.7	16.7	15.9	18.0	0.7
Length of pelvic fin	15.2	14.7	15.6	0.5	17.3	16.1	18.6	1.0
Length of pectoral fin	18.2	17.5	19.0	0.7	19.5	17.9	21.2	1.2
Barbel length	7.2	6.6	7.8	0.6	8.4	7.0	9.7	1.0
In percents of HL								
Lateral head length	112.0	108.4	115.5	3.6	110.6	103.6	115.4	4.1
Head depth (at eye)	49.2	48.9	49.6	0.3	52.0	50.2	56.5	2.1
Head depth (at nape)	62.3	62.1	62.5	0.2	62.9	57.0	66.6	3.2
Body depth	91.7	84.3	99.1	7.4	81.5	68.8	92.3	7.5
Snout length	48.3	48.0	48.7	0.3	52.6	50.1	55.0	1.6
Head width (at nares)	51.6	50.3	53.0	1.3	60.1	49.2	64.0	5.2
Maximum head width	76.2	75.6	76.8	0.6	75.9	69.0	79.9	3.9
Eye diameter	19.8	18.8	20.8	1.0	18.9	17.1	22.1	1.8
Interorbital width	31.8	29.3	34.2	2.5	35.1	31.2	37.7	2.7
Height of dorsal fin	93.3	92.2	94.5	1.2	94.1	87.8	100.1	4.7
Depth of anal fin	79.6	77.9	81.3	1.7	75.8	71.7	82.7	3.7
Length of pelvic fin	77.5	76.9	78.2	0.6	78.7	70.9	85.5	6.1
Length of pectoral fin	93.3	91.6	95.0	1.7	88.5	81.3	97.0	6.0
Barbel length	37.0	33.1	40.8	3.9	38.0	31.8	45.8	5.0

Colour pattern

Body greyish brown with poorly contrasted pattern in adults. Body with about 12 - 15 bars between dorsal-fin origin and caudal fin, additional bars present in front of dorsal-fin but indistinct, except upper extremities which do not reach dorsal midline but form two series of dark blotches parallel to dorsal midline or sometimes fused to form two stripes. Bars thinner than interspaces, usually irregularly shaped and organised in individuals 60 - 70 mm SL, quite regular above this size. Black bar at caudal-fin base more or less complete, with posterior projection at lower extremity, curved forward at upper extremity. Dorsal-fin base with a black spot anteriorly, followed by a hyaline patch

and a low elongate grey blotch. Caudal fin orange in life, with a red patch occupying from a few rays to most of upper lobe. In specimens about 30 - 50 mm SL, a series of very narrow bars on side, not reaching dorsal midline. In front of dorsal-fin origin, a longitudinal series of small irregular blotches on each side of dorsal midline.

Figure 2. ***Schistura finis*** **Kottelat, 2000.**

2.2. ***Schistura hingi*** **(Herre, 1934) (n = 64)**

Diagnosis

The species identified here as *Schistura hingi* is distinguished from the other species of the genus in Vietnam by the combination of the following characters: 11 - 15 (mean 13) regular dark bars on body wider than interspaces; a complete black bar at caudal-fin base; predorsal back and belly densely covered with scales; lateral line complete; 8½ dorsal-fin rays; 9 + 8 branched caudal-fin rays; 8 pelvic rays; axillary pelvic lobe not reduced and not laterally fused with body; pelvic-fin origin below simple or first branched dorsal-fin ray; caudal peduncle 0.82 - 1.2 (mean 1.0) times longer than deep; lateral head length 103.6 – 115.4% HL (mean 110.6); median caudal-fin ray 71.8 - 83.2% HL (mean 76.6) of length of upper caudal-fin lobe; interorbital distance 31.2 – 37.7 % HL (mean 35.1); slender processus dentiformis and long barbels (outer rostral barbel 31.8 – 45.8 % HL (mean 38.0). (Figure 3, Table 1)

Colour pattern

Body yellowish-brown or grey, with 10 – 16 (mean 13) bars wider than interspaces, 2 – 4 (mean 3) predorsal, 2 – 3 dorsal and 3 – 6 postdorsal bars. Predorsal bars wider than postdorsal bars in most specimens. Some bars incomplete. Most bars meeting their homologues on back. Bars at anus and posterior to it usually meeting on ventral midline. Predorsal and dorsal parts of body not darker in adult specimens, and bars on anterior part of body remaining distinct in all adult specimens. Head dark brown with bright ventral side. No marbling or spots on head. A dark inner axial stripe faint and indistinct in most specimens, absent in life. A complete black bar at caudal-fin base, not reaching dorsal and ventral midlines. A black spot at base of simple and branched dorsal-fin rays 1-2, and another elongated dark marking at base of branched rays 4 - 8. A yellow spot at base of branched rays 2 - 3, sometimes embedded by surrounding dark marking. Dorsal-fin membranes hyaline, rays hyaline proximally with dark pigments. Caudal fin with hyaline membranes and dark rays. Some specimens with orange or red margins of upper and lower caudal-fin lobes. In small specimens, two vertical rows of spots on posterior half of caudal-fin rays. Other fins yellow or hyaline, with dark rays. Inner rostral barbel dark with white tips; outer rostral barbel dark grey and maxillary barbel whitish.

Figure 3. *Schistura hingi* (Herre, 1934).

2.3. *Schistura kottelati* Tuan et al, 2015 (n = 28)

Diagnosis

Schistura kottelati is distinguished from the other species of genus *Schistura* known from Vietnam and adjacent basins in Laos by the unique combination of the following characters: lateral line incomplete, reaching vertical of dorsal fin. a short caudal peduncle and tapered length 12.8 - 16.9 % SL (mean 14.8), depth 1.2 - 1.7 times in its length), a large eye 4.7 - 6.2% SL (mean 5.47), a large interorbital width 9.1 - 11.7 % SL (mean 10.1). (Figure 4, Table 2)

Table 2. Morphometric data of *Schistura kottelati* & *Schistura pervagata.*

Morphometric data	*Schistura kottelati* (n = 28)				*Schistura pervagata* (n = 70)			
In percents of SL	Mean	Min	Max	SD	Mean	Min	Max	SD
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*
Total length	126.1	122.9	128.7	1.69	121.7	115.7	123.8	2.0
Dorsal head length (HL)	23.1	21.1	25.7	1.12	21.1	19.4	23.1	1.1
Lateral head length	26.9	25.2	28.8	0.96	23.3	21.5	25.0	1.0
Predorsal length	57.4	56.1	58.6	0.75	52.7	49.8	56.4	1.7
Pre-pelvic length	56.5	51.1	58.5	1.77	53.1	48.3	56.0	1.9
Pre-anus length	72.0	69.3	74.3	1.66	68.0	64.2	71.2	1.7
Preanal length	78.5	76.8	80.5	1.12	77.6	73.1	82.3	2.1
Head depth (at eye)	13.0	11.4	16.5	1.41	10.4	9.4	11.5	0.6
Head depth (at nape)	15.9	14.7	16.9	0.67	12.6	11.4	14.3	0.7
Body depth	17.5	16.4	18.9	0.75	16.5	14.3	18.6	1.2
Depth of caudal peduncle	10.8	8.0	11.7	0.88	13.5	11.8	16.1	1.0
Length of caudal pedun-cle	14.8	12.8	16.9	1.17	15.4	13.3	17.2	0.9
Snout length	9.5	8.3	10.2	0.59	10.5	9.3	11.7	0.7
Head width (at nares)	10.2	9.2	11.0	0.55	11.3	9.8	13.9	1.2
Maximum head width	17.6	16.6	19.1	0.61	14.7	13.2	17.1	0.9
Body width (dorsal origin)	13.4	12.2	15.1	0.80	12.5	10.7	14.6	1.1

Table 2 (Continued)

Body width (anal origin)	8.7	7.8	9.9	0.60	7.9	5.9	9.6	1.1
Eye diameter	5.5	4.7	6.2	0.38	4.3	3.5	5.1	0.4
Interorbital width	10.1	9.1	11.7	0.64	7.0	5.6	8.6	0.8
Height of dorsal fin	19.1	17.3	21.5	1.24	20.0	17.3	22.3	1.2
Length of upper caudal lobe	25.1	23.2	28.5	1.34	21.9	20.0	24.4	1.2
Length of lower caudal lobe	24.4	22.2	26.3	1.31	22.1	19.5	23.9	1.1
Length of median caudal rays	16.8	14.8	19.0	1.26	17.3	15.8	19.2	1.1
Depth of anal fin	16.6	14.6	18.9	1.09	16.6	14.4	18.3	0.9
Length of pelvic fin	14.7	12.8	16.3	1.07	17.0	15.2	18.4	0.9
Length of pectoral fin	20.5	16.9	22.3	1.28	19.1	17.9	20.8	1.0
Barbel length	16.1	14.9	17.6	0.91	8.2	6.8	9.6	0.8
Lateral head length	116.5	110.7	123.7	4.36	110.4	103.7	117.8	3.0
Head depth (at eye)	56.5	49.1	70.9	6.99	49.4	44.3	53.0	2.4
Head depth (at nape)	69.0	61.9	75.2	3.49	59.8	54.6	66.5	2.7
Body depth	75.9	67.7	89.6	5.34	78.1	62.6	86.9	5.8
Snout length	41.4	35.3	45.9	5.53	49.6	45.6	54.6	2.6
Head width (at nares)	44.3	38.2	48.9	5.11	53.6	43.0	65.9	5.8
Maximum head width	76.4	70.3	84.0	3.68	69.6	59.7	75.8	4.6
Eye diameter	23.7	21.5	27.0	2.72	20.6	16.4	23.5	1.7
Interorbital width	43.9	35.4	49.0	4.10	33.4	25.1	38.6	3.6
Height of dorsal fin	82.7	73.4	94.2	5.20	94.9	86.7	104.9	5.3
Depth of anal fin	72.0	60.9	83.2	3.62	78.5	69.9	84.7	4.1
Length of pelvic fin	64.0	53.5	75.2	1.56	80.5	73.9	85.8	3.3
Length of pectoral fin	89.2	70.4	99.3	3.41	90.7	81.3	100.3	4.6
Barbel length	69.8	62.2	78.6	5.95	39.1	30.2	48.2	4.2

Colour pattern

Freshly preserved specimens: body sides brownish, darker color on the dorsal side and lighter on belly. The color of specimen become white after a few days preserved in formalin. Dorsal midline covered by a quite thick and yellow stripe from posterior of head, via dorsal-fin base, to caudal-fin base. Head laterally somehow purplish without any kind of pigmentation or patterns. Caudal base with a thin and faint dark bar, thicker at upper and lower extremities, very weak in middle area and not reaching dorsal and ventral midlines. Fins hyaline , without pigments on rays and membranes.

Juveniles: overall coloration as mature individuals but a series of dark blotches on flanks, varying in number (3 - 7) and shape. Particularly, in some juveniles, a chain of tiny black dots along lateral line and dorsal midline.

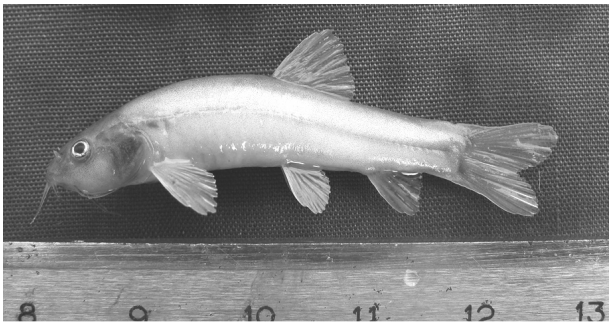


Figure 4. ***Schistura kottelati*** **Tuan et al, 2015.**

2.4. ***Schistura pervagata*** **Kottelat, 2000 (n = 70)**

Diagnosis

Distinguished from all other species of the genus in Southeast Asia by the following combination of characters: lateral head length 21.3 – 25.0 % SL (mean 23.3); predorsal distance 49.8 - 56.4 % SL (mean 52.7); prepelvic distance 48.3 - 56.0 % SL (mean 53.1); body depth 14.3 - 18.6 % SL (mean 16.5); caudal peduncle length 13.3 – 17.2 % SL (mean 15.4); depth 11.8 – 16.1 % SL (mean 13.5); 0.82 - 1.42 (mean 1.15) times in length; no median notch or only very shallow notch in upper lip; a median incision in lower lip; no median notch in lower jaw; cheeks swollen in specimens larger than 70 mm SL. (Figure 5, Table 2)

Colour pattern

Top of head vermiculated. Body with 8 - 13 bars, as wide as or wider than interspaces, from quite regular to irregularly shaped and organised, but usually very few incomplete or branched bars. In predorsal area, bars either continuous across back, alternating or dissociated into small blotches.

Black bar at caudal-fin base more or less complete, usually not reaching dorsal and ventral midlines, often with posterior projections at upper and lower extremities. Dorsal-fin base with black spot anteriorly, followed by a pale patch and a low, elongate grey blotch.

Figure 5. ***Schistura pervagata*** **Kottelat, 2000.**

Conclusion

Analysis and identification of 248 specimens of genus *Schistura* McClelland, 1838 in the Gianh river basin from Vietnam. We have classified four species: *Schistura finis* Kottelat, 2000; *Schistura hingi* (Herre, 1934); *Schistura kottelati* Tuan et al, 2015; *Schistura pervagata* Kottelat, 2000. Which has species: *Schistura finis* Kottelat, 2000

& *Schistura kottelati* Tuan et al, 2015 was first discovered in the in the Gianh river basin from Vietnam.

References

1. *Freyhof J., D.V. Serov*. Nemacheiline loaches from Central Vietnam with descriptions of a new genus and 14 new species (Cypriniformes: Balitoridae). //Ichthyol. Explor. Freshwat. 2001. 12 (2). p. 133 - 191.

2. *Ho Anh Tuan, Hoang Ngoc Thao, Ngo Xuan Quang. Schistura kottelati*, a new species of loach from Phong Nha - Ke Bang National Park, central Vietnam (Teleostei: Nemacheilidae). Ichthyol. Explor. Freshwat. (Publishing).

3. *Kottelat M.* Indochinese nemacheilines. A revision of nemacheiline loaches (Pisces: Cypriniformes) of Thailand, Burma, Laos, Cambodia and southern Viet Nam. Pfeil, München. 1990. p. 262.

4. *Kottelat M.* Fishes of the Nam Theun and Xe Bangfai basins, Laos, with diagnoses of twenty-two new species (Teleostei: Cyprinidae, Balitoridae, Cobitidae, Coiidae and Odontobutidae). Ichthyological Exploration of Freshwaters. 1989. p. 1 - 128.

5. *Kottelat M*. Diagnoses of a new genus and 64 new species of fishes from Laos (Teleostei: Cyprinidae, Balitoridae, Bagridae, Syngnathidae, Chaudhuriidae and Tetraodontidae). //Journal of South Asian Natural History. 2000. Vol. 5. p. 37 - 82.

6. *Kottelat M*. Freshwater fishes of northern Vietnam. A preliminary check-list of the fishes known or ex pected to occur in northern Vietnam with comments on systematics and nomenclature. World Bank, Washington, iii + 140 pp., 15 pls. 2001.

7. *Kottelat M.* Fishes of Laos. WHT Publications. Colombo. 2001. p. 198.

8. *Kottelat M*. Conspectus Cobitidum: an inventory of the loaches of the world (Teleostei: Cypriniformes: Cobitoidei). Raffles Bulletin of Zoology, Supplement. 2012. Vol. 26. 1 - 199.

9. *Kottelat M. & C. Leisher.* Fishes from Phuong Hoang cave, northern Vietnam, with description of a new species of loach (Teleostei: Nemacheilidae). //Ichthyological Exploration of Freshwaters. 2012. Vol. 23: 237 - 244.

10. *Mai Dinh Yen.* Identification of freshwater fishes of northern Viet Nam. Science & Technics Publishing House, Ha Noi. 1978. 339 pp.

11. *Mai Thi Thanh Phuong, Nguyen Van Giang, Hoang Xuan Quang, Nguyen Huu Duc.* Additional data to species composition of fishes in Gianh river, Quang Binh province. Agriculture Publishing House, Hanoi. 2011. p. 265 - 273.

12. *Nguyen Thai Tu, Le Viet Thang, Nguyen Xuan Khoa.* Fish fauna of Phong Nha - Ke Bang. Publishing House, Hanoi National University. 1999. p. 22 – 23

13. *Nguyen Thai Tu, Ho Anh Tuan.* Conservation of unique and valuable fish diversity in Phong Nha- Ke Bang Limestone Mountains. ARCBC Regional Research Grant Conference Bangkok. Thailand. 2003.

14. Nguyen Van Hao. Freshwater fishes of Vietnam. Agriculture Publishing House Hanoi. 2005. Vol. 2. p. 759.

15. *Nguyen Xuan Khoa, Nguyen Huu Duc*. A new species of genus *Schistura* from Pu Mat National Park, Nghe An province, Vietnam. //Journal of Biological. 2007. Vol. 29 No. 2. p. 17 - 21.

16. *Ngo Sy Van, Pham Anh Tuan.* Preliminary result the study fish fauna Phong Nha Ke Bang National Park Limestone. Agriculture Publishing House Hanoi. 2003. p. 573 - 583.

17. *Prokofiev A. M.* Morphological Classification of Loaches (Nemacheilinae). Pleiades Publishing. //Journal of Ichthyology. 2010. Vol. 50. No. 10.p. 827 - 913.

MICROBIOLOGIA ŞI BIOTEHNOLOGIA

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 2-FORMYLPYRIDINE N(4)-ALLYL-3-SELENO-SEMICARBAZONE AND ITS COPPER COORDINATION COMPOUND

Graur Vasilii[1], Garbuz Olga[1], Zariciuc Elena[2], Gudumac Valentin[2], Gulea Aurelian[1]

[1]State University of Moldova
[2]State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu"

Rezumat

Această lucrare prezintă sinteza N(4)alil-3-selenosemicarbazonei 2-formilpiridinei, care a fost studiată folosind spectroscopia RMN (^{1}H şi ^{13}C). A fost sintetizat compusul complex de clorură de cupru(II) cu acest ligand. Pentru compuşii sintetizaţi a fost studiată activitatea biologică. Aceste substanţe manifestă activitate bacteriostatică şi bactericidă împotriva unui şir de bacterii gram-pozitive, gram-negative şi fungi în intervalul de concentraţii 0.7-500µg/mL. Activitatea compusului complex de cupru împotriva microorganismelor gram-negative este mult mai mare decît cea a ligandului. Proprietăţile antioxidante ale selenosemicarbazonei sintetizate depăşesc proprietăţile antioxidante ale complexului. Compuşii sintetizaţi de asemenea inhibă proliferarea celulelor canceroase MeW-164, HL-60 şi HeLa.

Cuvinte cheie: selenosemicarbazone, complecşi de cupru, activitate antimicrobiană, activitate antioxidantă, activitate anti-cancer

Depus la redacţie 29 iulie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Vasilii Graur, Universitatea de Stat din Moldova, str. A. Mateevici, 60, MD-2009 Chişinău, Republica Moldova; E-mail: *vgraur@gmail.com*; tel. (+373 22)59-71-68

Introduction

Despite advances in the sphere of new drug synthesis, the synthesis of new substances with high biological activity remains an actual problem of modern chemistry. In recent years coordination compounds of biometals with thiosemicarbazones have been actively researched for solving this problem [2, 9, 11, 16].

From the literature source it is known that in many cases enhancement of biological activity is observed when going from thiosemicarbazones to the corresponding selenosemicarbazones [1, 3]. Therefore, the aim of this work was the synthesis and study of biological properties of 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-seleno-semicarbazone and it copper(II) coordination compound.

Materials and methods

General

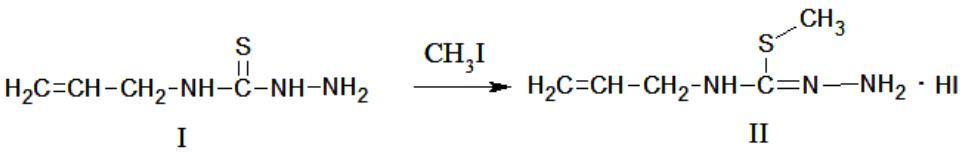
All commercially available reagents and chemicals were of analytical- or reagent-grade purity and used as received. The ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of the ligand were determined in DMSO-d^6 at room temperature using Bruker DRX-400 spectrometer. All chemical shifts (^{1}H, ^{13}C) are given in ppm versus $SiMe_4$.

Quantitative analysis on copper was made using titration method. Classic methods were applied for C, H and N elemental analyses. Melting point of the ligand was measured using capillary method. Molar conductivity value was determined in 10^{-3}mol/L methanol solution using slidewire bridge R-38.

2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemicarbazone (H_2L) synthesis

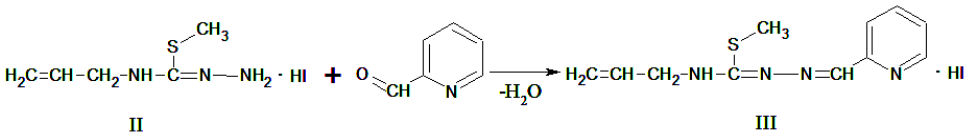
The synthesis of 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemicarbazone was performed starting with N(4)-allyl-3-thiosemicarbazide that was obtained by the reaction between allyl isothiocyanate and hydrazine hydrate as described below [15]. For substitution of sulfur atom by a selenium atom it was used general method [6, 7], but with some modifications.

At first, N(4)-allyl-3-thiosemicarbazide was alkylated using iodomethane. Iodomethane (1.56g, 11mmol) was added to the ethanolic solution of N(4)-allyl-3-thiosemicarbazide (1.31g, 10mmol). The resultant mixture was magnetically stirred at room temperature for 2h.



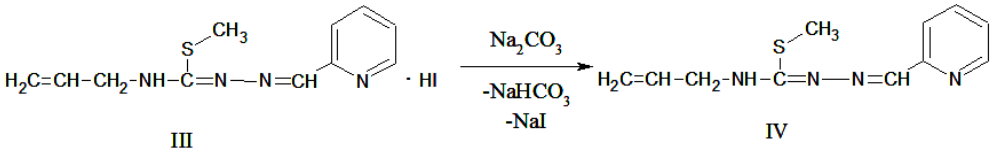
Scheme 1. The reaction of alkylation

After that 2-formylpyridine (1.07g, 10mmol) was added to the reaction mixture. The reaction mixture was heated and stirred for 40min on a magnetic stirrer. After cooling, the yellow precipitate of the synthesized substance appeared. It was filtered out from the solution and dried.



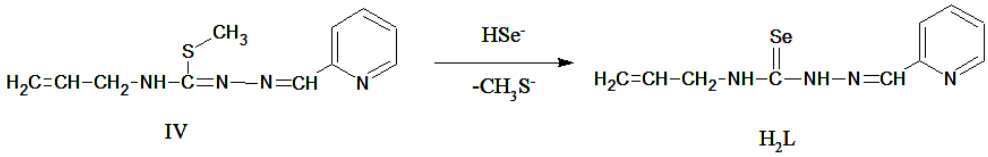
Scheme 2. The reaction of condensation.

The filtered substance (III) was dissolved in ethanol. Aqueous solution of equimolar amount of sodium carbonate was added in order to neutralize hydroiodide.



Scheme 3. The reaction of hydroiodide (III) neutralization.

The resultant substance (IV) was extracted into chloroform. On the last step S-methyl group was substituted by selenium atom.



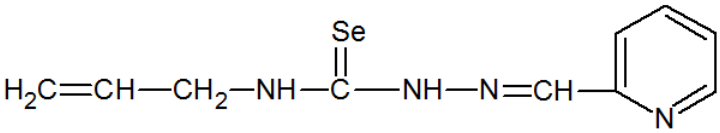
Scheme 4. The reaction of S-methyl group substitution.

The solution of sodium hydrogen selenide was prepared by combining selenium powder (0.119g, 1.5mmol) with sodium borohydride (0.151, 4.0mmol) in ethanol under argon. After that, a single portion of ethanolic solution of substance (IV) (0.234g, 1.0mmol) in ethanol was added to the solution of sodium hydrogen selenide. The resultant solution was stirred and heated for 30 hours. The product was extracted into chloroform. After distillation, the orange powder of 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemicarbazone (H_2L) was obtained. Its purity was proved by melting point and NMR spectroscopy (^1H and ^{13}C).

Melting point: 210-212^{0}C

^1H NMR (DMSO-d^6, δ (ppm)): 12.07 (br, 1H, NH); 9.28 (br, 1H, NH); 8.59 (d, CH aromatic); 8.31 (d, CH aromatic); 8.22 (s, 1H, CH=N); 7.90(t, 1H, CH aromatic); 7.44 (t, 1H, CH aromatic); 5.93 (m, 1H, CH from allyl moiety); 5.16 (m, 2H, CH_2=C); 4.33 (m, 2H, CH_2-N).

^{13}C NMR (DMSO-d^6, δ (ppm)): 176.35 (C=Se); 153.16, 149.44, 137.70, 124.94, 121.35 (C aromatic); 143.41 (CH=N); 135.04 (CH from allyl moiety); 116.45 (CH_2=); 48.88 (CH_2-N).



Scheme 5. H_2L ligand.

Synthesis of copper(II) chloride coordination compound with H_2L (Cu(HL)Cl)

Coordination compound Cu(HL)Cl was synthesized by reaction between $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ and H_2L. H_2L (0.267g, 1mmol) was dissolved in 10mL of ethanol. After that the solution of $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (0.171g, 1mmol) in 10mL of ethanol was added to the solution of H_2L. The resultant mixture was heated and stirred on a magnetic stirrer for 40min. After cooling and slow evaporation at room temperature the green precipitate of the synthesized coordination compound appeared. It was filtered out from the solution and dried.

Elemental analysis found for $C_{10}H_{11}ClCuN_4Se$: C, 32.5; H, 3.2; N, 15.5; Cu, 17.1; calculated: C, 32.9; H, 3.0; N, 15.3; Cu, 17.4%. Molar conductivity: 87 $\Omega^{-1} \cdot cm^2 \cdot mol^{-1}$.

Antimicrobial and antifungal activities. Antimicrobial and antifungal activities were tested on a series of standard strains of gram-positive, gram-negative microorganisms and fungi. It was studied in vitro using the method of two-fold serial

dilutions in liquid nutrient medium (meat infusion broth, pH = 7.0). [13] The substances were dissolved in DMSO (dimethylsulfoxide) in such amounts that the solutions of concentration 10 mg/mL were obtained. The next dilutions were made using meat infusion broth.

Antitumor activity. Antitumor activity was tested on a series of tumor cells: human leukemia HL-60 cells, cervical cancer HeLa cells and melanoma MeW-164 cells.

Cell proliferation assay of HL-60 cells. The cell proliferation assay was performed using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) (Cell Titer 96 Aqueous, Promega, USA) [4, 5, 10]

Cell proliferation assay of HeLa cells. Cells were trypsinized Trypsin-ethylenediaminetetraacetic acid (trypsin-EDTA) 0.05% (Invitrogen) and counted under an inverted microscope (OLYMPUS). The cell proliferation assay was performed using resazurin (7-Hydroxy-3H-phenoxazin-3-one-10-oxide sodium salt) (SIGMA), which allowed us to measure the number of viable cells. In brief, plate out, triplicates of 1 x 10^4 cells in a total of 100 µl medium in 96-well microtiter plates (Becton Dickinson and Company, Lincoln Park, NJ, USA) were incubated at 37°C, 2% CO_2. Compounds were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) to prepare the stock solution of 10mM. These compounds and doxorubicin was diluted at multiple concentrations with culture media, added to each well and incubated for 24 hours. Following each treatment, 20 µl resazurin indicator solution was added to each well and incubated for 4 hours. Subsequently, the absorbance was measured at 570 nm and 600nm by imaging hybrid reader (Synergy H1, Biotek).

Cell proliferation assay of MeW-164 cells. Human melanoma cells line MeW-164, passage 45 was used. They were derived from melanoma cell line collection established in culture from melanoma metastases, surgically removed from patients in the Warsaw Cancer Center. Human melanoma cells were routinely grown in suspension in 90% EAGLE (MEM) (Biomed-Lublin) containing L-glutamine and supplemented with 10% foetal bovine serum (FBS, Invitrogen), in culture flasks (CELLSTAR) and incubated at 37^0C in a 5% CO_2 humidified atmosphere.

The experimental substances were dissolved in a physiological saline solution of DMSO (dimethylsulfoxide), in which DMSO concentration did not exceed 1%. The experiment was performed according to the method described by Markowicz S.[8]. Cells were counted by flow cytometry using fluorescence microscope (NucleoCounter® NC-100™) and NucleoCassette with fluorescent dye propidium iodide to determine the total number of cells.

ABTS radical cation scavenging activity. The antioxidant activity by the $ABTS^{\bullet+}$ method was assessed according to the method described by Re et al. [12] with modifications. The ABTS radical was formed through the reaction of $ABTS^{\bullet+}$ solution 7 mM with potassium persulfate solution 140 mM, incubated at 25 °C in the dark for 12–16 h. Once formed, the radical was diluted with acetate buffered saline (0.02M, pH 6,5). Solutions of tested substances in DMSO were prepared. After that, 20 µL of tested solution were transferred in a 96 wells microtitre plate and 180 µL of working solution of $ABTS^+$ were dispensed with dispense module of hybrid reader (Synergy H1, Biotek), shake 15 sec. The decrease in absorbance at 734 nm was measured exactly after 30 min of incubation at 25 °C. All the determination was made in triplicate.

DMSO was used as control. Doxorubicin, trolox and ascorbic acid were used for standards. Ascorbic acid (10 mM) prepared in distilled water for use as a stock standard was used as reference at concentrations ranging from 6,25 to 50 μM. Trolox (2 mM methanolic stock solution) was used as reference at dilution concentrations ranging from 0,1 to 100 μM. Doxorubicin hydrochloride (1mM) prepared in DMSO for use as a stock standard was used as reference at concentrations ranging from 0,01 to 100 μM.

The percentage inhibition was calculated according to the formula: $[(A_0-A_1)/A_0]\times100$, where A_0 was the absorbance of the control, and A1 was the absorbance of the sample.

Results and discussion

The Schiff base H_2L has been prepared by the reaction of substitution of S-methyl group by selenium atom. The structure of H_2L was determined by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy. Coordination compound was prepared by the direct reaction between the ligand H_2L and copper(II) chloride dehydrate in ethanol solution.

In order to find out the biological properties of these substances, their antimicrobial, antifungal, antioxidant, and antitumor activities were studied.

The study of antimicrobial and antifungal activities (table 1) showed that both H_2L and its copper coordination compound possess bacteriostatic and bactericidal activities. The activity of H_2L towards gram-negative microorganisms is less pronounced than towards gram-positive bacteria and fungi. The coordination of H_2L ligand to copper(II) ions results in considerable reduction of minimum inhibitory concentrations and minimum bactericide concentrations towards gram-negative microorganisms.

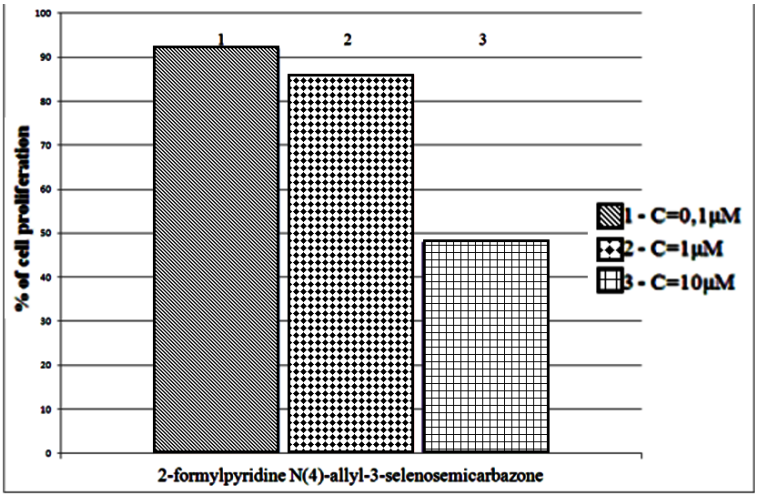
Table 1. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericide concentration (MBC) (μg/mL).

Compound	Escherichia coli		Klebsiella pneumoniae		Staphylococcus aureus		Candida albicans	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
H_2L	500	500	500	500	0.7	1.5	15	15
Cu(HL)Cl	3	3	15	15	0.7	0.7	7	7

The study of antioxidant activity showed that both free ligand and its coordination compound possess antioxidant activities towards ABTS radical cation. The obtained IC_{50} values are 9.1μM for 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemicarbazone and 51μM for its copper(II) chloride coordination compound. The ligand shows much better antioxidant activity that exceeds the activity of Trolox that is used in medical practice as a standard antioxidant [14].

The antitumor activity of synthesized compounds was studied on a series of tumor cells: human leukemia HL-60 cells, cervical cancer HeLa cells and melanoma MeW-164 cells. The proliferation of melanoma MeW-164 cells in presence of H_2L is shown in scheme 6.

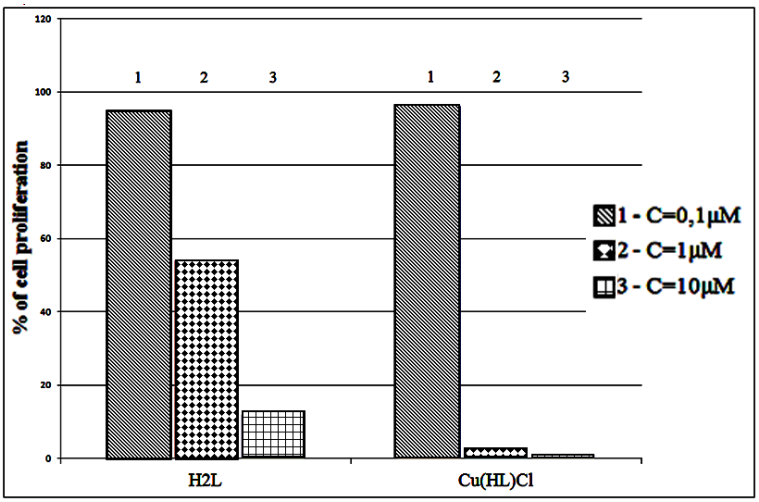
Both free ligand and its copper(II) coordination compound manifest antitumor activity towards HL-60 cells at concentrations 10μM and 1μM. The activity at lower concentration (0.1μM) practically disappears. The activity of copper(II) coordination compound surpasses the activity of the ligand H_2L at concentrations 1μM and 10μM.



Scheme 6. Proliferation of MeW-164 cells in presence of H_2L.

The IC_{50} value of 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemicarbazone is 9.7μM.

The proliferation of human leukemia HL-60 cells in presence of H_2L and Cu(HL) Cl is shown in scheme 7.



Scheme 7. Proliferation of HL-60 cells in presence of tested substances.

Both free ligand and its copper(II) coordination compound manifest antitumor activity towards HL-60 cells at concentrations 10μM and 1μM. The activity at lower concentration (0.1μM) practically disappears. The activity of copper(II) coordination compound surpasses the activity of the ligand H_2L at concentrations 1μM and 10μM.

The study of cervical cancer HeLa cells proliferation in the presence of 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemicarbazone showed that this selenosemicarbazone inhibits the proliferation of these cells by 17% at the concentration 100μM. So the activity of this selenosemicarbazone towards HeLa cells is less pronounced than towards MeW-164 and HL-60 cells

Conclusions

In this work 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemicarbazone was synthesized and studied using NMR spectroscopy. This ligand was used for synthesis of the

copper(II) chloride coordination compound. It was determined that both free ligand and copper coordination compound show antibacterial and antifungal activities. The copper coordination compound manifests much better antimicrobial activity towards gram-negative microorganisms than free ligand. The study of antitumor activity showed that synthesized substances inhibit proliferation of the melanoma MeW-164, human leukemia HL-60, and cervical cancer HeLa cells.

Acknowledgements

We would like to thank Professor Donald Poirier from the Oncology and Molecular Endocrinology Research Center CHUL, Laval University, for determination of the antitumor activity of our substances.

This work was fulfilled with the financial support of the Institutional Project 15.817.02.24F.

References

1. *Bjelogrlić S., et. al.* Synthesis, structure and characterization of novel Cd(II) and Zn(II) complexes with the condensation product of 2-formylpyridine and selenosemicarbazide: Antiproliferative activity of the synthesized complexes and related selenosemicarbazone complexes.// Journal of Inorganic Biochemistry. 2010, 104:673-682.

2. *Danuta S. Kalinowski D. S., Quach P., Richardson D.R.* Thiosemicarbazones: the new wave in cancer treatment.// Future Medicinal Chemistry. 2009, 1:1143-1151.

3. *Gligorijević N., et. al.* Synthesis and characterization of new Pt(II) and Pd(II) complexes with 2-quinolinecarboxaldehyde selenosemicarbazone: Cytotoxic activity evaluation of Cd(II), Zn(II), Ni(II), Pt(II) and Pd(II) complexes with heteroaromatic selenosemicarbazones. // European Journal of Medicinal Chemistry. 2009, 44:1623-1629

4. *Graur V., et. al.* Synthesis and biological activity of nickel and copper coordination compounds of 5-nitrofuran-2-carbaldehyde N(4)-allyl-3-thiosemicarbazone. //Studia Universitatis Moldaviae. 2014, 76:119-123.

5. *Jegham H., et. al.* A novel aminosteroid of the 5α-androstane-3α,17β-diol family induces cell cycle arrest and apoptosis in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. //Investigational New Drugs. 2012, 30:176-185.

6. *Klayman D. L., Shine R. J.* A new synthesis of selenoureas and selenothiocarbamic esters from thioreas.// Journal of Organic Chemistry. 1969, 34:3549-3551.

7. *Kowol C. R., et. al.* Effect of metal ion complexation and chalcogen donor identity on the antiproliferative activity of 2-acetylpyridine N,N-dimethyl(chalcogen)semicarbazones. //Journal of Inorganic Biochemistry. 2007, 101:1946-1957.

8. *Markowicz S., et. al.* Anticancer Properties of Peptide Fragments of Hair Proteins. //PLoS ONE. 2014, 9:98073.

9. *Pahontu E., et. al.* Synthesis and characterization of some New Cu(II), Ni(II) and Zn(II) complexes with salicylidene thiosemicarbazones: antibacterial, antifungal and in vitro antileukemia activity. //Molecules. 2013, 18:8812-8836.

10. *Pakhontsu E., et. al.* Coordination compounds of copper and nickel with N ,N ′-[4,4′-(perfluoro-1,4-phenylene)bis(oxy)bis(4,1-phenylene)]-bis[2-(pyridin-2-ylmethylidene) hydrazinecarbothioamide] and its derivatives. //Russian Journal of General Chemistry. 2014, 84:1198-1201.

11. *Prisakari V. I., et. al.* Synthesis and antimicrobial activity of coordination compounds of copper with substituted salicylaldehyde thiosemicarbazones.// Pharmaceutical Chemistry Journal. 2005, 39:313-316.

12. *Re R., et. al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. //Free Radical Biology & Medicine. 1999; 26:1231–1237.

13. *Samus' N. M., et. al.* Synthesis and antimicrobial activity of the complexes of 3d-metals with substituted salicylaldehyde senzoylhydrazones. //Pharmaceutical Chemistry Journal. 2004, 38:373-375.

14. *Van den Berg R., et. al.* Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. //Food Chemistry. 1999, 66:511-517.

15. *Wenxian Zh., Minggen Zh.* Synthesis and characterization of some multi-substituted thiosemicarbazones as the multi-dental ligands of metal ions.//Chinese Journal of Organic Chemistry. 2001, 21:681-684.

16. *Yu Y., et. al.* Thiosemicarbazones from the Old to New: Iron Chelators That Are More Than Just Ribonucleotide Reductase Inhibitors. //Journal of Medicinal Chemistry. 2009, 52:5271-5294.

DINAMICA MODIFICĂRII COMPONENŢEI BIOCHIMICE A SPIRULINEI PE DURATA CULTIVĂRII ÎN CONDIŢII DE LABORATOR ÎN DEPENDENŢĂ DE REGIMUL DE ILUMINARE

Rudic V., Rudi L., Chiriac T., Codreanu S., Dumbrăveanu V., Djur S., Cepoi L., Miscu V., Ghelbet V., Chelmenciuc V

Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

În articol sunt prezentate rezultatele cercetărilor asupra dinamicii modificării componenţei biochimice a biomasei cianobacteriei *Spirulina platensis*, cultivată în condiţii de laborator în dependenţă de regimul de iluminare. Au fost testate două regimuri de iluminare - continuă şi periodică (12 ore lumină :12 ore întuneric), iar în biomasa obţinută a fost monitorizat conţinutul cantitativ al proteinelor, lipidelor, glucidelor, pigmenţilor ficobilinici, carotenoizi, clorofilei. Productivitatea spirulinei în modele experimentale a fost similară, diferenţele fiind observate în componenţa biomasei. Regimul de cultivare de tip periodic poate fi considerat mai puţin favorabil culturii de spirulină, chiar dacă este propriu mediului natural de creştere, fiind asociat cu reducerea cantităţii de proteină şi creşterea conţinutului hidraţilor de carbon în biomasă, precum şi cu o acumulare mai pronunţată a produselor peroxidării lipidice, în special la finele perioadei de monitorizare. În condiţiile regimului de iluminare continuă se menţine un nivel stabil redus al produselor peroxidării pe toată durata cultivării, fiind o mărturie a condiţiei fiziologice normale în biomasa de spirulină.

Cuvinte cheie: Spirulina platensis, proteine, lipide, dialgehidă malonică, glucide, ficobiline, carotenoizi, regim de iluminare,

Depus la redacţie 22 septembrie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Rudi Ludmila, Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028 Chişinău, Republica Moldove; e-mail: rudiludmila@gmail.com

Introducere

Cianobacteria *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) rămâne a fi unul dintre cele mai solicitate obiecte atât în aspect de producere ficologică, cât şi al cercetărilor fundamentale. Biomasa de spirulină este consumată direct sau este utilizată în calitate de materie primă în industria alimentară, farmaceutică şi cea cosmetică [2], fiind o

sursă excelentă de proteine, aminoacizi şi acizi graşi polinesaturaţi esenţiali. Biomasa de spirulină conţine un complex de minerale necesare unei funcţionări metabolice impecabile a organismului. Produsele obţinute în baza biomasei de spirulină au demonstrat efecte imunomodulatoare, antitumorale, antioxidante, antivirale şi antibacteriene [1,2]. Biomasa de spirulină şi produsele din ea au demonstrat eficienţă în tratamentul obezităţii şi diabetului, în intoxicaţii chimice şi stări alergice [2, 7, 13, 14]. Producerea de biomasă de spirulină pentru diferite scopuri are la bază o multitudine de tehnologii intensive care asigură o producere cost eficientă de biomasă. La baza acestor tehnologii stau numeroase studii ce ţin de modul şi condiţiile de cultivare a spirulinei, care influenţează atât producerea de biomasă, cât şi conţinutul ei biochimic. Regimul termic şi cel de iluminare sunt factori care reglează acumularea biomasei şi a proteinelor. Astfel temperatura de 35^0C este un factor de reţinere pentru producerea de biomasă dar sporeşte acumularea hidraţilor de carbon şi a lipidelor, în cazul cultivării pe un mediu îmbogăţit cu azot [5]. Intensitatea luminii are influenţă majoră atât asupra cantităţii, cât şi asupra calităţii biomasei de spirulină. Deviaţiile de la optimul de iluminare sunt asociate cu scăderea productivităţii. Conţinutul biochimic de asemenea se modifică. De exemplu, în condiţii de iluminare excesivă se acumulează mai mulţi carotenoizi, care au funcţie de fotoprotecţie, iar în condiţii iluminare redusă se măreşte cantitatea pigmenţilor ficobilinici, care îndeplinesc funcţia de antene suplimentare de captare a cuantelor de lumină [9]. Alternarea fazelor de lumină/întuneric, de asemenea, influenţează procesele de acumulare a biomasei şi a compuşilor specifici ai acesteia. La acest capitol datele din literatura de specialitate sunt foarte diverse şi chiar contradictorii. În timp ce unii autori afirmă, că condiţiile fotoperiodismului sunt benefice pentru spirulină [12, 15], alţii afirmă, că cultivarea spirulinei în condiţii naturale reduce din producerea de biomasă şi valoarea ei nutritivă [3,11]. În opinia noastră varietatea rezultatelor este determinată de diversitatea culturilor cianobacteriene, care sunt utilizate în cercetare. Acest lucru sugerează necesitatea de a efectua cercetări de stabilire a efectului fotoperiodismului asupra proceselor de creştere şi acumularea principiilor bioactive a fiecărei culturi ficologice în parte.

Scopul cercetărilor analizate în acest articol a prevăzut determinarea dinamicii acumulării componentelor structurale şi funcţionale în biomasa spirulinei, tulpina *Spirulina platensis CNMN-CB-11* cultivată în condiţii de laborator în regim de iluminare continuă şi periodică (12/12 ore zi/noapte).

Materiale şi metode

Pentru cercetare a fost selectată tulpina cianobacteriei *Spirulina platensis CNMN-CB-11*care a fost cultivată pe mediul nutritiv mineral SP -1 cu următoarea componenţă: macroelemente (în g/l): $NaNO_3$-2,5; $NaHCO_3$-2,0; NaCl-1,0; K_2SO_4-0,6; Na_2HPO_4-0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$-0,2; $CaCl_2$-0,024; 1ml/l soluţie de microelemente ce conţine (mg/l(mediu): H_3BO_3-2,86; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$-1,81; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ -0,08; MoO_3 –0,015); FeEDTA-1ml/l;

Au fost respectaţi parametrii şi condiţiile de cultivare în laborator: cantitatea de cultură start (inoculum) – 0,4-0,45g/l BAU; temperatura de 23-25^0C, pH-ul optim al mediului 8-9, intensitatea iluminării de 55 µmol fotoni/m^2/s. Au fost aplicate două regimuri: fotoperiodism 12/12 ore zi/noapte şi iluminare continuă. Cultivarea a fost efectuată în baloane Erlenmeyer, cu volum de lucru de 1 L; Cultura a fost agitată zilnic,

timp de 2 ore pe un agitator universal de laborator tip WU-4 cu viteza de 200 rotaţii/min. Durata ciclului de cultivare a fost de 10 zile. Prelevarea probelor de biomasă au fost efectuate zilnic la aceiaşi oră

Biomasa de spirulină obţinută a fost separată de mediul de cultură prin filtrare, a fost supusă deminiralizării şi standartizată. În biomasa colectată a fost efectuată analiza biochimică. Conţinutul de proteine a fost determinat spectrofotometric în baza produselor degradării bazice a proteinelor cu utilizarea reagentului *Folin-Ciocalteu* [10]. Lipidele au fost determinate cu aplicarea reagentului fosfo-molibdenic în baza principiului degradării acide a lipidelor [4, 8]. Conţinutul total al hidraţilor de carbon în biomasa algală a fost efectuată prin metoda adaptată cu antron [16].

Pigmenţii, obţinuţi prin extragere în apă (ficobilinele) şi etanol (carotenoizii, clorofila) au fost determinaţi spectrofotometric. Gradul de oxidare a lipidelor a fost determinat în baza dialdehidei malonice (substanţă reactivă a acidului tiobarbituric), rezultată în urma oxidării lipidelor [6].

Rezultate şi discuţii

Seriile experimentale de creştere a culturii de *Spirulina platensis* în condiţii de iluminare continua şi de fotoperiodism (12/12 ore zi/noapte) au fost efectuate în condiţii standard de laborator. Menţionăm, că în cercetare este implicată o tulpină de importanţă biotehnologică, adaptată la condiţiile de cultivare de laborator, dar şi cele industriale, iar mediul nutritiv este optimizat şi asigură producerea maximală de biomasă cu un conţinut biochimic echilibrat.

Spirulina este cultivată în primul rând pentru valoarea nutritivă şi terapeutică a biomasei obţinute. Din aceste considerente monitorizarea modificărilor cantitative ale principalelor componente, care în prezent sunt deja utilizate în diferite domenii, poate facilita elaborarea recomandărilor, orientate spre sporirea eficienţei tehnologiilor aplicate. În cazul nostru aceste recomandări se referă la aplicarea fotoperiodismului în fluxul tehnologic şi la perioada de recoltate a biomasei în dependenţă de domeniul în care va fi ea utilizată. Proteina este componentul majoritar al biomasei, constituind până la 70% din biomasa absolut uscată (BAU). Acumularea proteinei pe durata perioadei de cultivare în biomasa de spirulină crescută în condiţii de iluminare continuă şi în condiţiile fotoperiodismului 12/12 ore zi/noapte sunt prezentate în Figura 1.

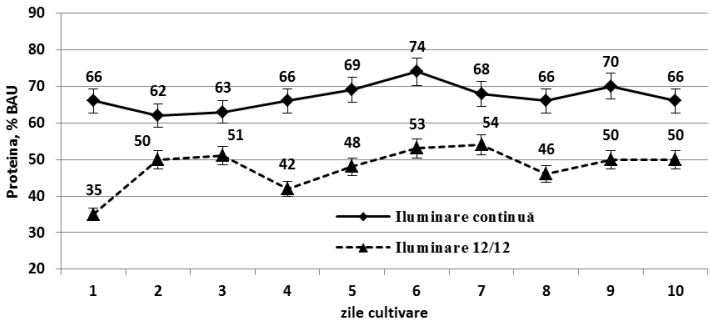


Figura 1. Dinamica acumulării proteinelor în biomasa spirulinei pe durata cultivării în condiţii de laborator, în dependenţă de tipul iluminare.

Rezultatele obţinute indică asupra unei diminuări esenţiale a conţinutului de proteină în biomasa de spirulină, crescută în condiţiile iluminării periodice 12/12 ore. În dependenţă de etapa ciclului vital al culturii cianobacteriene această diferenţă este

de 19,3-36,4%. În condiţiile regimului de iluminare continuă acumularea maximală a proteinelor în biomasa spirulinei corespunde zilei a 6-ea de cultivare (74% BAU). Biomasa de spirulină obţinută în condiţiile unui regim de iluminare periodică la aceiaşi etapă a ciclului vital a acumulat cu 28,4% proteină mai puţin. Dinamica procesului de acumulare a proteinei în cadrul celor două tipuri de iluminare este de asemenea diferită. În condiţiile de iluminare continuă, începând cu ziua a doua a fost determinat un spor continuu a acumulării proteinei în biomasă care a finalizat la ziua a 6-a. În următoarele zile a avut loc o reducere a conţinutului de proteină, care s-a menţinut până la sfârşitul perioadei de cultivare. Cele mai semnificative oscilări ale conţinutului de proteină revin primelor zile de cultivare a spirulinei în condiţiile regimului de iluminare periodică. Creşterea conţinutului de proteină în biomasă cu 43% reflectă procesul de adaptare a culturii la noile condiţii, care sunt percepute de cultură ca stresante.

Astfel, pentru obţinerea biomasei de *Spirulina platensis CNMN-CB-11* cu un conţinut înalt de proteine este preferabil regimul de iluminare continuă.

Glucidele prezintă componente valoroase ale biomasei de spirulină, fiind utilizate în diferite domenii – de la industria alimentară până la cea farmaceutică. Conţinutul de glucide în biomasa de spirulină cultivată în condiţii de iluminare continuă şi în condiţii de fotoperiodism sunt reflectate în Figura 2. Biomasa de spirulină, obţinută în condiţiile regimului de iluminare periodică 12/12 ore zi/noapte acumulează cantităţi mult mai mari care le depăşesc pe cele obţinute în condiţii de iluminare continuă de 2,1-3,1 ori. Mărirea nivelului de glucide are loc în cea de-a doua zi de cultivare, când conţinutul lor creşte de la 17 la 32% BAU. În condiţiile unui regim de iluminare continuă nivelul glucidelor în biomasa de spirulină se menţine la un nivel constant de 12-13%, caracteristic pentru cultura tipică.

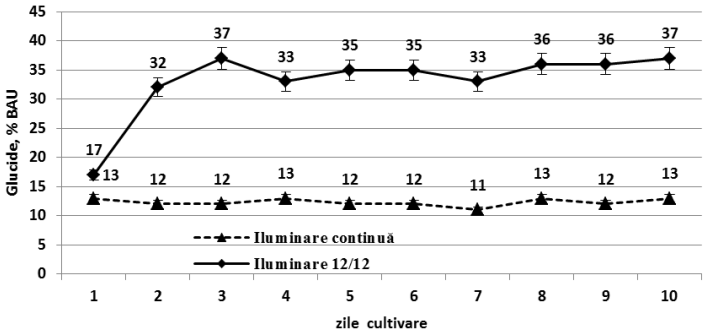


Figura 2. Dinamica acumulării glucidelor în biomasa spirulinei pe durata cultivării în condiţii de laborator, în dependenţă de iluminare.

Ca si in cazul proteinelor, conţinutul de lipide în biomasa de spirulină este mai joasă în cazul fotoperiodismului, dar diferenţa între cele două regimuri nu este atât de mare, încadrându-se pentru majoritatea zilelor în limitele de 9-24% (Figura 3). Pentru regimul de iluminare continuă acumularea maximală a lipidelor în biomasă corespunde zilei a 6-ea de cultivare. În aceeaşi zi biomasa de spirulină, obţinută în condiţiile unui regim de iluminare periodică a acumulat lipide cu 23% mai puţin, maximul de acumulare fiind determinat la ziua a 7-ea.

Conţinutul de lipide nu a înregistrat oscilări mari pe durata cultivării cu excepţia primelor 2 zile, care corespunde perioadei de acomodare. Variaţiile minore începând cu ziua a cincea de cultivare în cantitatea lipidelor în biomasa de spirulină crescută în regim de iluminare continuă şi de fotoperiodicitate reflectă starea de homeostazie a culturii. Cu

toate acestea este necesar de a confirma siguranţa biomasei prin cuantificarea produselor peroxidării lipidice. Rezultatele testului de determinare a dialdehidei malonice sunt reflectate în figura 4.

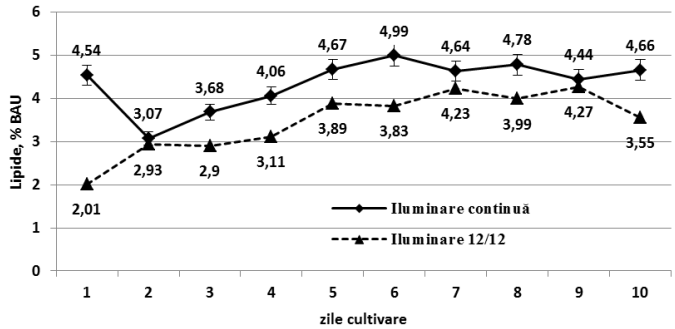


Figura 3. Dinamica acumulării lipidelor în biomasa spirulinei pe durata cultivării în condiţii de laborator, în dependenţă de iluminare.

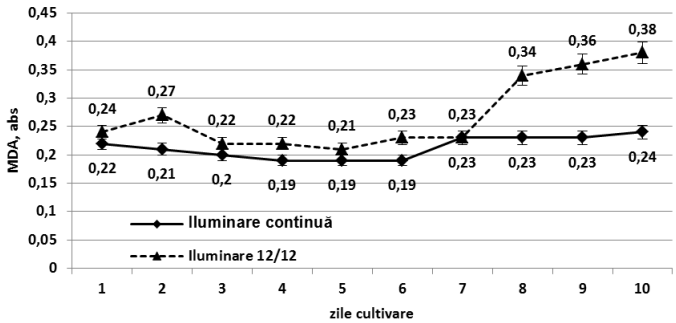


Figura 4. Dinamica acumulării radicalilor (testul DAM) în biomasa spirulinei pe durata cultivării în condiţii de laborator, în dependenţă de iluminare.

În cazul aplicării regimului de iluminare continuă nivelul dialdehidei malonice DAM se menţine la un nivel stabil jos pe toată durata monitorizării. În biomasa obţinută în condiţii de fotoperiodicitate pe durata primelor 7 zile de cultivare se înregistrează un nivel stabil jos al peroxidării lipidelor , dar începând cu ziua a 8 de cultivare se observă o creştere bruscă a DAM cu 47,8 – 58,3%, ceea ce indică asupra unei stări de stres oxidativ, exprimată prin degradarea oxidativă mai intensă a lipidelor.

Prin urmare cultura de spirulină nu prezintă pericolul acumulării radicalilor liberi în biomasă în primele 7 zile ale cultivării, atât în regim de iluminare continuă, cât şi în condiţii de fotoperiodism. Cultivarea spirulinei în regim de iluminare continuă, care este specific proceselor tehnologice intensive, este sigură din punct de vedere al pericolului de a manifesta potenţial prooxidant.

Pigmenţii ficobilinici, caracteristici cianobacteriilor au funcţia de antene secundare pentru captarea energiei luminii şi de protecţie antioxidantă a celulelor. În figura 5 sunt prezentate datele cu referire la suma ficobiliproteinelor în componenţa biomasei de spirulină crescută cu aplicarea celor 2 regimuri de iluminare.

În cazul regimului de iluminare 12/12 ore zi/noapte în primele 3 zile de cultivare are loc creşterea pronunţată a cantităţii de ficobiliproteine, ceea ce este firesc pentru cultura trecută de la iluminare continuă la fotoperiodicitate. Prin acumularea accelerată a pigmenţilor ficobilinici încearcă să compenseze deficitul de lumină prin captarea mai intensă a acesteia pe parcursul fazei luminoase. În continuare cultura revine la conţinutul normal al pigmenţilor respectivi, ceea ce poate fi o dovadă a adaptării spirulinei la noile condiţii.

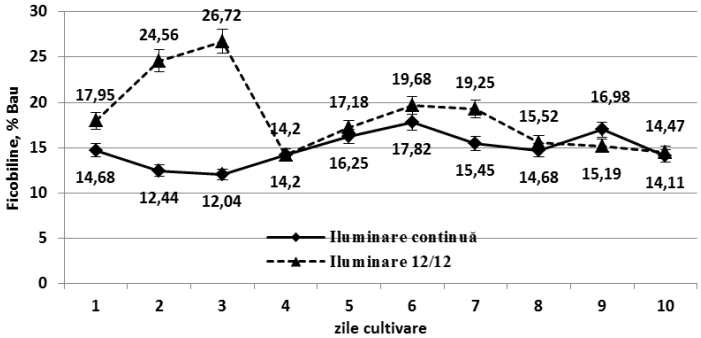


Figura 5. Dinamica acumulării ficobiliproteinelor în biomasa spirulinei pe durata cultivării în condiţii de laborator, în dependenţă de iluminare.

Pentru biomasa cultivată în condiţii de iluminare continuă are loc reducerea iniţială uşoară (cu 18%) a cantităţii pigmenţilor. In următoarele zile conţinutul ficobilinelor este stabil cu oscilări specifice spirulinei.

Cantitatea carotenoizilor în biomasa organismelor fotosintetizante este determinată, în cea mai mare măsură, de intensitatea luminii şi regimul de administrare a ei. Acest fapt este determinat de funcţia dublă a acestora – fotosintetică şi fotoprotectoare. Rezultatele cu referire la oscilarea conţinutului de carotenoizi în biomasa de spirulină sunt prezentate în figura 6. Reducerea perioadei de iluminare reduce, respectiv şi conţinutul de carotenoizi în biomasă (Figura 6).

Conţinutul de caroten în biomasa de spirulină crescută în condiţii de iluminare periodică s-a redus cu 8,0-44,4% în dependenţă de ziua colectării. Începând cu ziua a treia de cultivare oscilaţiile nivelului de carotenoizi în ambele experienţe sunt foarte asemănătoare, fiind specific un nivel mai redus al pigmenţilor în biomasa crescută în condiţii de fotoperiodicitate.

Din cele menţionate mai sus putem afirma, că iluminarea periodică reduce cantitatea pigmenţilor fotosintetici ai *Spirulina platensis CNMN-CB-11*.

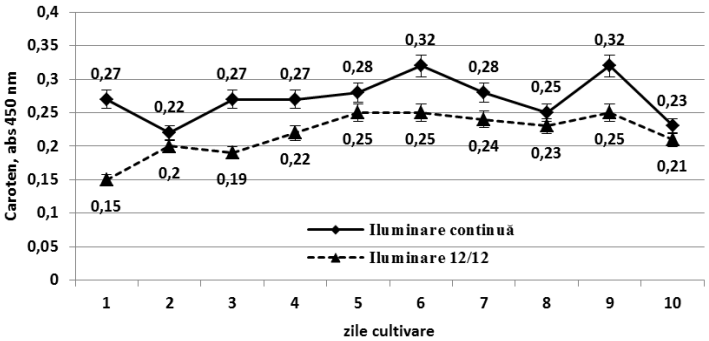


Figura 6. Dinamica acumulării beta-carotenului în biomasa spirulinei pe durata ciclului de cultivare în condiţii de laborator, în dependenţă de iluminare.

Conţinutul clorofilei în biomasă de asemenea este influenţat de regimul de iluminare. În regim de fotoperiodism conţinutul clorofilei s-a redus de 1,56 – 3,25 ori (Figura 7).În regim de iluminare continuă cantitatea de clorofilă în biomasă variază în limite mai mici, decât în regim de fotoperiodicitate. Comună este scăderea acestui parametru la finele perioadei de monitorizare cu 25,6% în cazul iluminării continue şi cu 17,6 în cazul iluminării periodice.

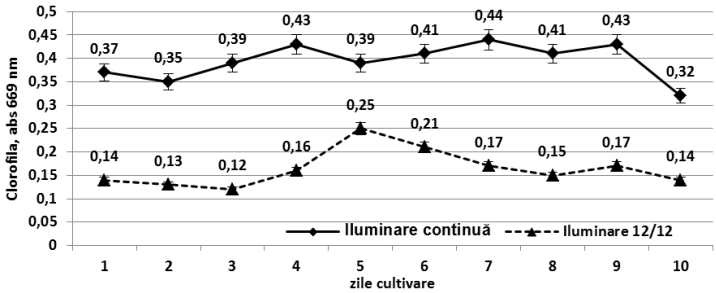


Figura 7. Dinamica acumulării clorofilei în biomasa spirulinei pe durata cultivării în condiţii de laborator, în dependenţă de iluminare.

Concluzii

Tulpina biotehnologică *Spirulina platensis* CNMN-CB-11 adaptată la regimul de iluminare continuă răspunde în cazul aplicării regimului fotoperiodic de iluminare (12/12 ore zi/noapte) printr-o reducere semnificativă a conţinutului de proteine, lipide, carotenoizi şi clorofilă şi creştere a conţinutului hidraţilor de carbon.

În baza nivelului de oxidare a lipidelor putem afirma, că biomasa obţinută în regim de iluminare continuă este sigură pentru consum, în timp ce biomasa crescută în condiţii de fotoperiodicitate începând cu ziua a 9-a acumulează o cantitate ridicată de produse ale degradării oxidative ale lipidelor şi, deci, poate prezenta potenţial prooxidant.

Cu toate că pentru tulpinile ”sălbatice” de spirulină fotoperiodicitatea este un fenomen natural, la care pe parcursul evoluţiei filogenetice acestea s-au adaptat, pentru tulpina luată în studiu, care a fost selectată ca obiect biotehnologic, acest regim de iluminare este impropriu. În condiţii de iluminare continuă are loc producerea unei biomase mai calitative, ceea ce se exprimă în primul rând prin conţinutul înalt de proteine şi nivelul jos de DAM.

Bibliografie

1. *Beheshtipour H., et al.*. Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. //Eur Food Res Technol., 2012, 235 (4), p.719- 728.
2. *Belay A.* The potential application of *Spirulina (Arthrospira)* as a nutritional and therapeutic supplement in health management.// J. Am. Nutraceut. Assoc., 2002, 5, p. 27-48.
3. *Belén C.J., Coss R., Niell F.X.* Relationship between physicochemical variables and productivity in open ponds for the production of *Spirulina*: a predictive model of algal yield. //Aquaculture**,** 2003, 221 (1-4), p. 331–345.
4. *Chabrol E., Charonnet R.* Une novelle reaction pour l’etude des lipides. //Presse Med., 1937, 45, p.1713-1714.
5. *Colla L.M.* Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. //Bioresource Technology, 2007, 98(7), p. 1489–1493.
6. *Hodges M., Forney F., Prange R.* Improving the thiobarbituric acid reactive substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. //Planta, 1999, 207, p. 604–611.
7. *Hoseini S.M., Khosravi-Darani K., Mozafari M.R.* Nutritional and Medical Applications of *Spirulina* Microalgae. Mini-Reviews. //Medicinal Chemistry, 2013, 13, p.1231-1237
8. *Johnson K.R, Ellis G., Toothill C.* The sulfophosphovanillin reaction for serum lipids: a reappraisal. //Clin. Chem. 1977, 23(9), p.1669–1678.
9. *Kumar M., Kulshreshtha J., Singh G.P.* Growth and biopigment accumulation of

cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. //Brazilian Journal of Microbiology. 2011;42(3)p.1128-1135.

10. Lowry O.H., et al.. Protein measurement with the Folin phenol reagent. //J. Biol. Chem., 1951, 193, p.265–275.

11. Odobanto K., Aminigo R. E., Abu G.O. Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. //Bioresource Technology, 2007, 98 (11), p. 2207–2211

12. Pareek A.; Srivastava P., Optimum photoperiod for the growth of Spirulina platensis. //Journal of Phytological Research, 2011, 14(2), p. 219-220

13. Rudic V. BioR-studii biomedicale, toxicologice şi clinice. Chisinău: Elena VI, 2007, 375 p.

14. Soheili M., Khosravi-Darani K. The potential health benefits of algae and micro algae in medicine: a review on Spirulina platensis.// Cur. Nutr. Food Sci., 2011, 7 (4), 279-85.

15. Мельников С.С., Самович Т.В., Мананкина Е.Е., Будакова Е.А. Влияние чередования световых и темновых периодов на продуктивность *Spirulina (Arthrospira) platensis (Nordst.) Geitler*. //Альгология, 2012, 22(2), с. 121-130.

16. Филиппович Ю., Егорова Т., Севастьянова Г. Практикум по общей биохимии. Москва: Просвещение. 1982, с. 284-286.

EFECTUL NANOPARTICULELOR TiO_2 ASUPRA REPRODUCERII CELULELOR ŞI CONŢINUTULUI DE PROTEINE LA LEVURI

Usatîi Agafia, Chiseliţa Natalia, Molodoi Elena, Bejenaru Ludmila, Chiriţa Elena, Beşliu Alina, Borisova Tamara

Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

Lucrarea oferă informaţii despre influenţa diferitor concentraţii de nanoparticule TiO_2 asupra levurilor din genurile *Saccharomyces* şi *Rhodotorula*. S-a constatat că nanoparticulele TiO_2 în concentraţii de 0,5 până la 15,0 mg/L nu modifică în mod semnificativ multiplicarea şi producţia de biomasă la *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, *Rhodotorula gracilis* II/6, dar determină scăderea conţinutului de proteine în biomasa levurilor genului *Saccharomyces*. Efectul pozitiv al nanoparticulelor de TiO_2 a fost marcat pentru acumularea de proteine la tulpina de levuri pigmentate *Rhodotorula gracilis* II/ 6.

Cuvinte cheie: nanoparticule TiO_2, *Saccharomyces, Rhodotorula*, reproducere, proteine.

Depus la redacţie 11 septembrie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Usatîi Agafia, Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028 Chişinău, Republica Moldova; tel. (+37322)73-80-13; E-mail: usatyi.agafia@gmail.com

Introducere

Funcţionalitatea nanoparticulelor (NPs) de TiO_2 este expusă în diferite publicaţii în care se menţionează eficienţa utilizării acestora în industria alimentară, medicină, microbiologie, la producerea vopselelor, pigmenţilor, aplicarea în cosmetologie. Aplicarea nanoparticulelor anorganice la cultivarea microorganismelor reprezintă

un domeniu recent în cercetările de nanobiotehnologie [11, 14, 15]. Există ipoteza că mai multe nanocompozite posedă activităţi toxice, dar şi stimulatorii asupra microorganismelor, care se manifestă în dependenţă de compoziţia nanocompozitelor şi concentraţia aplicată.

Un număr mare de experienţe sunt destinate studiului influenţei nanoparticulelor dioxidului de titan. Conform rezultatelor din literatura de specialitate, concentraţia minimă inhibitorie (MIC - minimum inhibitory concentration) a nanoparticulelor este variată şi depinde de microorganismul cercetat. Spre exemplu, pentru *Escherichia coli* şi *Candida albicans* MIC a NPs TiO_2 constituie 9,7 $\mu g.ml^{-1}$, iar pentru *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis* MIC este de 19,0-19,5 $\mu g.ml^{-1}$ [13]. Posibile mecanisme de influenţă a nanoparticulelor TiO_2 la nivel celular au fost cercetate de către mai mulţi specialişti în domeniu, care au elucidat unele procese ce au loc în cazul aplicării NPs [5, 7, 9].

Un studiu de evaluare a influenţei nanoparticulelor TiO_2, ZrO_2 şi Fe_2O_3, asupra consumului de O_2 şi integrităţii membranei celulare la drojdia *Saccharomyces cerevisiae* a efectuat Lila Otero-Gonzalez, care a stabilit că concentraţiile până la 1000 mg/L nu sunt toxice pentru drojdie [12].

Despre efectele de stimulare a nanoparticulelor se comunică în publicaţiile autorului Kiran [6], care menţionează că utilizarea nanoparticulelor de fier în concentraţie de 10 mg/L sporeşte cu 80 % producţia glicolipidelor biosurfactante la cultura marină *Nocardiopsis sp*. MSA13A. În ceea ce priveşte alte nanoparticule, este de menţionat faptul că pentru *Saccharomyces cerevisiae,* concentraţiile mai mari de 50 ppm (50 mg/L) a ZnO_2 sunt toxice [4].

Cele expuse mai sus determină importanţa teoretică şi practică majoră a cercetărilor asupra posibilităţilor de aplicare a nanoparticulelor anorganice în biotehnologia cultivării levurilor.

Prezenta lucrare este dedicată elucidării efectelor nanoparticulelor TiO_2 asupra reproducerii celulelor şi acumulării proteinelor în biomasa levurilor din genurile *Saccharomyces* şi *Rhodotorula*.

Materiale şi metode

Obiecte de studiu, medii de cultură, condiţii de cultivare. În cadrul cercetărilor s-au utilizat tulpinile de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, selectată ca producător de β-glucani [3], *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, selectată ca producător de manani [16], levura pigmentată *Rhodotorula gracilis*– II/06, selectată ca producător de carotenoide. Tulpinile sunt păstrate în colecţia Laboratorului Biotehnologia Levurilor şi în Colecţia de Microorganisme Nepatogene a IMB al AŞM.

În cercetări s-au utilizat nanoparticule TiO_2, elaborate de cercetătorii Institutului de Inginerie Electronică şi Nanotehnologii al AŞM. Particulele au fost dispersate în apă. Concentraţiile NPs utilizate în experienţe la cultivarea levurilor au constituit 0,5; 1; 5; 10 şi 15 mg/L. În calitate de martor s-a cercetat varianta fără aplicarea nanoparticulelor.

Pentru inoculare şi cultivarea submersă a levurilor s-au utilizat mediile de fermentaţie specifice tulpinilor în studiu YPD şi must de malţ [1, 2]. Cultivarea submersă s-a efectuat în baloane Erlenmeyer cu capacitate de 1,0 L, pe agitator cu viteza de rotaţie 200 r.p.m., la temperatura de 25^0C, gradul de aerare 81,3...83,3 mg/L, durata de

cultivare submersă 120 ore. Mediul lichid de fermentare s-a însămânţat în volum de 5% cu inocul 2 x10 ^{6} celule/ml. Conţinutul de oxigen s-a măsurat cu Oximetrul portabil – Oxi-315i/SET 2B10-0011. Valorile pH-ului mediului de cultivare s-au determinat cu pH-316i MeBketten WTW, Germania.

Metode de cercetare. Numărul de celule dezvoltate pe mediul lichid s-a estimat spectrofotometric conform metodelor cunoscute [10]. Biomasa levuriană s-a determinat gravimetric [7].Conţinutul de proteină s-a măsurat spectrofotometric conform metodei Lowry [8], utilizând în calitate de standard albumina cristalină din serul bovinelor.

Prelucrarea statistică a rezultatelor s-a realizat cu ajutorul setului de programe Statistica 7.

Rezultate şi discuţii.

Studierea şi evidenţierea particularităţilor de acţiune a nanoparticulelor dioxidului de titan asupra proliferării celulelor s-a monitorizat timp de 48 ore de cultivare în profunzime, perioada care cuprinde toate fazele procesului de creştere a populaţiei: lag, log, staţionară, declin şi moarte celulară. Rezultatele experimentale ale influenţei NPs TiO_2 asupra reproducerii celulelor sunt afişate în figurile 1şi 2 din care desprindem că densitatea optică (OD), determinată la lungimea de undă λ=670 nm, în probele experimentale ale tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 nu diferă substanţial de martor (figura 1). Procesele care au loc în fiecare din etapele vitale ale levurii parcurg în conformitate cu schemele clasice.

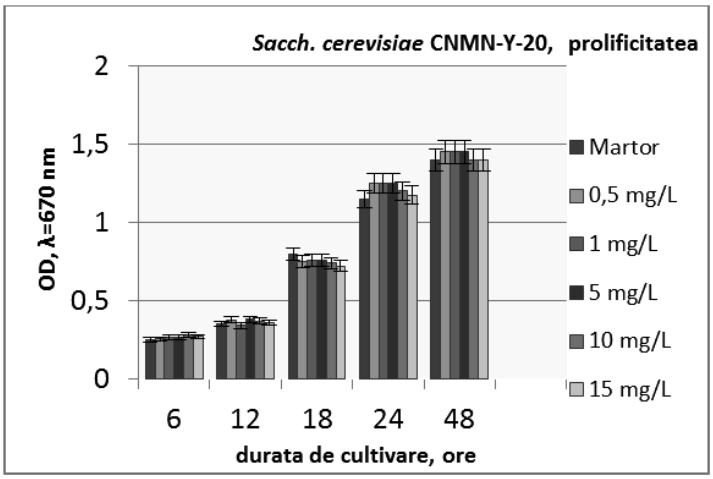


Figura 1. Valorile densităţii optice (OD) a celulelor *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 la cultivarea în prezenţa NPs TiO_2.

Cercetările asupra tulpinii de levuri pigmentate *Rhodotorula gracilis* II/6 au demonstrat că, pe durata ciclului de cultivare de 48 ore, nanoparticulele dioxidului de titan în concentraţii de 0,5 şi 1,0 mg/L, reţin multiplicarea celulelor, efect mai pronunţat observandu-se după 18-24 ore de cultivare (Figura 2). Cu referire la concentraţia de 15 mg/L a NPs TiO_2, din datele prezentate observăm după 48 ore de cultivare în profunzime o micşorare a numărului de celule comparativ cu proba martor. Rezultatele obţinute sugerează ideea că NPs TiO_2 ar putea influenţa nivelul de rezistenţă a celulelor pigmentate faţă de nanoparticule. Ipoteza dată urmează a fi verificată şi confirmată prin analiza altor teste legate de procesele fiziologice care decurg în paralel cu multiplicarea.

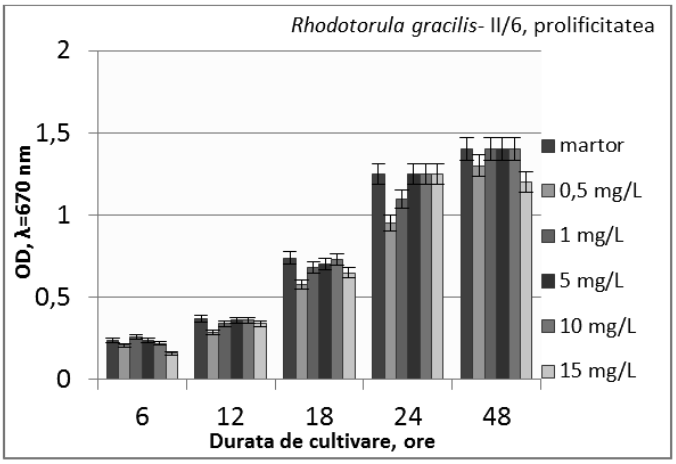


Figura 2. Valorile densităţii optice (OD) a celulelor *Rhodotorula gracilis* II/6 la cultivare în prezenţa NPs TiO_2.

Pentru tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 menţionăm că la suplimentarea mediului cu NPs TiO_2 ciclul de multiplicare în probele experimentale nu diferă substanţial de martor. Astfel, rezultatele obţinute indică că pentru a stabili concentraţiile minime inhibitorii ale nanoparticulelor (IC_{50}) sau concentraţia la care populaţia prezintă un răspuns (EC_{50}), este evidentă necesitatea efectuării experienţelor cu aplicarea concentraţilor mai mari.

Observaţiile microscopice denotă că modificări vizibile ale morfologiei celulelor levurilor *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20*, Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 *şi Rhodotorula gracilis* II/6 la cultivare în prezenţa nanoparticulelor nu s-au produs.

Deoarece în condiţiile fizico-chimice modificate de cultivare, cultura îşi poate schimba indicatorii de productivitate ca o reacţie de răspuns, în continuare a fost studiat potenţialul de poducere de către levuri a biomasei celulare. Studiul privind conţinutul de biomasă uscată obţinută după 120 ore de cultivare în profunzime a tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 relevă sub influenţa nanoparticulelor dioxidului de titan o micşorare nesemnificativă (cu 3-6%) comparativ cu indicii martorului (Figura 3).

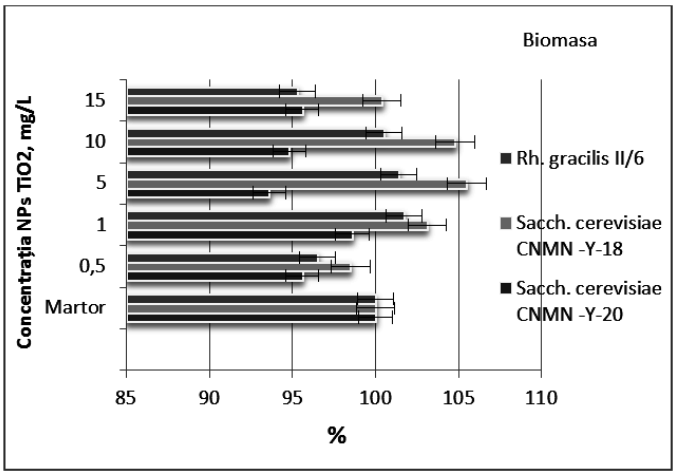


Figura 3. Efectul nanoparticulelor TiO_2 asupra conţinutului de biomasă la tulpinile de levuri.

Cercetările expertimentale cu tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 au demonstrat că concentraţiile utilizate de nanoparticule ale dioxidului de titan sunt tolerate de către levură. Conţinutul de biomasă în probele experimentale (concentraţiile de 5,0 - 10,0 mg/L) creşte nesemnificativ (cu 3-5% comparativ cu martorul) şi variază în limitele 5,58 - 5,61 g/L s.u., rezultate care sunt apropiate martorului (5,32 g/L s.u.). Analiza influenţei nanoparticulelor dioxidului de titan la cultivarea tulpinii de levuri pigmentate *Rhodotorula gracilis* II/6 a relevat că concentraţiile utilizate, deasemenea nu iniţiază careva dereglări esenţiale în dezvoltarea levurii pe mediul YPD (Figura 3).

Generalizând rezultatele prezentate putem afirma că nanoparticulele dioxidului de titan adăugate la mediul de cultivare al tulpinilor *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 şi *Rhodotorula gracilis* II/6 în intervalele de concentraţii 0,5 - 15,0 mg/L manifestă capacitatea de a modifica nesemnificativ acumularea de biomasă faţă de proba de referinţă. Efectul poate fi explicat prin faptul, că concentraţiile mici utilizate de nanoparticule sunt insuficiente pentru a obţine un rezultat sesizabil. Deaceea, pentru sporirea capacităţilor de acumulare a biomasei la levuri, este oportun de a mări concentraţiile nanocompusului dioxidului de titan.

Din punct de vedere biotehnologic este important de a stabili gradul de modificare a capacităţilor biosintetice a culturii de levuri la acţiunea nanoparticulelor aplicate în procesul de cultivare. Unul din indicatorii importanţi, care caracterizează desfăşurarea proceselor metabolice a culturilor supuse acţiunii diferitor factori de cultivare, este conţinutul de proteină.

Fiind formate exclusiv din aminoacizi, proteinele se întîlnesc în celule alături de alţi compuşi importanţi de tipul polizaharidelor, lipidelor, acizilor nucleici, etc. Proteinele pot fi enzime care catalizează diferite reacţii biochimice în organism, altele pot juca un rol important în menţinerea integrităţii celulare (proteinele din peretele celular), în răspunsul imun şi autoimun al organismului.

Analiza comparativă a rezultatelor prezentate în figura 4 a pus în evidenţă că în biomasa levurii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, la cultivare în variantele experimentale cu aplicarea NPs TiO_2, cantitatea de proteină indică valori sub nivelul martorului. Semnificative (cu 14,5-19,5% mai jos faţă de proba de referinţă) sunt probele experimentale în care au fost aplicate concentraţiile 0,5-1,0 mg/L de NPs TiO_2.

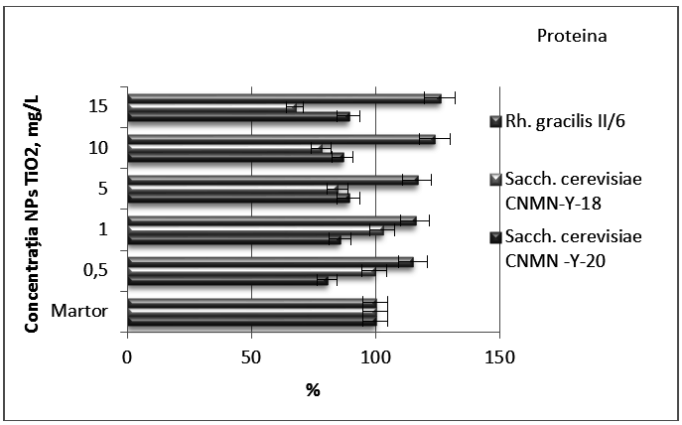


Figura 4. Efectul nanoparticulelor TiO_2 asupra conţinutului de proteină în biomasa levuriană.

Rezultatele răspunsului tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 la nanoparticulele TiO_2 prezentate în figura 4, indică că concentraţiile mici 0,5 şi 1,0 mg/L nu modifică semnificativ conţinutul de proteine în biomasă. Variaţiile înregistrate în această serie de experienţe sunt în intervalul de 2-3 %, ceea ce ne permite să afirmăm că conţinutul de proteină rămâne în limitele normale pentru această cultură. În acelaşi timp, în variantele experimentale în care concentraţia nanoparticulelor dioxidului de titan a fost majorată până la 15,0 mg/L conţinutul de proteină în biomasa levuriană se micşorează cu 15,4 - 32,5%.

Spre deosebire de efectul negativ al NPs TiO_2 observat la tulpinile din genul *Saccharomyces*, un spor semnificativ al conţinutului de proteină, cu 15-17% comparativ cu martorul, s-a obţinut la tulpina de levuri pigmentate *Rhodotorula gracilis* II/6. Concentraţiile 0,5; 1,0 şi 5,0 mg/L de nanoparticule TiO_2 adăugate în mediul nutritiv, iniţiază o acumulare evidentă a proteinei, conţinutul căreia variază în limitele 44,6… 45,3% în biomasa levuriană, comparativ cu martorul care conţine 38,7% (Figura 4). Concentraţiile NPs TiO_2 de 10 şi 15 mg/L produc o majorare cu 23,8-25,9 % comparativ cu probele martor a conţinutului de proteină în biomasa levuriană. Deci, necătând la păstrarea nivelului de productivitate a biomasei celulare la nivelul martorului, sub acţiunea nanoparticulelor TiO_2, în interiorul celulei levuriene, se iniţiază o creştere a conţinutului de proteină, probabil pentru a menţine echilibrul proceselor metabolice.

Astfel, finalizând această analiză, putem afirma că nanoparticulele dioxidului de titan prezintă un factor important pentru biotehnologia cultivării levurilor din genurile *Saccharomyces* şi *Rhodotorula*.

Concluzii

1. În concentraţii de 0,5-15,0 mg/L, nanoparticulele TiO_2 nu modifică semnificativ procesul de reproducere a celulelor şi producţia de biomasă la levurile *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, *Rhodotorula gracilis* II/6.

2. Nanoparticulele TiO_2 induc o micşorare a conţinutului de proteină cu 14,5-19,5% la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 şi cu 15,4-32,5% la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, ceea ce indică un efect negativ asupra proceselor de sinteză a unor componente intracelulare.

3. Sporirea randamentului de acumulare a proteinei se produce la tulpina *Rhodotorula gracilis* II/6, la cultivare pe mediul nutritiv suplimentat cu nanoparticulele dioxidului de titan în concentraţii de 10,0 - 15,0 mg/L.

Investigaţiile au fost realizate în cadrul proiectului 15 817 05 16A finanţat de CSŞDT al AŞM.

Bibliografie

1. Aguilar-Uscanga B.; Francois, J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. //Letters in Applied Microbiology, 2003, 37, 268-274.

2. Anghel I., Voica, C., Toma N., Cojocaru I. Biologia şi tehnologia drojdiilor. Bucureşti: Editura Tehnică. 1991, vol. 2, 385 p.

3. Chiseliţa O., Usatîi A., Taran N., Rudic V., Chiseliţa N., Adajuc V. Tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* – sursă de β-glucani. Brevet de invenţie MD 4048. MD-BOPI, 6/2010.

4. Citlali Garcia Saucedo. Developing a Yeast Cell Assay for Measuring the Toxicity

of Inorganic Oxide Nanoparticles. //Chemical & Environmental Engineering Departament University of Arizona. May 6th 2 010. wwwCitlaliGarcia_UA 5-6-10

5. El-Said Karim Samy, Ehab Mostafa Ali, Koki Kanehira, Akiyoshi Taniguchi. Molecular mechanism of DNA damage induced by titanium dioxide nanoparticles in toll-like receptor 3 or 4 expressing human hepatocarcinoma cell lines. //Journal of Nanobiotechnology 2014, 12:48.

*6. Kiran George Seghal***,** *Lipton Anuj Nishanth, Sethu Priyadharshini, Kumar Anitha, Joseph Selvin.* Effect of Fe nanoparticle on growth and glycolipid biosurfactant production under solid state culture by marine Nocardiopsis sp. MSA13A. //BMC Biotechnology, 2014, 14:48.

7. Liu Hong-Zhi et al. Statistical optimization of culture media and conditions for production of mannan by *S. cerevisiae.* //Biotech. and Bioprocess Engineering, 2009, vol. 14(5), p. 577-583.

*8. Lowry O***.,** *Rosebough N., Farr A*. et. al. Protein measurment with the folin phenol reagent. //J. Biol. Chem., 1951, vol. 193, p. 265-275.

9. Minju Jeong, Jeong Min Park, Eun Jeong Lee, Yea Seul Cho, Chunghyun Lee, Jeong Moo Kim, Sang Soo Hah. Cytotoxicity of Ultra-pure TiO2 and ZnO Nanoparticles Generated by Laser Ablation. //Bull. Korean Chem. Soc. 2013, Vol. 34, No. 11 3301-3306.

10. Mitchell Desma N., Hilary Arnold Godwin, Elizabeth Claudio. Nanoparticle Toxicity in *Saccharomyces cerevisiae*: A Comparative Study Using Au Colloid, Ag Colloid, and HAuCl4 • 3H2O in Solution. //Nanoscape, Spring 2004, Issue 1, 59-69.

11. Nasr N. F. Applications of Nanotechnology in Food Microbiology. //Int.J.Curr. Microbiol.App.Sci (2015) 4(4): 846-853.

12. Otero-Gonzalez Lila, Citlali Garcia-Saucedo, James A. Field, Reyes Sierra-Alvarez. Toxicity of TiO2, ZrO2, Fe0, Fe2O3, and Mn2O3 nanoparticles to the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. //Chemosphere 93 (2013) 1201–1206.

13. *Pişkin Sabriye, Arzu Palantöken, and Müge Sari Yılmaz*. Antimicrobial Activity of Synthesized TiO_2 Nanoparticles. //International Conference on Emerging Trends in Engineering and Technology (ICETET'2013) Dec. 7-8, 2013. Patong Beach, Phuket (Thailand). http://dx.doi.org/10.15242/IIE.E1213004.

14. Quiñones-Jurado Zoe Vineth , Miguel Ángel Waldo-Mendoza, Hugo Marcelo Aguilera-Bandin, Edgar Giovanny Villabona-Leal, Elsa Cervantes-González, Elías Pérez. Silver Nanoparticles Supported on TiO2 and Their Antibacterial Properties: Effect of Surface Confinement and Nonexistence of Plasmon Resonance. //Materials Sciences and Applications, 2014, 5, 895-903**.** Published Online October 2014 in SciRes.

15. Rai Mahendra, Nelson Duran. Metal Nanoparticles in Microbiology. 2011, 305 p. ISBN 978-3-642-18311-9 e-ISBN 978-3-642-18312-6 DOI 10.1007/978-3-642-18312-6 Springer Heidelberg Dordrecht London New York.

16. Usatîi Ag., Molodoi E., Efremova N., Chiseliţa N., Borisova T., Fulga L**.** Tulpină de drojdii *Saccharomyces cerevisiae* – producătoare de manani. Brevet de invenţie MD 4216, BOPI 4/2013, p. 24.

17. Yinxia Li., Wei Wang1, Qiuli Wu, Yiping Li, Meng Tang, Boping Ye, Dayong Wang. Molecular Control of TiO2-NPs Toxicity Formation at Predicted Environmental Relevant Concentrations by Mn-SODs Proteins. //PLOS ONE. September 2012, Volume 7, Issue 9, e44688, 1-12.

ACTIVITATEA ANTIOXIDANTĂ ÎN BIOMASA CIANOBACTERIEI *SPIRULINA PLATENSIS* PE DURATA CULTIVĂRII ÎN DEPENDENŢĂ DE ILUMINARE

Rudic V., Rudi L., Chiriac T., Codreanu S., Dumbrăveanu V., Djur S., Cepoi L., Miscu V., Cojocari A., Sadovnic D., Chelmenciuc V.

Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

În articol sunt prezentate rezultatele cercetărilor asupra dinamicii modificării activităţii antioxidante a extractelor hidric, hidroetanolic de 50% şi etanolic obţinute în baza biomasei de *Spirulina platensis*, cultivată în condiţii de laborator în regim de iluminare continuă şi 12/12 ore zi/noapte. Capacitatea de inhibiţie a radicalului cation ABTS a extractelor hidric şi etanolic este semnificativ mai înaltă în cazul biomasei crescute în condiţii de iluminare continuă. În extractele hidroetanolice de 50% aceeaşi tendinţă se menţine doar pe durata fazei exponenţiale de creştere. Cea mai performantă capacitate antiradicalică faţă $ABTS^{\cdot+}$ este caracteristică extractului etanolic obţinut din biomasa de stirulină crescută în condiţii de iluminare continuă (până la 70,14% inhibiţie).

Capacitatea antiradicalică faţă de radicalul DPPH a extractelor hidroetanolic şi etanolic din biomasa de spirulină crescută în regimuri diferite de iluminare este practic la acelaşi nivel, iar fluctuaţiile observate pe parcurs sunt determinate de vârsta culturii. În cazul extractului hidric capacitatea de inhibiţie a radicalului DPPH este de peste 6 ori mai înaltă în cazul când pentru extragere este utilizată biomasa crescută în condiţii de iluminare continuă faţă de cea obţinută la iluminare în regim fotoperiodic.

Cuvinte cheie: Spirulina platensis, activitatea antioxidantă, regim de iluminare.

Depus la redacţie 22 septembrie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Rudi Ludmila, Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie al AŞM, str. Academiei, 1, MD-2028 Chişinău, Republica Moldove; e-mail: rudiludmila@gmail.com

Introducere

Biomasa microalgelor şi cianobacteriilor prezintă o sursă valoroasă şi deja recunoscută de substanţe cu efect antioxidant şi antiradicalic. Astfel, biomasa acestor obiecte biotehnologice conţine enzime antioxidante, carotenoizi, pigmenţi ficobilinici, compuşi fenolici ş.a, care se caracterizează prin diferite proprietăţi şi grad diferit de activitate biologică [3, 5, 7, 9, 11, 13, 14]. Produsele obţinute din spirulină au demonstrat capacitatea de a inhiba proliferarea celulelor canceroase, precum şi de a modela sistemul imun, efecte care au la bază proprietăţile antioxidante ale spirulinei [1, 4].

Atât calitatea, cât şi cantitatea compuşilor antioxidanţi în componenţa biomasei obiectelor ficologice poate varia în limite foarte mari în dependenţă de vârsta culturii, starea ei fiziologică, componenţa mediului nutritiv şi condiţiile fizice, în care se desfăşoară procesul de cultivare. A fost demonstrat că pe durata ciclului de dezvoltare a culturilor statice de microalge şi cianobacterii au loc fluctuaţii semnificative ale activităţii antioxidante sumare a biomasei şi a diferitor tipuri de extracte din ea. Trecerea culturii de la o fază de dezvoltare la alta este marcată prin salturi ale valorilor obţinute în cadrul testelor antioxidante şi antiradicalice aplicate, iar cunoaşterea perioadelor critice în componenţa fluxurilor tehnologice facilitează monitorizarea calităţii şi asigură

obţinerea unui produs sigur pentru consumul uman [10, 15].

Influenţa luminii asupra conţinutului de componente antioxidante este evidentă, deoarece două grupuri de substanţe antioxidante au funcţia primară de pigmenţi fotosintetici – carotenoizii şi ficobilinele. Acumularea mai intensă a carotenoizilor are loc în condiţiile unei intensităţi sporite a luminii [2], iar conţinutul ficobilinelor este determinat atât de intensitatea, cât şi de calitatea luminii aplicate pentru iluminarea culturii [12].

Adaptarea la fotoperiodicitate prezintă un caracter evolutiv stabil pentru toate speciile de organisme, capabile de a realiza fotosinteza. În acelaşi timp, culturile tehnologice de cianobacterii şi microalge sunt adaptate pentru condiţii intensive, care includ iluminare continuă.

Scopul acestui studiu a constat în stabilirea influenţei regimului de iluminare (continuu sau fotoperiodicitate 12/12 ore zi/noapte) asupra activităţii antioxidante a extractelor din biomasa unei tulpini biotehnologice de spirulină - *Spirulina platensis* CNMN-CB-1.

Materiale şi metode

În calitate de *obiect* de studiu a fost utilizată tulpina biotehnologică *Spirulina platensis* CNMN-CB-11, depozitată în Colecţia Naţională de Microorganisme Nepatogene.

Cianobacteria a fost cultivată în condiţii de laborator pe mediul nutritiv mineral SP-1 cu pH-ul iniţial 8-9, în baloane Erlenmeyer cu volum de 1L în condiţii de iluminare continuă şi regim de fotoperiodicitate de 12/12 ore. Intensitatea luminii de 55 µmol fotoni/m^2/s. Cultura a fost agitată zilnic, timp de 2 ore pe un agitator universal de laborator tip WU-4 cu viteza de 200 rotaţii/min. Durata cultivării a constituit 10 zile. Biomasa colectată a fost separată de mediul de cultivare prin filtrare şi supusă demineralizării.

În baza biomasei colectate au fost preparate extracte. *Extragerea* a fost efectuată în raport m/v de 10mg biomasă/10ml solvent. În calitate de solvent au fost utilizate soluţia hidro-etanolică de 50%, etanolul de 96% şi apa distilată. Durata procesului de extracţie a fost de 2 ore la temperatura camerei în condiţii de agitare permanentă pe agitator de laborator WU-4 cu viteza de 260 rotaţii/min. Extractele obţinute au fost separate de biomasă prin filtrare şi păstrate la temperatura de 0^0C. În extractele obţinute a fost determinată activitatea antioxidantă prin aplicarea radicalilor non-biologici.

Determinarea activităţii antioxidante cu utilizarea radicalului ABTS [6]. Radicalul cation ABTS ($ABTS^{\cdot+}$) este generat prin oxidarea ABTS (2,2 azinobis 3-etilbenzotiazoline-6-sulfonic acid) cu persulfat de potasiu. Se prepară soluţia stoc a reagentului ABTS de 7 mM în apă deionizată. Persulfatul de potasiu se adăugă în concentraţia de 2,45 mM. Reagenţii se amestecă în proporţii de 1:1 pentru formarea radicalului ABTS. Reacţia decurge la întuneric, la temperatura camerei timp de cel puţin 12-16 ore. Soluţia de lucru a ABTS se prepară din soluţia stoc astfel, ca absorbanţa finală la 734 nm să fie de 0,70 ± 0,02. Reacţia de decolorare decurge la temperatura camerei timp de 6 minute. Valoarea activităţii antioxidante se exprmă în % inhibiţie radical.

Determinarea activităţii antioxidante cu utilizarea radicalului DPPH [8]. Radicalul DPPH (1,1 difenil-2-picril hydrazil de culoare violetă), utilizat în calitate de substrat,

este redus prin adiţionare de atomi de hidrogen cu obţinerea de 1,1 difenil-2-picril hidrazinei de culoare galbenă. Concentraţia radicalului DPPH în soluţia de lucru, precum şi durata reacţiei a fost adaptată biomasei de spirulină. Reacţia de decolorare decurge la temperatura camerei timp de 60 minute. Valoarea activităţii antioxidante se exprimă în % inhibiţie a radicalului.

Rezultate şi discuţii

Cianobacteria *Spirulina platensis* a fost cultivată timp de 10 zile în condiţii de laborator în regim de iluminare continuă şi în regim de fotoperiodicitate de 12 ore. Pentru a urmări modificările în activitatea antioxidantă a biomasei de spirulină, au fost efectuate testele antioxidante ABTS şi DPPH pentru trei tipuri de extracte obţinute in baza biomasei de spirulină, colectată zilnic pe durata cultivării, la aceiaşi oră. Valorile testului ABTS determinate pentru extractele hidrice obţinute din biomasa crescută în regim de iluminare continuă sunt superioare valorilor antioxidante determinate pentru acelaşi tip de extract din biomasa obţinută în varianta experimentală cu iluminare periodică (Figura 1).

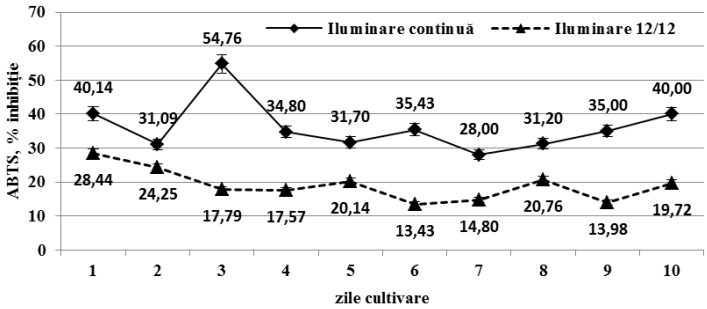


Figura 1. Activitatea antioxidantă (% inhibiţie ABTS$^{\cdot+}$) a extractelor hidrice în baza biomasei de spirulină pe durata cultivării în condiţii de laborator, în dependenţă de regimul de iluminare.

În condiţii de iluminare continuă se evidenţiază ziua a doua şi a treia de cultivare – în cea de a doua are loc o scădere cu 22,5%, iar în cea de-a treia – o creştere cu 76,1% faţă de ziua precedentă măsurării. În următoarele zile activitatea antiradicalică a extractelor hidrice faşă de ABTS$^{\cdot+}$ revine la valorile caracteristice culturii de spirulină (28-40% inhibiţie). Variaţia iniţială ale valorilor antioxidante pentru extractele hidrice obţinute din biomasa de spirulină cultivată în regim de iluminare periodică, de asemenea, durează 3 zile, cu reducerea continuă a valorilor determinată şi pentru ziua a 3-a. În următoarele 7 zile activitatea antioxidantă a extractelor oscilează în limita valorilor 13,47-20,76. Astfel, pentru cultura de spirulină, ca şi pentru alte culturi ficologice de importanţă biotehnologică [10,15], principalele modificări în activitatea antioxidantă au loc la etapa de adaptare a culturii (faza lag şi de iniţiere a creşterii).

Testul DPPH a permis de a stabili o diferenţă şi mai profundă între capacitatea antiradicalică a extractelor hidrice din biomasa de spirulină obţinută la iluminare continuă şi în condiţii de fotoperiodicitate. Astfel, condiţiile de iluminare periodica au dus la o diminuare de până la 6,3 ori a capacităţii de inhibiţie a DPPH$^{\cdot}$ (Figura 2). Diferenţa dintre valorile foarte mari ale testului DPPH pentru extractele din biomasa de spirulină cultivată în regim de iluminare continuă şi valorile foarte mici ale testului pentru extractele în baza biomasei obţinută în regim de iluminare periodică se păstrează în primele 4 zile, după care are loc o apropiere a valorilor estimate. La iluminarea continuă activitatea de inhibiţie a DPPH$^{\cdot}$ se menţine la nivel constant înalt timp de 4

zile, deci practic pe durata primelor faze de dezvoltare (lag, iniţierea creşterii şi parţial – faza de creşte exponenţială), pe când în condiţii de iluminare periodică doar primele 24 de ore se caracterizează prin valoare ridicată a activităţii faţă de radicalul nonbiologic.

Începând cu cea de-a şasea zi de cultivare, care corespunde finelui fazei exponenţiale de creştere valorile testului DPPH în probele experimentale obţinute în regim de iluminare continuă sunt mai mici comparativ cu valorile probelor obţinute în condiţii de iluminare periodică.

Un tablou similar al decalajului de valori antioxidante se observă şi pentru valorile testului ABTS a extractelor hidro-etanolice de 50% obţinute din biomasa de spirulină din ambele serii experimentale (Figura 3).

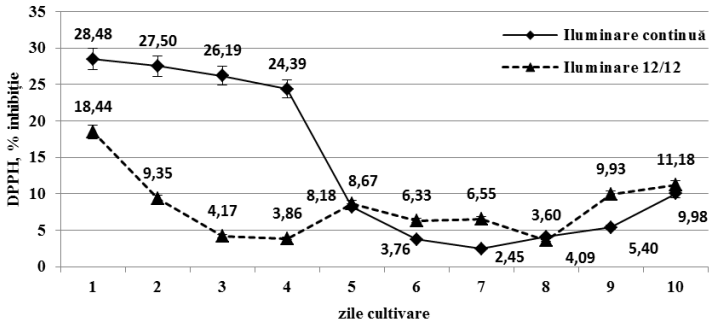


Figura 2. Activitatea antioxidantă (% inhibiţie DPPH$^{\cdot}$**) a extractelor hidrice în baza biomasei de spirulină pe durata cultivării în condiţii de laborator, în dependenţă de regimul de iluminare**.

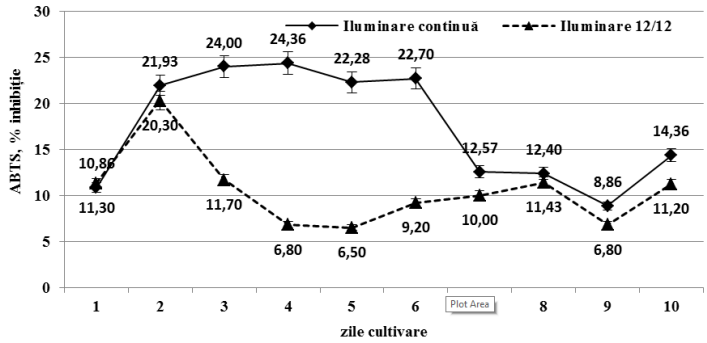


Figura 3. Activitatea antioxidantă (% inhibiţie ABTS$^{\cdot+}$) a extractractelor hidroetanolice de 50% în baza biomasei de spirulină cultivată în condiţii de laborator, în dependenţă de regimul de iluminare.

Decalajul valorilor antioxidante a fost determinat în intervalul dintre a doua şi a şaptea zi de cultivare a spirulinei. Pentru cultura cu iluminare continuă în acest interval de timp se menţine o activitate a extractului hidroetanolic de 21,93 – 24,35% inhibiţie ABTS$^{\cdot+}$, ceea ce este practic de 2 ori mai mult decât activitatea după 24 ore de la inoculare, care este foarte apropiată pentru biomasa obţinută în condiţiile ambelor regimuri de iluminare. Activitatea extractelor hidroetanolice de 50% faţă de radicalul cation ABTS, obţinute din biomasa crescută în condiţii de fotoperiodicitate în intervalul de timp respectiv scade de la 20,3% la 6,5% inhibiţie. La etapa de încetinire a creşterii şi cea staţionară valorile testului ABTS pentru extractele hidroetanolice din biomasa ambelor serii experimentale sunt foarte apropiate.

Testul DPPH pentru extractele hidro-etanolice de 50% înregistrează diferenţe neînsemnate între experienţe (Figura 4).

Prime trei zile de cultivare sunt de stabilizare a activităţii antioxidante, valorile testului DPPH devenind identice la ziua a 3-a. În următoarele doua zile are loc

sporirea activităţii antioxidante cu 58% în probele obţinute din biomasa cultivată în regim de iluminare continuă şi cu 84% în probele obţinute din biomasa cultivată în regim de fotoperiodism.

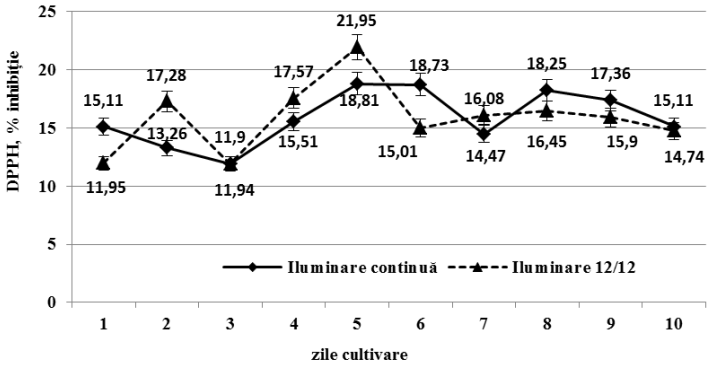


Figura 4. Activitatea antioxidantă (% inhibiţie DPPH˙) a extractractelor hidroetanolice de 50% în baza biomasei de spirulină cultivată în condiţii de laborator, în dependenţă de regimul de iluminare.

În extractele hidro-etanolice de 50%, obţinute din biomasa crescută în regim de iluminare continuă activitatea antioxidantă sporită se menţine şi în ziua a 6-a cu reducerea ulterioara cu 23% spre ziua a 7-a. În extractele hidro-etanolice de 50%, obţinute din biomasa crescută în regim de iluminare periodică activitatea antioxidantă scade deja în ziua a 6-a şi reducerea este una semnificativă - cu 32%. În următoarele zile are loc menţinerea valorilor antioxidante la nivelul zilei a 6-a. Valori similare ale testului antioxidant DPPH celor determinate în ziua a 6-a se menţin şi pentru extractele obţinute în baza biomasei rezultate din cultivarea în regim de iluminare continuă.

Aceleaşi teste au fost realizate şi pentru extractele etanolice. În etanol de 96% se extrag componente antioxidante liposolubile, iar acest tip de extract are cel mai înalt nivel de activitate printre celelalte studiate şi analizate în prezentul studiu. Valorile testului antioxidant ABTS în extractele etanolice obţinute din biomasa de spirulină crescută în condiţii de iluminare continuă în primele cinci zile de cultivare sunt de 1,7-2,4 ori mai mari decât în variantele respective a experienţei cu aplicarea fotoperiodicităţii (Figura 5). Cea mai mică diferenţă între rezultatele celor două experienţe se observă pentru intervalul 6-8 zile de cultivare.

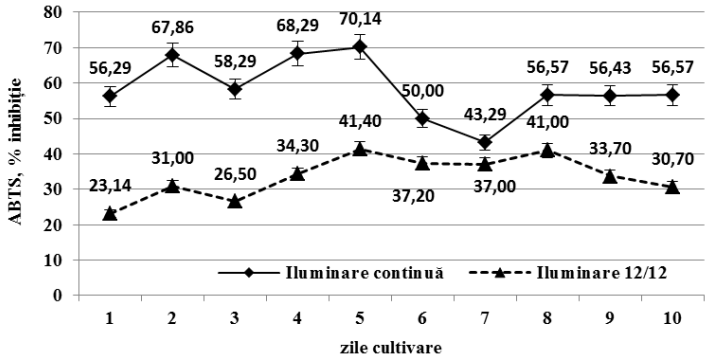


Figura 5. Activitatea antioxidantă (% inhibiţie ABTS˙+) a extractractelor etanolice în baza biomasei de spirulină cultivată în condiţii de laborator, în dependenţă de regimul de iluminare.

Oscilaţiile valorilor testului ABTS în primele trei zile de cultivare a spirulinei includ un spor al activităţii antioxidante în ziua a 2-a şi o reducere la ziua a 3-a. Creşterea activităţii antioxidante este cu 34% pentru extractele etanolice din biomasa obţinută în regim de iluminare continuă şi cu 21% pentru extractele etanolice din biomasa obţinută

în regim de iluminare periodică.

Reducerea activităţii antioxidante este cu 14% pentru ambele serii experimentale. În următoarele două zile (a patra şi a cincea) are loc creşterea valorilor antioxidante cu 17% pentru extractele etanolice de 96% în baza biomasei obţinute în regim de iluminare continuă şi cu 56% pentru extractele etanolice din biomasa obţinută în regim de iluminare periodică. Spre ziua a 5-a valoarea testului antioxidant pentru extractul etanolic de 96% din biomasa obţinută în regim de iluminare continuă este de 70,14% inhibiţie $ABTS^{\bullet+}$ şi 41,4% inhibiţie $ABTS^{\bullet+}$ pentru extractul etanolic din biomasa obţinută în regim de iluminare periodică. La ziua a 7-a activitatea antioxidantă a extractelor etanolice în baza biomasei de spirulină obţinută din prima serie experimentală este de 43,29%, după care valorile testului ABTS revin la valorile determinate în prima zi de cultivare cu menţinerea lor până la finele perioadei experimentale. Valorile testului ABTS ale extractelor etanolice din spirulina crescută în condiţii de fotoperiodicitate, stabilizate în ziua a 5-a se menţin în următoarele trei zile,după care are loc reducerea activităţii antioxidante până la valoarea de 30,7% inhibiţie.

Testul DPPH pentru extractele 96% etanol a arătat oscilaţii asemănătoare ale valorilor pentru ambele cazuri experimentale indiferent de regimul de iluminare aplicat (Figura 6). Pe perioada primelor 3 zile valorile testului DPPH au o tendinţă de scădere moderată (mai pronunţată la cultura crescută în condiţii de fotoperiodicitate), iar în următoarea zi are loc o reducere bruscă a nivelului de activitate faţă de radicalul DPPH de 3,2 – 3,8 ori faţă de valorile respective în zilele precedente, reducându-se de 4 ori la a 4-a zi, pentru a se menţine la un nivel redus pe întreaga perioadă de cultivare. Cu toate că în zilele următoare % inhibiţie DPPH creşte, valorile testului DPPH sunt foarte mici comparativ cu cele determinate în primele zile ale perioadei de cultivare a spirulinei.

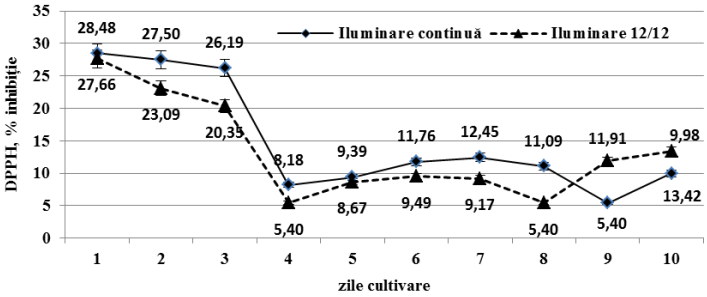


Figura 6. Activitatea antioxidantă (% inhibiţie DPPH$^{\bullet}$) a extractractelor etanolice în baza biomasei de spirulină cultivată în condiţii de laborator, în dependenţă de regimul de iluminare.

În concluzie putem afirma, că regimul de iluminare modifică esenţial dinamica modificării capacităţii antioxidante a extractelor din biomasa de spirulină. În cazul extractului hidric şi celui etanolic capacitatea de inhibiţie a radicalului cation ABTS este semnificativ mai înaltă în cazul biomasei crescute în condiţii de iluminare continuă. În extractele hidroetanolice de 50% aceeaşi tendinţă se menţine doar pe durata zilelor 3-6 de cultivare care corespund fazei exponenţiale de creştere. Cea mai performantă capacitate antioxidantă faţă de $ABTS^{\bullet+}$ este caracteristică extractului etanolic obţinut din biomasa de stirulină crescută în condiţii de iluminare continuă, aflată în faza creşterii exponenţiale (până la 70,14% inhibiţie).

Capacitatea antiradicalică faţă de radicalul DPPH a extractelor hidroetanolic şi etanolic din biomasa de spirulină crescută în regimuri diferite de iluminare este practic la acelaşi nivel, iar fluctuaţiile observate pe parcurs sunt determinate de vârsta culturii, şi

nu de durata iluminării. În cazul extractului hidric capacitatea de inhibiţie a radicalului DPPH este de peste 6 ori mai înaltă în cazul când pentru extragere este utilizată biomasa crescută în condiţii de iluminare continuă faţă de cea obţinută la iluminare în regim fotoperiodic.

Astfel, pentru a obţine biomasa de spirulină cu un nivel înalt al activităţii antioxidante, şi deci cu conţinut înalt de componente antiradicalice, care acţionează în baza mecanismului donor de electroni (cu valori mari ale testului ABTS) regimul preferabil de cultivare include iluminarea continuă. În acest caz în calitate de produs activ pot fi considerate toate 3 tipuri de extracte studiate. Pentru a obţine produse cu activitate antiradicalică în baza mecanismului donor de protoni (cu valori înalte ale testului DPPH) biomasa de spirulină urmează a fi cultivată în regim de iluminare continuă, colectată la începutul fazei de creştere exponenţială, iar în calitate de produs activ va fi considerat extractul hidric.

Bibliografie

1. *Ahmed S. Gad, et al*. Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and *Spirulina* in rats //Nutrition, 2011, V. 27 (5), p. 582-589.
2. *Celekli A., Donmez G*. Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and b-carotene accumulation by a new isolate of Dunaliella sp. //World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2006, 22, p. 183–189.
3. *Jaime L. et al*. Separation and characterization of antioxidants from *Spirulina platensis*microalga combining pressurized liquid extraction, TLC, and HPLC-DAD //Journal of Separation Science, 2005, V. 28 (16), p. 2111–2119.
4. *Li-chen Wu et al*. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Spirulina and Chlorella Water Extracts //J. Agric. Food Chem., 2005, 53 (10), p. 4207–4212.
5. *Lin Wang et al.* Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction //Food Chemistry, 2007,V. 105, (1), p. 36–41.
6. *Molyneux P.*. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity //Sci. Technol., 2004, 2, p. 211-219.
7. *Piñero Estrada J.E. et al.* Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract //Il Farmaco, 2001, V. 56, (5–7), p. 497–500.
8. *Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C*. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay //Free Radical Biology & Medicine, 1999, 10, p. 1231-1237.
9. *Sadovnic D. et al.* Activitatea antioxidantă a preparatului etanolic în baza biomasei de *Porhyridium cruentum* //*V International Conference „Actual Problems in Modern Phycology”*, Chişinău, Moldova, November 3-5, 2014, p. 89-94.
10. *Sadovnic D.* Tehnologii de obţinere a preparatelor antioxidante şi antiradicalice din biomasa algei roşii *Porphyridium cruentum CNM-AR-01. Teza de doctor, Chişinău, 2014, 159 p.*
11. *Shin Yu-Mi et al.*Quality caracteristics and antioxidant activity of Spirulina added yogurt //Korean journal of food and cookery science. 2008, V. 24(1), p. 68-75.
12. *Takano H. et al*. Effects of intensity and quality of light on phycocyanin production by a marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. NKBG 042902 //Applied Microbiology and Biotechnology, 1995, 43 (6), p. 1014-1018
13. *Takashi Hirata et al.* Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis* //Journal of Applied Phycology, 2000, V. 12(3), p. 435-439.
14. *Valuta A. et al.* Phycobiliprotein accumulation in cyanobacterium *Nostoc linckia* and modification of antioxidant activity //The Annals of Oradea University, Biology Fascicle”. 2015, Tom XXII, Issue: 1, p. 13-19.
15. *Valuţa A.* Activitatea antiradicalică a extractelor din cianobacteria *Nostoc linckia* pe durata ciclului vital //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2013, nr. 3(322), p.154-167.

ABORDĂRI CONTEMPORANE ÎN SENSIBILITATEA ŞI REZISTENŢA ANTIFUNGICĂ

Oltu Iulian

Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

Prezenta lucrare este orientată spre elucidarea principalelor mecanisme de acţiune a preparatelor antifungice, precum şi sistemele de clasificare contemporane ale preparatelor antifungice în baza acestor mecanisme, dar şi a structurii lor chimice. Sunt evidenţiate cele mai universale mecanisme de dezvoltare a rezistenţei la acţiunea preparatelor antifungice. Este argumentată necesitatea unor noi cercetări orientate spre stabilirea posibilităţilor de depăşire a rezistenţei la tratamentul antifungic. Sunt prezentate exemple de rezultate obţinute în rezultatul abordărilor contemporane a acestei probleme terapeutice şi farmaceutice.

Cuvinte cheie: activitate antifungică, clasificarea preparatelor antifungice, mecanisme de rezistenţă antifungică.

Depus la redacţie 29 septembrie 2015

Adresa pentru corespondenţă: Oltu Iulian, doctorand, Institutul de Microbiologie şi Biotehnologie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028 Chişinău, Republica Moldova; e-mail: oltuiulian@yahoo.com

În ultimul timp fungii se manifestă tot mai activ în calitate de agenţi cauzali ai infecţiilor umane, ceea ce este determinat, în primul rând, de numărul în creştere a persoanelor cu imunosupresie severă. Prin aceasta se explică interesul major faţă de informaţia despre rolul acestor microorganisme în dezvoltarea diverselor stări patologice [4]. Cu toate că se lucrează foarte mult la elaborarea medicamentelor antifungice mai active şi mai puţin toxice, se aplică măsuri de profilaxie practic în toată lumea, micozele (în special cele invazive) continuă să fie unele dintre cele mai grave complicaţii infecţioase, care cauzează o rată de mortalitate înaltă [20].

Maladiile cauzate de fungi includ infecţii dermatofite, sistemice şi oportuniste. Infecţiile dermatofite sunt cauzate de infectarea straturilor superficiale ale pielii de către agenţii dermatofiţi. Noţiunea dată este bazată de fapt pe localizarea specifică a afecţiunilor şi nu pe apartenenţa sistematică a agenţilor cauzali, cu toate că majoritatea dermatofiţilor fac parte din genurile *Microsporum, Trichophyton* şi *Epidermophyton*. Conform unor autori aproximativ 25% din populaţia Terei sunt infectaţi cu aceşti germeni [3, 14].

Infecţiile fungice invazive (sistemice) au o incidenţă care este mult mai mică decât cea a infecţiilor superficiale, dar provoacă o îngrijorare mai mare deoarece acestea sunt asociate cu o rată de mortalitate inacceptabil de ridicată, acestea luând viaţa anual a aproximativ un milion şi jumătate de oameni [13]. Acest tip de infecţii se produc prin inhalarea sporilor, ce cauzează pneumonii fungice. Aceste pneumonii nu pot fi transmise de la om la om, dar pot apărea şi la persoane sănătoase. Multe dintre organismele care cauzează infecţii fungice sistemice se caracterizează prin locaţii geografice specifice cu climat favorabil pentru proliferarea lor. Printre cele mai cunoscute infecţii de acest fel se numără coccidioidomicoza (*Cocidioides immitis)*, histoplazmoza (*Histoplasma*

capsulatum), blastomicoza (*Blastomyces dermatitidis*) ş.a. [26], iar 90% din cazurile de deces sunt cauzate de speciile din genurile *Cryptococcus, Candida* şi *Aspergillus* [13].

Fungii, care cauzează infecţii oportuniste (*Candida albicans,* C*ryptococcus neoformans, Aspergillus* sp., *Murcor* sp. ş.a.) sunt periculoşi în special pentru persoanele cu statut imun compromis, la care provoacă infecţii grave (candidoze, meningita criptococală, aspergiloza, mucormicoza ş.a). Pacienţii deosebit de sensibili la aceste infecţii includ persoane cu diabet, leucemie, cancer, HIV şi alte tipuri de imunodeficienţă [7, 26].

Elaborarea preparatelor antifungice, care pot fi aplicate cu succes în tratamentul micozelor la om trebuie să acţioneze în baza diferenţelor între celulele fungice şi cele proprii corpului uman. În acelaşi timp fungii ca şi mamiferele sunt organisme eucariote, şi deci, elaborarea preparatelor care atacă celulele fungice fără a provoca daune organismului uman este o sarcină extrem de dificilă. Una dintre deosebirile, care pot fi exploatate în designul farmaceutic al preparatelor antifungice, este prezenţa unui sterol specific în membrana celulară a drojdiilor - şi anume ergosterolul (la mamifere în locul acestuia este prezent colesterolul) [31]. O ţintă specifică pentru acţiunea preparatelor antifungice sunt şi componentele peretelui celular – manoproteinele şi β-glucanii. Marea majoritate a medicamentelor active contra fungilor patogeni sunt elaborate anume în baza acestor diferenţe de bază

Preparatele care sunt utilizate în prezent pentru tratarea maladiilor provocate de fungi pot fi divizate după mai multe criterii, principalele dintre care sunt: mecanismul de acţiune şi structura chimică. După mecanismul de acţiune toate medicamentele antifungice se divid în următoarele grupuri:

1. Inhibitori ai sintezei peretelui celular (de ex. Caspofungina);
2. Preparate ce fixează ergosterolul din componenţa membranei citoplasmatice (de ex. Nistatina, Amfotericina –B);
3. Inhibitori ai sintezei ergosterolului + lanosterolului (de ex. Terbinafina, Naftifina, Butenafina ş.a);
4. Inhibitori ai sintezei ergosterolului (din acest grup fac parte Azolele);
5. Inhibitori ai sintezei acizilor nucleici (de ex.5-Flucitozina);
6. Inhibitori ai mitozei fungale (de ex. Griseofulvina);
7. Preparat cu un alt mecanism de acţiune (de ex. Ciclopiroxul, Tolnaftalul, Haloprogina ş.a.)

Clasificarea preparatelor antifungice în baza structurii chimice permite evidenţierea următoarelor grupuri [10, 17]:

1. Polienele (afotericina, nistatina, hamicina)
2. Azolele (ketoconazolul, clotrimazolul, oxiconazolul, miconazolul, itraconazolul, voriconazolul ş.a.)
3. Alilaminele (terbinafina, butenafina)
4. Flucitozina
5. Echinocandinele (caspongina, anidulafungina, micafungina ş.a)
6. Alţi agenţi antifungali topici (tolnaftatul, acidul benzoic ş.a)

Azolele (de ex. fluconazolul, voriconazolul şi posaconazolul) şi alilaminele (de ex. terbinafina) inhibă biosinteza ergosterolului, în timp ce polienele (de ex. amfotericina B) se leagă de ergosterolul din componenţa membranei citoplasmatice,

ceea ce duce la formarea porilor şi modificarea drastică a permiabilităţii membranare. Flucitozina (5-fluorocitozina) inhibă metabolismul pirimidinic şi sinteza ADN-ului, iar echinocandina (caspofungina, anidulafungina, micafungina) sunt agenţi cu activitatea vis-a-vis de peretele celular, blocând sinteza β-1,3-D glucanului, care este componentul structural major al peretelui celular la fungi [7- 9, 26]. În clinică se aplică prioritar trei grupuri de agenţi antigungici, şi anume azolele, polienele şi alilaminele/tiocarbamatele, bazate pe inhibarea sintezei ori interacţiunea directă cu ergosterolul.

Utilizarea pe scară largă a preparatelor antifungice este unul dintre factorii care facilitează apariţia rezistenţei. Apariţia rezistenţei dobândite la speciile prevalente de fungi patogeni reduce posibilităţile unui tratament eficace. Creşterea rezistenţei la acţiunea preparatelor antifungice implică sporirea morbidităţii şi mortalităţii în rândurile populaţiei, dar şi ascensiunea costurilor de îngrijire şi tratament a persoanelor afectate. Studiul rezistenţei la preparatele antifungice în prezent rămâne în urmă cu mult faţă de cel al rezistenţei la preparatele antibacteriane. Din aceste motive atenţia cercetătorilor este concentrată pe studiul detaliat al mecanismelor de rezistenţă antifungică, perfecţionarea metodelor de detectare a rezistenţei, elaborarea de noi preparate antifungice pentru tratamentul infecţiilor cauzate de microorganisme rezistente, şi aplicarea metodelor de prevenire a apariţiei şi răspândirii formelor rezistente de fungi patogeni [9, 28].

Rezistenţa la acţiunea preparatelor antifungice este specifică atât tulpinilor de patogeni primar rezistente (care sunt din start insusceptile ori puţin susceptibile la acţiunea anumitor agenţi antimicrobieni), cât şi celor secundar rezistente (care capătă această rezistenţa ca urmare a expunerii la acţiunea agenţilor antifungici). Printre factorii care duc la formarea rezistenţei secundare sunt:

- aplicarea tratamentelor antifungice persoanelor cu statut imun compromis, la care cel mai des aceste tratamente eşuează, iar infecţia fungică este combătută fără a beneficia de un răspuns imun al organismului [1];
- prezenţa în corp a cateterelor, valvelor artificiale şi altor dispozitive chirurgicale favorizează aderarea fungilor patogeni şi formarea filmelor rezistente [2];
- aplicarea în tratamente a dozelor improprii - mai mici decât cele suficiente pentru a se manifesta ca fungicide [7].

Mecanismele moleculare ale rezistenţei primare sunt extrem de diverse şi specifice fiecărui agent antifungic. În prezent sunt acumulate numeroase date despre rezistenţa fungilor patogeni la acţiunea diverselor preparate medicamentoase. Unul dintre cele mai răspândite mecanisme de rezistenţă la acţiunea preparatelor antifungice este procesul mutagen ori superexpresia enzimelor implicate în biosinteza ergosterolului: enzima lanosterol 14a-demetilaza citocrom P450-dependentă (cunoscută ca Erg11 la drojdii, de ex. la *Candida albicans* şi *Cryptococcus neoformans*, şi ca Cyp51A la fungii miceliali, ca de ex. Aspergillus fumigatus). Azolele se leagă cu fragmentele ferice ale site-urile de legare a hemului şi blochează substratul natural al enzimei - lanosterolul, perturbând astfel procesul de biosinteză [28]. Mecanismele de rezistenţă la azole care vizează membrana celulară poate apărea prin mai multe mecanisme, inclusiv superexpresia sau modificarea ţintei preparatului, suprareglarea activităţii transportatorilor, sau inducerea modificărilor celulare care reduc toxicitatea medicamentului sau induc toleranţă faţă de medicament. În caz de suprareglare a transportorilor membranari are loc o superexpresie a genelor Cdr1, Cdr2 şi Mdr1, iar în cazul răspunsului la stresul celuar se înregistrează

mutaţii in Erg3 ori în mediatorii răspunsului celular Hsp90, Sgt1, KDACs, PKC [6, 8]

Mecanismele moleculare de rezistenţă la poliene (de ex.amfotericină B) sunt diferite de cele descrise pentru azole. Polienele se leagă de ergosterolul din membrana celulară. Ca urmare, se formează pori, care afectează permeabilitatea şi în cele din urmă provoacă moartea celulei. Mecanismele de rezistenţă la amfotericina B nu sunt bine înţelese, dar s-a stabilit, că epuizarea conţinutului de ergosterol în membrana celulei fungice este asociată cu rezistenţa la acţiunea preparatului, fără a afecta viabilitatea celulară. Aceste deficienţe ar putea fi rezultatul mutaţiilor în genele care codifică unele dintre enzimele implicate în sinteza ergosterolului. Astfel, defectarea genei ERG3 conduce la acumularea altor steroli în loc de ergosterol [16].

Flucitozina după pătrundere în celula fungică este convertită în 5-fluorouracil (forma metabolic activă), care inhibă replicarea ADN-ului şi sinteza proteinelor. Mecanismele moleculare de rezistenţă la flucitozină se datorează mutaţiilor în enzima permeaza purin-citozinică (codificată de gena FCY2), care este responsabilă pentru gradul de utilizare a medicamentului în celulă; sau mutaţiilor enzimei citozin-deaminaza (codificată de gena FCY1), care este responsabilă pentru transformarea în 5-fluorouracil. Un alt mecanism molecular al acestui tip de rezistenţă este mutaţia enzimei uracil fosforiboziltransferaza, care este responsabilă pentru transformarea 5-fluorouracilului în 5-fluorouridină monofosfat (codificata de gena FUR1). Aceste mecanisme au fost stabilite în special pentru *C. albicans* [8, 43].

Acţiunea antifungică a alilaminelor, dintre care şi terbinafina se bazează pe inhibarea sintezei ergosterolului prin blocarea enzimei squalen epoxidaza. Ca rezultat are loc o supraacumulare a squalenei în membrana celulară a fungilor care provoacă mărirea permeabilităţii membranare şi moartea celulelor. Rezistenţa la terbinafină se datorează unei mutaţii în gena squalen epoxidaza care conduce la substituţia aminoacidică L393F şi F397L; această mutaţie a fost depistată la tulpinile de *Trichophyton rubrum* rezistente la terbinafină [29, 30]. Înlocuirea fenilalaninei cu leucină în poziţia 391, în squalen epoxidaza Aspergillus nidulans şi mutaţia echivalentă în gena ErgA la A. fumigatus, rezultând dintr-o substituţie F389L, conferă rezistenţă la terbinafină [35].

Peliculele biologice (biofilmele) sunt una dintre formele cele mai prevalente de creşterea microbiană în natură, şi multe dintre speciile patogene de drojdii şi fungi miceliali se caracterizează prin asemenea tip de creştere. Biofilmele prezintă o structură tridimensională ce cuprinde o reţea densă de celule de drojdii şi fungi filamentoşi, celulele fiind încorporate într-o matrice exopolimerică, ce constă din carbohidraţi, proteine, şi acizi nucleici. Matricea este o caracteristică majoră care distinge biofilmele de celulele solitare. Biofilmele sunt intrinsec rezistente la acţiunea preparatelor antifungice, în special la cea a azolelor, iar mecanismele rezistenţei sunt multifactoriale şi implică inducerea transportatorilor de eflux de preparate, precum şi sechestrarea acestora în matricea externă [33]. Efluxul activ al preparatelor antifungice poate fi indus prin suprareglarea genelor CDR şi MDR gene [24, 32].

Cu toate acestea, sechestrarea medicamentelor în matricea extracelulară este factorul determinant în fenotipurile cu rezistentă multiplă [27]. Un element constitutiv esenţial al biofilmelor este b-1,3-glucanul, care este produs de către glucan sintaza. Componentele Smi1, Rlm1, Rho1 şi Fsk1, reglementează biosinteza β-1,3-glucanulor şi producţia de matrice. Alte proteine celulare, cum ar fi factorul de transcriere ZAP1,

alcool -dehidrogenazele Adh5, Csh1 şi Ifd6, precum şi glucoamilazele, CaGca1 şi CaGca2, de asemenea, sunt implicate în generarea rezistenţei antifungice determinate de matrice [6].

Rezistenţa antifungică este asociată cu multiple modificări genomice, inclusiv pierderea caracterului heterozigot (loss of heterozygosity - LOH) în anumite regiuni genomice specifice, creşterea numărului de copii ale cromozomilor, precum şi aneuploidiile segmentare sau cromozomiale. LOH este specifică pentru regiunile care conţin elemente de rezistenţă, inclusiv ERG11, TAC1, sau MRR1 [5, 36]. Prevalenţa aneuploidiilor în izolate azol-rezistente indică asupra unei posibile selecţii a variantelor aneuploide mai rezistente în condiţii de expunere la azole, ori asupra generării *de novo* a aneuploidiilor [13].

Modificări cromozomiale au fost, de asemenea, asociate cu rezistenta la *Candida glabrata şi Candida neoformans*, care achiziţionează rezistenta azolelor prin creşterea numărului de copii ERG11. Formarea de aneuploidii noi este asociată cu disomii ale cromozomilor 1 şi 4. Cromozomul 1 conţine două determinate ale rezistenţei şi anume ERG11 şi AFR1 transporter a ABC [38].

Rezistenţa la preparatele antifungice la unele dintre tulpinile de *Candida glabrata* este asociată cu disfunctii mitocondriale, exprimate în pierderea parţială ori completă a ADN-ului mitocondrial [12]. Aceşti mutanţi sunt înzestraţi cu rezistenţă intrinsecă la preparatele antifungice generată de suprareglarea activatorilor de transcripţie (CgPDR1 în *C. glabrata*) şi genelor ţintă.

Unul dintre mecanismele de rezistenţă la acţiunea preparatelor antifungice este intensificarea sintezei chitinei care este un mecanism important prin care celulele fungice supravieţuiesc în caz de expunere la echinocandină. Expunerea *Candida albicans* la acţiunea nivelurilor scăzute de echinocandină induce supraexpresia genei chitin sintaza şi conduce la un continut de chitină ridicat, reducând din eficacitatea echinocandinei [41]. Această creştere compensatorie a conţinutului de chitină în peretele celular este coordonată de elementele PKC, HOG, şi calea de semnalizare a calcineurinei [25]. Activarea a chitin sintazelor Chs2 şi Chs8 permite supravieţuirea celulelor fungale la acţiunea dozelor letale de echinocandină [7]. Conţinut sporit de chitină ca urmare a expunerii la acţiunea echinocandinei a fost, de asemenea, observată în *Candida tropicalis, Candida parapsilosis, Candida guillermondii* şi *Candida krusei* [42]. Rezistenţa la acţiunea echinocandinei este atribuită mutaţiilor în gena FKS1 şi este asociată de asemenea cu un nivel ridicat de chitină, chiar şi în lipsa creşterii compensatorii a nivelului acestui component ca rezultat al expunerii la acţiunea echinocandinei [42]. Creşterea conţinutului de chitină conferă, de asemenea, sensibilitate redusă la echinocandină în caz de infecţie sistemică [19]. Acelaşi mecanism de supersinteză a chitinei este specific şi pentru genul Aspergillus, însă în acest caz aceasta duce la dezorganizarea structurii peretelui celular şi la un efect invers, de reducere a rezistenţei la echinocandinei [15].

Semnalizarea în domeniul integrităţii peretelui celular este reglată de Hsp90 şi este esenţială pentru sinteza chitinei, cu efecte profunde asupra toleranţei la echinocandină. Eliminarea genelor care codifică componentele de integritate ale peretelui celular, cum ar fi WSC1, PKC1, BCK1 şi SLT2, conferă hipersusceptibilitate la echinocandină [23,34]. Defectele în integritatea peretelui celular, cum ar fi cele induse de echinocandine, sunt

determinate de defectarea proteinelor transmembranare ale familiei WSC şi Mid2, care apoi activează GTP-aza Rho1. Rho1 efectuiază reglarea pozitivă a mai multor efectori, inclusiv Pkc1, şi ţintele echinocandinelor Fks1 şi Fks2 [37].

În concordanţă cu importanţa semnalizării despre integritatea peretelui celular în rezistenta la echinocandină, a fost stabilit, că inhibitorii selectivi ai kinazei Pkc1 fungice sunt sinergici cu echinocandina împotriva *C. albicans* [39]. Inhibitorul protein kinazei staurosporina este de asemenea sinergic cu echinocandina împotriva genurilor *Candida* şi *Aspergillus* [18, 22, 23]. Astfel transducţia de semnal care apreciază integritatea peretelui celular este esenţială pentru generarea răspunsului peretelui la stresul indus de echinocandină, şi cel al membranei celulare la stresul indus de azole [18], fiind elementul central în medierea rezistenţei la acţiunea preparatelor antifungice.

Astfel, putem conchide, că în prezent culturile fungilor patogeni posedă un arsenal impresionant de mecanisme intrinseci şi dobândite de asigurare a rezistenţei faţă de acţiunea celor mai eficiente preparate antifungice. Din aceste motive rămâne deosebit de actuală problema elaborării şi implementării unor noi remedii cu efect pronunţat asupra patogenilor şi cu efecte adverse minime faţă de organismul-gazdă. În conceptul actual există mai multe direcţii de perspectivă, printre care se numără sinteza compuşilor chimici cu proprietăţi predeterminate, depistarea compuşilor naturali cu efect fungicid şi aplicarea preparatelor complexe polivalente cu efecte asupra mai multor niveluri de rezistenţă, prezente la culturile de patogeni.

În ceea ce ţine de sinteza compuşilor cu proprietăţi predeterminate deja au fost obţinute rezultate remarcabile – compuşi coordinativi ai cuprului, zincului, cobaltului şi nichelului cu proprietăţi antifungice pronunţate faţă de tulpinile patogene de referinţă, în special de *Candida albicans* [11, 21]. Aceste substanţe sunt destul de importante pentru industria farmaceutică, fiind din start cunoscută structura chimică şi, deci este convenabil de gestionat procesul de absorbţie şi metabolizare a lor.

Produsele naturale extrase din biomasa diferitor organisme sunt deosebit de preţioase în calitate de surse de noi molecule active cu proprietăţi antifungice. Diverse molecule mici, cu schelet chimic unic şi activitate pronunţată au fost obţinute din diferite surse, cum ar fi plantele, produsele marine, microorganismele, etc. Aceşti compuşi reprezintă o mare varietate structurală referindu-se la steroli, furanone, quinine, şi terpenoizi [40].

Răspândirea tulpinilor multirezistente de fungi şi numărul redus de medicamente disponibile dictează necesitatea de a descoperi noi clase de preparate antifungice şi compuşi care inhibă mecanismele de rezistenţă. Anume în baza acestei necesităţi este iniţiat procesul de depistare a posibilităţilor terapeutice alternative, în special în rândul plantelor medicinale şi compuşilor izolaţi din ele. Accent se face pe preparatele complexe, care nu numai că posedă acţiune antifungică, dar şi au efecte imunomodulatoare, care asigură restabilirea statutului imun al organismului afectat, iar prin aceasta – succesul terapiilor antifungice.

Bibliografie

1. Ben-Ami R., Lewis R.E., Kontoyiannis D.P. Immunocompromised hosts: Immunopharmacology of modern antifungals //Clin Infect Dis, 2008, 47, p. 226–235.

2. Bonhomme J., d'Enfert C. Candida albicans biofilms: Building a heterogeneous, drug-tolerant environment. //Curr Opin Microbiol, 2013, 1, p. 398–403.

3. Brown G.D. et.al. Hidden killers: Human fungal infections //Sci Transl Med, 2012, 4: 165rv113. DOI: 10.1126/scitranslmed.3004404

4. Caggiano G. Fungal infection in patients of paediatric age //Contemporary pediatrics (ed. Oner Ozdemir), //Tech, 2012, p. 385-402. Doi 10.5772/2197

5. Coste A. et al. Genotypic evolution of azole resistance mechanisms in sequential *Candida albicans* isolates //Eukaryot Cell, 2007, 6, p. 1889 – 1904.

6. Cowen L. E. The evolution of fungal drug resistance: Modulating the trajectory from genotype to phenotype //Nat Rev Microbiol, 2008, 6, p. 187–198.

7. Cowen L.E. et al. Mechanisms of antifungal drug resistance //Cold Spring Harb Perspect Med, published online November 10, 2014, doi: 10.1101/cshperspect.a019752.

8. Espinel-Ingroff A. Mechanisms of resistance to antifungal agents: Yeasts and filamentous fungi //Rev Iberoam Micol, 2008; 25, p. 101-106

9. Ghannoum M.A, Rice L.B. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance //Clinical Microbiology Reviews, 1999, 12(4), p. 501–517.

10. Groll A.H., Piscitelli S.C.,Walsh T.J. Clinical pharmacology of systemic antifungal agents: A comprehensive review of agents in clinical use, current investigational compounds, and putative targets for antifungal drug development //Adv Pharm., 1998, 44, p. 343–500.

11. Gulea A.P. et al. Coordination Compounds of Copper with 2-Formylpyridine 4-(Dimethylphenyl) thiosemicarbazones //Журнал Общей Химии 2012, Vol. 82 , p. 1880–1884.

12. Gulshan K., Moye-Rowley W.S. Multidrug resistance in fungi //Eukaryot Cell, 2007, 6, p. 1933 – 1942.

13. Harrison B.D. et al. A tetraploid intermediate precedes aneuploid formation in yeasts exposed to fluconazole //PLoS Biol , 2014, 12, p. e1001815.

14. Havlickova B., Czaika V. A., Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide //Mycoses, 2008, 51 (Suppl. 4), p.2–15.

15. Jimenez-Ortigosa C. et al. Chitin synthases with a myosin motor-like domain control the resistance of *Aspergillus fumigatus* to echinocandins //Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56, p. 6121 – 6131.

16. Kanafani Z.A., Perfect J.R. Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact //Clin Infec Dis, 2008, 46, p. 120-128.

17. Kathiravan M.K. et al. The biology and chemistry of antifungal agents: A review. //Bioorg Med Chem, 2012, 20, p.5678–5698.

18. LaFayette S.L. et al. PKC signaling regulates drug resistance of the fungal pathogen *Candida albicans* via circuitry comprised of Mkc1, calcineurin, and Hsp90 //PLoS Pathog, 2010, 6: e1001069

19. Lee K.K. et al. Elevated cell wall chitin in *Candida albicans* confers echinocandin resistance in vivo //Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56. p. 208 – 217.

20. Lehrnbecher T. al. Trends in the postmortem epidemiology of invasive infections at a university hospital //J. Infect., 2010, 61(3), p. 259-265

21. Lozan-Tîru C. Efectul antimicrobian al compuşilor coordinativi ai cuprului, zincului, cobaltului ţşi nichelului cu n-piridin-2-iltiosemicarbazonă 2 piridincarboxi-aldehidei ţşi derivaţii ei //Curierul medical 2012, 3 (327), p. 308-310.

22. Marichal P. et al. Molecular biological characterization of an azole-resistant *Candida glabrata* isolate //Antimicrob Agents Chemother, 1997, 41, p. 2229 – 2237.

23. Markovich S. et al. Genomic approach to identification of mutations affecting caspofungin susceptibility in *Saccharomyces cerevisiae* //Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48, p. 3871 – 3876.

24. Mukherjee P.K. et al. Mechanism of fluconazole resistance in *Candida albicans*

biofilms: Phase-specific role of efflux pumps and membrane sterols //Infect Immun, 2003, 71, p.4333–4340.

25. Munro C.A. et al. The PKC, HOG and Ca2þ signalling pathways co-ordinately regulate chitin synthesis in *Candida albicans* //Mol Microbiol, 2007, 63, p. 1399 – 1413.

26. Myers, R. S. Antifungal agents. //Immunizing and Antimicrobial Agents. Washington, MEDCH-401,2006; http://courses.washington.edu/medch401/pdf_text/401_06_VI_Antifungal.pdf (accessed 2.09.2015).

27. Nett J.E. et al. Role of Fks1p and matrix glucan in *Candida albicans* biofilm resistance to an echinocandin, pyrimidine, and polyene //Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54, p. 3505–3508.

28. Odds F.C., Brown F.C., Gow N.A. Antifungal agents: mechanisms of action //Trends Microbiol. 2003, 11(6), p.272-279.

29. Osborne C.S. et al. Amino acid substitution in *Trichophyton rubrum* squalene epoxidase associated with resistance to terbinafine //Antimicrob Agents Chemother 2005; 49, p. 2840-2844.

30. Osborne C.S. et al. Biological, biochemical, and molecular characterization of a new clinical *Trichophyton rubrum* isolate resistant to terbinafine //Antimicrob Agents Chemother, 2006; 50, p. 2234-2236.

31. Parks L. W., CaseyW.M. Fungal sterols,. *In* R. Prasadand M. Ghannoum (ed.), Lipids of pathogenic fungi. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla, 1996, p. 63–82

32. Ramage G. et al. Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms //J Antimicr. Chemother, 2002, 49, p. 973–980.

33. Ramage G., et al. Our current understanding of fungal biofilms. //Crit Rev Microbiol, 2009 35, p. 340–355.

34. Reinoso-Martin C. et al. The yeast protein kinase C cell integrity pathway mediates tolerance to the antifungal drug caspofungin through activation of Slt2p mitogen-activated protein kinase signaling //Eukaryot cell, 2003, 2,p. 1200 – 1210.

35. Rocha E.M.F. et al. A phe389Leu substitution in ErgA confers terbinafine resistance in *Aspergillus fumigatus //*Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50, p. 2533-2536.

36. Selmecki A, Forche A, Berman J. Genomic plasticity of the human fungal pathogen *Candida albicans* //Eukaryot Cell, 2010, 9, p. 991 – 1008.

37. Shapiro R.S., Robbins N., Cowen L.E. Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance, and disease //Microbiol Mol Biol Rev, 2011, 75, p. 213 – 267.

38. Sionov E. et al. *Cryptococcus neoformans* overcomes stress of azole drugs by formation of disomy in specific multiple chromosomes //PLoS Pathog, 2010, e1000848.

39. Sussman A. et al. Discovery of cercosporamide, a known antifungal natural product, as a selective Pkc1 kinase inhibitor through high-throughput screening //Eukaryot Cell, 2004, 3, p. 932 – 943.

40. Vengurlekar S., Sharma R., Trivedi P. Efficacy of some natural compounds as antifungal agents //Pharmacogn Rev. 2012, 6(12), p.91–99.

41. Walker L.A. et al. Stimulation of chitin synthesis rescues *Candida albicans* from echinocandins //PLoS Pathog, 2007, 4, e1000040.

42. Walker L.A., Gow N.A., Munro C.A. Elevated chitin content reduces the susceptibility of *Candida* species to caspofungin //Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57, p. 146 – 154.

43. White T.C. Mechanisms of resistance to antifungal agents //Murray P.R. et al (Eds.). Manual of Clinical Microbiology, 9th Ed. ASM Press,Washington, DC. 2007; p.1961-71.

ECOLOGIA ŞI GEOGRAFIA

SPECIFICUL CREŞTERII ÎN ÎNĂLŢIME A DESCENDENŢILOR STEJARULUI PUFOS (*QUERCUS PUBESCENS* WILLD.) ÎN FUNCŢIE DE PROVENIENŢA LOR ECOLOGICĂ

Petru Cuza

Institutul de Ecologie şi Geografie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei

Rezumat

Au fost cercetate particularităţile privind creşterea descendenţilor stejarului pufos (*Quercus pubescens* Wild.) în culturile forestiere de diferită provenienţă ecologică. S-a demonstrat că dintre provenienţele investigate, cea „locală" s-a caracterizat prin cele mai rapide creşteri. Tot atât de bine au crescut puieţii proveniţi din Baimaclia. Considerăm că această sursă de seminţe se caracterizează prin eterogenitate genetică şi este bine adaptată, capabilă să-şi ajusteze starea de homeostazie la condiţiile staţionale ale locului de cultură. S-a stabilit că energia de creştere în înălţime a provenienţelor scade simţitor cu mărirea distanţei de la sursa locală de seminţe până la arboretul de origine. În baza rezultatelor obţinute recomandăm ca lucrările de împăduriri să se efectueze prin semănatul ghindei de provenienţă „locală", sau cu cea recoltată din trupurile de pădure învecinate.

Cuvinte cheie: Stejar pufos, provenienţa ghindei, puieţi, creşterea.

Depus la redacţie 22 mai 2015

Adresa pentru corespondenţă: Cuza Petru, Institutul de Ecologie şi Geografie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028 Chişinău, Republica Moldova; e-mail: petrucuza@mail.ru, tel. (+373 022) 739838

Introducere

Cercetarea stării de sănătate a pădurilor şi a variabilităţii populaţionale din interiorul lor, precum şi a tipologiei ecosistemelor forestiere, au scos la iveală faptul că factorii de bază ce au dus la reducerea diversităţii biologice, a productivităţii şi stabilităţii arboreturilor din teritoriul Republicii Moldova se datorează regenerării stejăretelor în generaţii repetate din lăstari, carenţelor la efectuarea lucrărilor de îngrijire a arboreturilor şi instalarea culturilor forestiere fără a ţine cont de provenienţa materialelor de reproducere [3, 4, 5, 7, 9]. Reducerea variabilităţii populaţionale se datorează defrişării şi fragmentării pădurilor, a tăierilor de tot felul, în special a celor ilicite, sau carenţelor de ordin tehnologic efectuate în arboreturi [2. 3, 4].

Un obiectiv important ce are în vedere ameliorarea stării actuale a pădurilor se referă la promovarea în compoziţia culturilor forestiere a unor fenotipuri ce se remarcă printr-un complex de indicatori şi însuşiri variabile ale caracterelor, menite să asigure diversitatea genetică în interiorul plantaţiilor. Din acest punct de vedere cercetarea variabilităţii ecologice şi geografice în cadrul culturilor de provenienţe ale speciilor lemnoase este o activitate deosebit de importantă şi cu mari rezerve în vederea ridicării productivităţii şi stabilităţii în pădurile nou constituite. Mai mult decât atât, cercetarea variabilităţii geografice sub aspectul estimării eritabilităţii caracterelor şi însuşirilor la plantele lemnoase are o importanţă deosebită în teoria şi practica silvică, deoarece

permite să evidenţieze legităţile genetico-evolutive în formarea structurii genotipice a populaţiilor în diferite părţi ale arealului speciei. În acest scop, se foloseşte metoda clasică, care are în vedere studierea variabilităţii ereditare a caracterelor şi însuşirilor la speciile lemnoase şi în special la cele de stejar, ca urmare a constituirii unei reţele de culturi de provenienţă [11].

Material şi metode

Pentru constituirea culturilor forestiere de stejar pufos de diferită provenienţă ecologică, în partea de sud a Republicii Moldova au fost alese 4 arboreturi naturale care cresc pe teritoriul ocoalelor silvice Baimaclia, Băiuş, Cărpineni şi Zloţi. În interiorul arboreturilor, în locurile cele mai reprezentative pentru specia dată, au fost amplasate suprafeţe experimentale în formă de pătrat cu latura de 50 m (suprafaţa fiind de 0, 25 ha). Fiecare arbore din suprafaţa delimitată a fost numerotat cu vopsea albă. În fiecare suprafaţă au fost aleşi câte 10 arbori care se caracterizează prin indici dendrometrici superiori, în comparaţie cu media arboretului. De pe arborii selectaţi în toamna anului 2003 a fost recoltată ghinda. În luna decembrie, pe teritoriul pepinierei din ocolul silvic Băiuş, ghinda a fost semănată în conformitate cu o schemă adoptată anterior. Răsărirea puieţilor a fost satisfăcătoare. Pe parcursul perioadei de vegetaţie a anului care a urmat (anul 2004) semănăturile au fost îngrijite prin prăşitul şi plivitul buruienilor.

După primul an de vegetaţie (în luna aprilie 2005), puieţii de stejar pufos au fost transplantaţi pe un alt teren în formă de platou, care se caracterizează prin condiţii staţionale favorabile cultivării acestei specii. Puieţii au fost plantaţi cu ajutorul plantatorului. Au fost plantate 4 rânduri de puieţi spaţiate la distanţa de 2,5x1,0 m. Puieţii au fost plantaţi separat pe provenienţe, cu orânduirea descendenţilor în conformitate cu numerele de ordine ale arborilor de la care a fost recoltată ghinda. Puieţii obţinuţi din ghinda recoltată de la un anumit arbore semincer au fost denumiţi *familie genetică*. În experiment fiecare provenienţă ecologică a fost constituită din 10 *familii genetice* diferite, iar ultimele, la rândul lor, au inclus de la 20 până la 30 de puieţi. Înălţimea puieţilor a fost măsurată cu ruleta la precizia de ± 0,5 mm. Deosebirile dintre valorile medii ale înălţimii puieţilor pe provenienţe au fost stabilite aplicându-se criteriul Student [12].

Pentru a aprecia ritmul de creştere în înălţime a puieţilor din diferite provenienţe, acestea au fost separate după energia lor de creştere în trei categorii, şi anume: lentă, medie şi rapidă. În calitate de material factologic iniţial au servit valorile medii ale provenienţelor, care au fost divizate în trei părţi în funcţie de înălţimea lor, aplicându-se în acest scop indicele statistic abaterea standard [13]. Provenienţele, ale căror înălţimi medii erau cuprinse în limitele valorilor unei abateri standard (σ), au fost caracterizate printr-o creştere medie. La aceste entităţi amplitudinea de variaţie a înălţimii medii a fost cuprinsă între M ± 0,5 σ. Provenienţele al căror indice al înălţimii medii a înregistrat valori mai mari sau mai mici decât valoarea abaterii standard au fost atribuire la categoria cu creştere rapidă sau lentă.

Rezultate şi discuţii

Cercetările culturilor de provenienţă au o importanţă majoră pentru o gospodărire corectă a pădurilor de cvercinee care, în ţara noastră, sunt în marea lor majoritate degradate ca rezultat al regenerării în generaţii repetate din lăstari, iar tehnologiile de reconstrucţie ecologică a arboreturilor de stejar pufos nu sunt elaborate până în prezent.

Având în vedere problema abordată, trebuie să se răspundă la o serie de întrebări care se referă la distanţa de transfer a seminţelor care nu ar atrage după sine riscurile legate de: reducerea creşterilor şi a înrăutăţirii calităţii arboreturilor, pierderea capacităţii adaptive a descendenţilor, sporirea vulnerabilităţii lor faţă de boli şi insecte defoliatoare. În contextul celor discutate mai apare o problemă care se referă la tendinţele schimbărilor climatice care, în ultimele decenii, prin felul în care se manifestă, afectează starea de vegetaţie a stejăretelor [8].

Din acest punct de vedere este necesar ca în cadrul provenienţelor şi familiilor genetice, de rând cu analiza parametrilor dendrometrici, să se ia în vedere rezistenţa genotipurilor la acţiunea temperaturilor înalte şi secetă. Alegerea provenienţelor şi familiilor genetice care se remarcă prin plasticitate fenotipică ridicată este o măsură certă ce poate mări capacitatea adaptivă a stejarului pufos la schimbările climatice. Cercetările culturilor de provenienţă, instituite de noi, sunt complexe şi au în vedere realizarea subiectelor expuse mai sus, dar în ceea ce priveşte prezenta lucrare, ne vom referi la particularităţile de creştere ale descendenţilor stejarului pufos în diferite provenienţe.

Rezultatele cercetărilor sunt reflectate în figura 1, din care reiese că în primii 10 ani de viaţă descendenţii stejarului pufos s-au caracterizat prin creşteri inegale. În primii 5 ani de viaţă, puieţii au avut o creştere lentă şi asemănătoare, iar în anii care au urmat ritmul de creştere al stejăreilor s-a accelerat considerabil. Mai mult decât atât, au sporit deosebirile dintre viteza de creştere a descendenţilor care aparţin la diferite provenienţe.

Este necesar de remarcat faptul că după primul an de viaţă puieţii au fost transplantaţi din pepiniera ocolului silvic Băiuş într-un alt teritoriu din apropiere, care se caracterizează prin condiţii de creştere propice stejarului pufos. De fapt, transplantarea a fost o operaţie tehnică care în următorii 4 ani după repicare, a afectat profund creşterea puieţilor, ceea ce este redat într-un mod concludent pe graficele prezentate în figura 1 (vezi felul în care au crescut provenienţele analizate în perioada respectivă de timp). Este important de subliniat faptul că pe parcursul primului an după transplantare creşterea puieţilor s-a stopat. În anii care au urmat, puieţii au început să crească în înălţime, dar foarte lent. De aici reiese că la fel ca şi în cazul plantulelor obţinute din seminţe, care se remarcă printr-o creştere lentă în primii 2 ani de viaţă [6], la puieţii de stejar transplantaţi domină procesul de restabilire şi dezvoltare ulterioară a sistemului radicular, care decurge în următorii 2 ani după operaţia tehnică de repicare. Abia în anii 3-4 după transplantare puieţii încep să crească încet în înălţime. Cu titlu de exemplificare menţionăm că chiar dacă în primii ani de viaţă puieţii din toate provenienţele analizate s-au caracterizat prin creşteri lente, în partea superioară a clasamentului au fost descendenţii din ocolul silvic Băiuş, care au realizat cele mai mari înălţimi. Înălţimea medie a puieţilor din această provenienţă, după primul an de viaţă, a constituit 6,6 cm, iar după cel de-al 3-lea an de vegetaţie, acest indice s-a mărit doar cu 4,5 cm (înălţimea medie a puieţilor fiind de 11,1 cm) (tab. 1). În această privinţă, rezultatele noastre coincid cu cele obţinute anterior [5], potrivit cărora s-a demonstrat că retezarea pe o anumită lungime a sistemului radicular la stejarul pufos deteriorează profund procesele de creştere în înălţime a puieţilor repicaţi. Din cele relatate concluzionăm că regenerarea îndelungată a sistemului radicular după transplantare, care are o durată comparabilă cu perioada

formării şi ancorării suficiente în sol a rădăcinilor la plantulele obţinute din semănături (2 ani) duce la mărirea termenului de cultivare a culturilor forestiere de stejar pufos. Un astfel de procedeu de instalare a culturilor forestiere necesită cheltuieli financiare suplimentare pentru efectuarea lucrărilor de transplantare, completare, de îngrijire mai îndelungată a culturilor (cu cel puţin 2 ani mai mult, comparativ cu semănatul) şi formarea întârziată a stării de masiv. În baza rezultatelor obţinute recomandăm ca, la efectuarea lucrărilor de împăduriri, stejarul pufos să fie introdus în compoziţia culturilor forestiere prin efectuarea semănatului ghindei.

Este necesar de relatat faptul că chiar dacă în următorii ani după transplantare puieţii stejarului s-au caracterizat prin creşteri asemănătoare, totuşi între provenienţele analizate au fost evidenţiate deosebiri statistic semnificative. Deja în cel de-al 4-lea an de viaţă a fost evidenţiată tendinţa de creştere diferenţiată a descendenţilor în provenienţele analizate. Aşadar, în prima clasă de variaţie, cele mai mari înălţimi au fost atestate la descendenţii din provenienţa Băiuş.

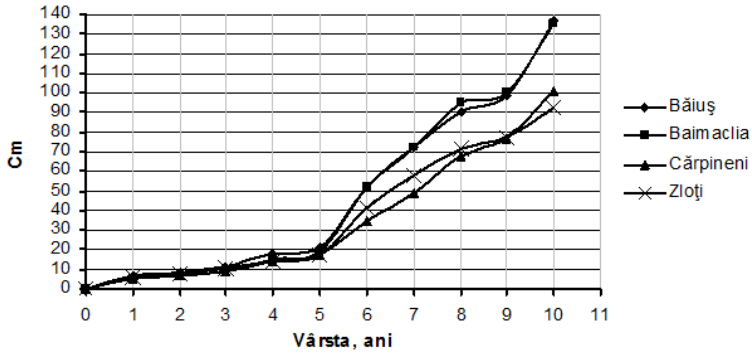


Figura 1. Dinamica de creştere în înălţime a puieţilor de Q. pubescens de diferită provenenţă ecologică.

Puieţii din provenienţa respectivă au realizat o înălţime medie semnificativ mai mare (P = 95%; $t_{calc.}$ = 2,205), în comparaţie cu cea obţinută la provenienţa Cărpineni (tab. 1). Provenienţa Zloţi a înregistrat cea mai mică înălţime medie (de 14,1 cm), care a constituit 77,0% din cea a puieţilor din provenienţa Băiuş (P = 95%; $t_{calc.}$ = 2,548). Aşadar, rezultă că, condiţiile staţionale ale locului de cultură exercită o influenţă favorabilă pentru creşterea şi dezvoltarea puieţilor stejarului pufos de provenienţă locală.

Este interesant faptul că cel de-al 6-lea an de vegetaţie şi anii care au urmat au marcat intensificarea ritmului de creştere a descendenţilor în toate provenienţele analizate. Cu titlu de exemplificare remarcăm că, în comparaţie cu cel de-al 5-lea an de viaţă, pe care l-am luat în calitate de an de reper, înălţimea medie a puieţilor din provenienţa Cărpineni în cel de-al 7-lea sezon de vegetaţie a sporit de 2,9 ori, iar în cel de-al 10-lea an – de 5,9 ori. Analiza efectuată ne permite să concluzionăm că operaţia tehnică de transplantare dăunează grav stării vitale a plantelor pe o perioadă de timp îndelungată (de 4 ani după repicare), fapt care se remarcă prin diminuarea considerabilă a creşterilor în înălţime a plantelor. Mai mult decât atât, după transplantare, o parte semnificativă a puieţilor stejarului încep să formeze tulpini din mai mulţi muguri laterali, astfel încât plantele au o formă de „tufă”, care se caracterizează prin creşteri insuficiente. Asemenea „tufe” de stejar pufos au trunchiul „deformat”, adică constituit din mai multe tulpini care sunt de regulă, strâmbe sau sinuate.

Tabelul 1. Semnificaţia deosebirilor dintre provenienţe apreciată după înălţimea puieţilor de stejar pufos.

Provenienţa	Înălţimea medie, cm	Abaterea medie pătrată	Eroarea mediei	Criteriul Student $t_{calc.}$ al semnificaţiei deosebirilor dintre provenienţe		
				Baimaclia	Băiuş	Cărpineni
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*
După 3 ani de viaţă						
Baimaclia	9,0	4,93	1,23	-	-	-
Băiuş	11,1	7,08	1,77	0,964	-	-
Cărpineni	9,1	3,67	0,24	0,012	1,157	-
Zloţi	10,2	3,95	0,31	0,899	0,522	2,881**
După 4 ani de viaţă						
Baimaclia	15,1	5,42	1,36	-	-	-
Băiuş	18,3	6,51	1,63	1,531	-	-
Cărpineni	14,7	4,41	0,28	0,287	2,205*	-
Zloţi	14,1	4,53	0,29	0,701	2,548*	1,431
După 5 ani de viaţă						
Baimaclia	18,5	3,73	0,24	-	-	-
Băiuş	20,7	6,04	1,51	1,863	-	-
Cărpineni	17,0	5,07	1,27	1,123	1,454	-
Zloţi	17,1	7,62	0,45	0,038	2,299*	2,742**
După 7 ani de viaţă						
Baimaclia	72,4	39,76	13,25	-	-	-
Băiuş	72,6	33,81	8,20	0,009	-	-
Cărpineni	48,9	24,44	2,56	2,064*	2,754**	-
Zloţi	58,1	31,61	3,04	1,056	1,658	2,303**
După 8 ani de viaţă						
Baimaclia	95,2	48,04	15,19	-	-	-
Băiuş	90,7	35,62	8,64	0,260	-	-
Cărpineni	67,9	32,24	3,38	1,968*	2,446*	-
Zloţi	71,3	37,22	3,37	1,536	2,087*	0,670
După 9 ani de viaţă						
Baimaclia	99,8	62,18	16,05	-	-	-
Băiuş	98,9	43,11	9,64	0,051	-	-
Cărpineni	76,9	42,05	3,92	1,383	2,105*	-
Zloţi	77,6	41,32	3,18	1,358	2,095*	0,127
După 10 ani de viaţă						
Baimaclia	135,1	77,17	19,30	-	-	-
Băiuş	136,9	58,42	12,75	0,077	-	-
Cărpineni	101,1	59,48	4,94	1,901*	2,620**	-
Zloţi	92,3	54,51	3,90	2,175*	3,344***	1,391*

Notă: semnificativ la pragul de * 5%, ** 1%, ***0,1%

În cele ce urmează trebuie să menţionăm şi un alt specific al creşterii descendenţilor, şi anume că, odată cu înaintarea în vârstă a puieţilor, au fost evidenţiate deosebiri dintre înălţimea medie a provenienţelor, astfel încât cele din Băiuş şi Baimaclia s-au caracterizat printr-o energie de creştere rapidă şi în general asemănătoare. Celelalte provenienţe analizate s-au remarcat prin creşteri insuficiente. Din figura 1 se observă că, pornind cu cel de-al 6-lea an de viaţă, în fruntea clasamentului, având cele mai mari creşteri, în diferiţi ani se perindau provenienţele Băiuş şi Baimaclia. Este necesar de relatat faptul că în al 6-7-lea ani de viaţă, după energia de creştere, prevalau descendenţii din Băiuş, dar în anii al 8-9-lea de vegetaţie situaţia s-a inversat, astfel încât puieţii din provenienţa Baimaclia aveau creşteri întrucâtva mai mari, urmând ca în cel de-al 10-lea an stejăreii din Băiuş să aibă a viteză de creştere mai mare, depăşindu-i după acest parametru pe cei din Baimaclia. În partea inferioară a clasamentului, cele mai mici creşteri au fost atestate la descendenţii proveniţi din Cărpineni. Astfel, la vârsta de 7 ani, provenienţa locală (din Băiuş), care în acest an s-a dovedit a fi cea mai bună din punctul de vedere al energiei de creştere a puieţilor, a depăşit-o cu 48,4% pe cea din Cărpineni (P = 99%; $t_{calc.}$ = 2,754). De asemenea, după viteza de creştere a puieţilor, provenienţa Baimaclia, care ocupa poziţia a 2-a în clasament, a depăşit-o cu 48,1% pe cea din Cărpineni (P = 95%; $t_{calc.}$ = 2,064) (tab. 1). Cele prezentate denotă că într-un spaţiu geografic restrâns, cum este partea de sud a ţării, condiţiile factorilor de mediu ai locului de cultură influenţează substanţial energia de creştere a descendenţilor în diferite provenienţe.

După cum se vede, descendenţii stejarului pufos de diferită provenienţă ecologică se caracterizează printr-un anumit ritm de creştere. Pentru determinarea certă a deosebirilor dintre provenienţe, după energia de creştere a puieţilor, acestea au fost împărţite pe categorii, folosindu-se în acest scop indicele abaterii standard [13]. Analiza creşterilor s-a efectuat începând cu cel de-al 6-lea an de viaţă al puieţilor pentru că, după cum s-a arătat mai sus, în această perioadă de timp deosebirile dintre provenienţe, după energia de creştere a descendenţilor, au devenit semnificative (fig. 1). S-a stabilit că descendenţii provenienţelor Băiuş şi Baimaclia, ai căror arbori seminceri se află la o distanţă de circa 30 km, au cele mai mari înălţimi medii, astfel încât aceştia au fost atribuiţi la categoria cu creştere rapidă. Printr-o creştere lentă s-au caracterizat descendenţii care aparţin provenienţei Cărpineni. Descendenţii proveniţi din arborii seminceri care vegetează în trupul de pădure Zloţi, în anii 6-7 de viaţă, s-au caracterizat printr-o creştere medie, iar în următorii ani creşterea lor a scăzut, astfel încât aceştia au trecut în categoria de creştere lentă. Considerăm că particularităţile privind creşterea descendenţilor din diferite provenienţe se datorează unor factori obiectivi. Veridicitatea rezultatelor obţinute se datorează faptului că între provenienţele care aparţin aceleiaşi categorii de creştere nu au fost evidenţiate deosebiri statistic semnificative . În schimb, între provenienţele care au fost atribuite de noi la categorii de creştere diferite au fost găsite deosebiri statistic asigurate (între provenienţele Băiuş şi Cărpineni, de exemplu) (vezi datele din tabelul 1). Pe marginea rezultatelor obţinute, concluzionăm că, condiţiile ecologice ale locului de cultură au exercitat influenţe pozitive pentru creşterea rapidă a descendenţilor de provenienţă locală.

După cum reiese din analiza datelor prezentate, la stejarul pufos sursa de seminţe cea mai adaptată la condiţiile ecologice ale staţiunii este cea de provenienţă locală,

adică din Băiuş. Acest lucru se bazează pe faptul că tocmai provenienţa respectivă se caracterizează prin cele mai rapide creşteri. De asemenea, o sursă de seminţe bine tamponată la spectrul factorilor de mediu ai locului de cultură este provenienţa Baimaclia. Faptul că provenienţele menţionate mai sus se caracterizează prin creşteri asemănătoare se explică prin aceea că ele sunt situate la o depărtare nu prea mare (de circa 30 km), astfel încât condiţiile pedo-climatice în care vegetează populaţiile locale sunt asemănătoare. Mai mult decât atât, presupunem că sursa de seminţe din Baimaclia se caracterizează printr-o diversitate genetică vastă şi printr-o capacitate adaptivă ridicată, capabilă să-şi ajusteze starea de homeostazie la noile condiţii staţionale. Provenienţele din Cărpineni şi Zloţi, îndepărtate la circa 90-100 km de la arboretul de origine locală, s-au caracterizat prin creşteri mai lente. Aşadar, odată cu mărirea distanţei dintre arboretul sursă de seminţe şi cel de origine locală scade capacitatea adaptivă a descendenţilor, care în cazul nostru se remarcă prin diminuarea energiei lor de creştere. Specificul creşterii provenienţelor depinde de influenţa unui şir de factori de natură genetică şi ecologică. Având în vedere distribuţia „natural-istorică" a genotipurilor de stejar pe teritoriul ţării, este posibil să existe diferenţe genetice între populaţiile locale care vegetează în diferite condiţii ecologice. Totodată, nu este exclusă influenţa adaptărilor epigenetice asupra creşterii descendenţilor [1, 14].

Cu referire la problema abordată, profesorul universitar V. Stănescu [10] susţine că populaţia locală nu trebuie percepută în calitate de entitate „cu o specializare foarte îngustă şi limitată, izolată de contactul cu alte populaţii şi incapabilă să reacţioneze pozitiv la modificări ambientale importante". Tocmai în sensul afirmaţiei de mai sus nu este binevenit să atribuim provenienţei locale o sferă de aplicabilitate foarte îngustă, ceea ce ar însemna că arealul speciei ar trebui pulverizat în mici habitate, în care s-ar face ieşirea şi intrarea materialului forestier de reproducere. Pe lângă dificultăţile de ordin practic, legate de asigurarea ocoalelor silvice cu seminţe, în special a speciilor de stejar care se caracterizează prin periodicitatea fructificaţiei, asemenea cazuri ar duce la îngustarea variaţiei genetice polimorfice şi ca rezultat la pierderea vigorii şi capacităţii adaptive a culturilor forestiere. De aceea, în cazul nostru, ghinda recoltată din arboreturile ocolului silvic Baimaclia poate fi utilizată fără mari temeri de pierdere a vigorii de creştere a puieţilor în condiţiile ocolului silvic Băiuş. Este necesar de a evita transferul ghindei la o depărtare mai mare, adică din teritoriile ocoalelor silvice din Întreprinderea silvică Hânceşti şi Cimişlia, pentru că în cazul dat riscurile unor eventuale eşecuri în ceea ce priveşte obţinerea de culturi forestiere viguroase şi repede crescătoare sporeşte.

Concluzii:

1. Dintre provenienţele investigate, cea „*locală*" s-a remarcat printr-o energie de creştere mai pronunţată, în comparaţie cu cele „*alocale*". Reiese că descendenţii stejarului pufos sunt mai performanţi în condiţiile habitatelor din care provin.
2. Descendenţii provenienţei din Baimaclia se deosebesc prin creşteri rapide în înălţime, similare cu cele ale provenienţei „*locale*". Având în vedere distanţa relativ mică dintre arboreturile de origine, nu este exclus că în trecut acestea au format o populaţie comună, în continuare separată de factorul antropogen. Din această cauză populaţiile locale investigate sunt genetic înrudite.

3. Se atestă o tendinţă de reducere statistic semnificativă a energiei de creştere în înălţime a descendenţelor, ale căror arboreturi de origine sunt distanţate de la sursa locală de seminţe. De aceea, pentru a evita riscurile şi eşecurile de reducere a performanţei de creştere şi de înrăutăţire a calităţii puieţilor de stejar în culturile forestiere, este nevoie ca la efectuarea lucrărilor de împăduriri să fie folosită în exclusivitate ghinda de provenienţă locală sau din arboreturile din vecinătate.

4. Operaţia tehnică de transplantare, utilizată la constituirea culturilor de stejar pufos, măreşte cheltuielile financiare legate de instalarea şi îngrijirea puieţilor şi în consecinţă determină formarea întârziată a stării de masiv a arboretului. De aceea, pentru ridicarea eficienţei de cultivare a culturilor forestiere, în primii ani de viaţă, este necesar ca instalarea stejarului pufos să se efectueze prin semănatul ghindei.

Bibliografie

1. *Berdasco M., Fraga M. F., Cañal M. J. et al.* Epigenetics, the role in plant differentiation and development. //Population genetics and genomics of forest trees: from gene function to evolutionary dynamics and conservation: inter. scien. conf. Madrid, 2006. P. 298.
2. *Boaghie D., Cuza P*. Unele aspecte privind conservarea şi ameliorarea diversităţii biologice a pădurilor din Republica Moldova. //Bilanţul activităţii ştiinţifice a USM pe anii 1998/99: Tezele conf. corpului didactico-ştiinţific. Chişinău, 2000. P. 263-264.
3. *Cuza P. A*. Impactul activităţilor silviculturale asupra stării actuale a fondului forestier din Republica Moldova. //Biodiversitatea vegetală a republicii în preajma mileniului III: Tezele cong. II al societăţii de botanică din Republica Moldova. Chişinău, 1998. P. 14-15.
4. *Cuza P*. Sugestii privind conservarea diversităţii biologice a pădurilor din Republica Moldova. //Analele ştiinţifice ale Universităţii de Stat din Moldova. Seria „Ştiinţe chimico-biologice”. Chişinău, 2001. P. 181-186.
5. *Cuza P*. Particularităţile populaţionale şi morfo-fiziologice ale speciilor de stejar şi rolul lor în menţinerea fitocenozelor forestiere în Republica Moldova. Teza de doctor habilitat în biologie. Chişinău, 2011. 285 p.
6. *Cuza P*. Creşterea în înălţime a culturilor experimentale de stejar pufos (*Quercus pubescens* Wild.) în funcţie de gradul de umbrire. //Mediul ambiant. 2014. Nr. 3 (75). P. 6-11.
7. *Cuza P., Tîcu L*. Starea pădurilor din Rezervaţia „Plaiul Fagului” reflectată de „Monitoringul forestier”. //Ecosofia şi perspectiva umană. Chişinău, 2005. P. 251-256.
8. *Dascaliuc A., Cuza P*. Determinarea termotoleranţei la gorun şi stejarul pedunculat cu ajutorul metodei de scurgere a electroliţilor. //Mediul ambiant. 2007. Nr. 6 (36). P. 27-31.
9. *Doniţă N., Ursu A., Cuza P., Ţîcu L*., Buşmachiu G., Ostaficiuc V. Cercetarea ecosistemelor forestiere din Rezervaţia „Plaiul Fagului”. Chişinău: Universul, 2007. 176 p.
10. St*ănescu V*. Aplicaţii ale geneticii în silvicultură. Bucureşti: Ceres, 1984. 291 p.
11. В*ересин М. М., Ефимов Ю. П., Арефьев Ю. Ф*. Справочник по лесному селекционному семеноводству. //Москва: Агропромиздат, 1985. 248 с.
12. *Зайцев Г. Н*. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. Москва: Наука, 1984. 424 с.
13. *Ирошников А. И., Мамаев С. А., Правдин Л. Ф., Щербакова М. А*. Методика изучения внутривидовой изменчивости древесных пород. Москва: ЦБТИ Гослесхоз СССР, 1973. 31 с.
14. *Тимофеев-Ресовский Н. В., Яблоков А. В., Глотов Н. В*. Очерк учения о популяции. Москва: Наука, 1973. 278 с.

ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ РЕКОНСТРУКЦИИ БЕЛОАКАЦИЕВЫХ НАСАЖДЕНИЙ С ВВОДОМ ИНТРОДУЦИРОВАННОГО ОРЕХА ЧЕРНОГО В ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ НИЖНЕГО ДНЕСТРА

Кичук Наталья

Институт экологии и географии, Академия наук Молдовы

Rezumat

În prezenta lucrare sunt scoase în evidenţă problemele ce ţin de fenomenul uscării salcâmetelor şi formaţiunilor silvice cu participarea salcâmului din limitele fitocenozelor Nistrului de Jos. În contextul acestui deziderat, pe fondul particularităţilor mediului silvic caracteristic fitocenozelor Ocolului silvic Hârbovăţ au fost supuse cercetării mai mulţi indici cum ar fi: evaluarea comparativă a parametrilor creşterii şi dezvoltării trunchiului, indicii calitativi şi cantitativi ai lemnului de lucru, a vârstei de exploatabilitate tehnică a arboretelor de stejar pedunculat, nuc negru şi salcâm. În baza realizărilor obţinute sunt formulate şi propuse într-o formă succintă recomandări în vederea reconstrucţiei ecologice a formaţiunilor silvice degradate cu participarea salcâmului din limitele nişelor ecologice respective prin substituirea acestuia cu nucul negru.

Cuvinte cheie: nuc negru, introducent, arboret de salcâm alb, reconstrucţia ecologică, volumul arboretului pe picior, rectitudinea trunchiului, arborete înalt productive.

Depus la redacţie 11 august 2015

Adresa pentru corespondenţă: Chiciuc Natalia, Institutul de Ecologie şi Geografie al Academiei de Ştiinţe a Moldovei, 1, MD 2028 Chişinău, Republica Moldova; E-mail:nata.kichuk.74@mail.ru; tel.: (373)77984292; 22-281473

Введение

Большая часть суши Земли отличается низкой продуктивностью; найти пути ее повышения – одна из важнейших задач специалистов. В мире накоплен достаточно большой положительный опыт лесной интродукции. Во многих случаях, интродуценты оказываются более конкурентоспособны и продуктивны, чем местные лесообразователи. В такой ситуации правильно подобранный интродуцент полнее использует факторы окружающей среды для достижения лучших показателей роста. Главная задача современной интродукции, предлагающей введение в культуру ценных в том или ином отношении растений за пределами их природного ареала – это обогащение растительных ресурсов данного региона за счет ресурсов мировой флоры.

Цель исследований:

- изучить рост и состояние растений ореха черного (Juglans nigra), дуба черешчатого (Quercus robur) и акации белой (Robinia pseudoacacia) в Гербовецком лесничестве;

- дать оценку целесообразности использования предлагаемой технологии реконструкции в лесных фитоценозах Нижнего Днестра с вводом ореха черного.

Материалы и методы

Исследования выполнялись с применением полевого и лабораторного методов. В опытных насаждениях была измерена высота до живой кроны и до вершины деревьев, диаметр стволов вдоль и поперек рядов на высоте 1,3 м.

Высоту измеряли высотомером – угломером лесным - ВУЛ-1 (точность ± 5 см), диаметр – лесной мерной вилкой (точность ± 5 мм). На основании полученных данных для исследуемых насаждений были вычислены средние значения высоты и диаметра стволов, общий запас древесины, доверительный интервал для среднего значения, коэффициент изменчивости. Основные статистические данные были обработаны методом дисперсионного анализа [3].

Результаты и их обсуждение

Уже в начальный период лесокультурных работ в Гербовецком лесу предпочтение отдавалось белой акации. С 1876 по 1882 год здесь были созданы культуры на площади 237,4 га, в том числе из белой акации 105,5 га, акации и дуба 13,2 га, акации и береста (Ulmus) 18,5 га, акации и гледичии (Gleditsia) 5,8 га, акации и ясеня (Fraxinus) 16,0 га, акации, дуба (Quercus) и береста 12,9 га и др. И в дальнейшем при создании культур в Гербовецком лесу предпочтение отдавалось быстрорастущим древесным породам: белой акации и ясеню обыкновенному (Fraxinus excelsior). Так что к 1963 г., когда Гербовецкий лес площадью более 2,2 тыс. га стал экспериментальной базой образованной в 1945 году Молдавской лесной опытной станции, акациевые насаждения здесь занимали 29,2% покрытой лесом площади, ясеневые – 30,1%, дуб черешчатый – 17,8% и естественные гырнецовые дубравы из дуба пушистого (Quercus pubescens) – 19,2%.

По данным Гуманецкого В. М. [1, 2], в условиях сухих дубрав Гербовецкой дачи белая акация и ясень отличались быстрым ростом, и уже в первые 5 лет давали виноградные тычки, колья, жерди, что и обусловило их широкое применение в лесокультурной практике.

По исследованиям Иванова Г. С. [4], Кравчука Ю. П. [7] было установлено, что белоакациевые насаждения отличаются быстрым ростом только в молодом возрасте и их выращивание хозяйственно эффективно только лишь при 5-10-летнем обороте рубки, когда имеется спрос на мелкие сортименты – виноградную тычину, кол и др. В условиях гырнеца насаждениям свойственно усыхание деревьев на стадии жердняка (для дуба 15 – 20 лет, для белой акации 8 – 10 лет). Этому способствуют продолжительные засушливые периоды, отрицательное действие которых усугубляется низкими температурами в предшествующий зимний период, а также чрезмерная загущенность культур, сочетающаяся с происхождением семян из влажных местопроизрастаний. При этом санитарно-выборочные рубки не способствуют оздоровлению насаждений, но приводят к чрезмерному их изреживанию, развитию злакового покрова, а отсюда – к усилению усыхания.

В начальный период степного лесоразведения увлечение белой акацией было повсеместным. Однако, из-за резкого притупления в росте после 10-летнего возраста, быстрого изреживания и последующего задернения началась массовая гибель белоакациевых насаждений. Это и послужило основанием для принятия в 1984 году в Велико-Андоле решения разводить белую акацию в количестве не более 5% общей площади создаваемых культур при лесоразведении [8].

К сожалению, упомянутое решение ввода пород-пионеров лесоразведения в дальнейшем не было принято во внимание. Белая акация по-прежнему привлекала легкостью разведения, быстротой смыкания, что облегчало выполнение больших

объемов работ. Белая акация высаживалась и на добротных почвах, пригодных для выращивания насаждений с участием коренной породы лесов Молдавии – дуба. Так, по данным лесоустройства 1985 г., в Гослесфонде 70% белоакациевых насаждений занимают площади, пригодные для выращивания дуба.

После сильнейшей засухи 1992 – 1995 гг., белоакациевые насаждения массово усыхали: лес стоял черный. В связи с этим были разрешены рубки белоакациевых насаждений, значительно превышающие предусмотренные планом лесоустройства.

Однако, решение проблемы естественного возобновления белоакациевых вырубок не решало более глубокую проблему: повышение продуктивности и товарности насаждений белой акации. Известно, что каждое очередное порослевое поколение акации имеет и более низкую продуктивность, и ниже товарные качества. Следовательно, для повышения эффективности плодородных земель, которые на большей части занимали белоакациевые насаждения, необходима была их смена – их реконструкция. В связи с этим встал вопрос: какие древесные породы использовать для реконструкции?

С передачей Гербовецкой дачи лесной опытной станции начался плановый характер работы по интродукции, и одной из перспективных пород в Гербовецком лесу Маяцким И. Н. был отмечен такой интродуцент как орех черный [9, 10].

Опытные культуры с участием дуба черешчатого, ореха черного и грецкого, белой акации по разным вариантам смешения были заложены в 1963 г. Ивановым Г.С. в кв. 28, 29 Гербовецкого лесничества по сплошной подготовке почвы на выровненном (приводораздельное плато) участке. Культуры были объектом постоянного наблюдения Молдавской лесной опытной станции.

В таблице 1 приведены данные обследований этих культур в 40-летнем возрасте, которые позволили сделать вывод, что орех черный лучше растет при более редком стоянии – при порядном смешении. На варианте культур с групповым смешением, несмотря на проведенные изреживания в группах, постоянно сказывалась перегущенность ореха. Отсюда несколько меньшие размеры его, чем на участке культур с рядовым смешением. В целом же, в условиях сухой гырнецовой дубравы, по быстроте роста орех черный превосходит и дуб черешчатый, и акацию белую, незначительно уступая дубу по диаметру [5].

Насаждения ореха черного по общему запасу незначительно превосходят дубовые. Но орех отличается ровными, малосбежистыми, высокоочищенными от сучьев стволами. Почти все стволы деловые. По этому показателю насаждения ореха черного в 2,7 раза превосходят дубовые и в 5,5 раза превосходят акациевые насаждения. Необходимо отметить, что возраст технической спелости ореха черного в благоприятных лесорастительных условиях 45-50 лет, а у коренной древесной породы - дуба черешчатого, в тех же лесорастительных условиях, в 2 раза больше (табл. 2).

Серьезной проверкой для всех интродуцентов явилось крайне засушливое и жаркое лето 2007 г. Данный вегетационный период обусловил полное усыхание 30-35-летних растений белой акации, 20-25-летних растений березы бородавчатой и в тоже время не оказал существенного негативного влияния на рост растений ореха черного. Высота растений ореха черного наибольшая

в лесном массиве. Стволы исключительно ровные, малосбежистые с большим запасом дорогостоящей древесины - породы красного дерева. Запас древесины у 40-летнего ореха черного в условиях сухой гырнецовой дубравы в 2,3 раза больше чем у 35-летней акации белой, в 1,8 раза больше чем у 75-летнего дуба черешчатого, в 1,5 раза больше, чем у 80-летних дуба красного и дуба Гартвиса (табл. 3). Первые сучья на стволах начинаются с высоты 7,5-8,5 м (рис. 1). Но и выше этого есть деловая часть ствола, из которой можно заготовить строительное бревно длиной 5 – 6 м [6].

Таблица 1. Данные измерений 40-летних культур с орехом черным, дубом черешчатым и акацией белой (Гербовецкий лес, кв. 28, 29).

№ кв-ла	Состав насаждения	Ярус	Проис-хождение	Диаметр, см	Высота, м	Объем 1 ствола, м³	Деловых стволов, %	Запас древесины, м³
29	10 Оч 9Кт 1Я едКя	1 2	культуры поросль	21,0 8,1	20,0 8,9	0,331 0,026	91,0 2,1	169,1 4,2
29	9 Оч 1Кло 10Кло едСв	1 2	культуры поросль	23,8 9,5	21,7 10,4	0,458 0,039	96,2 12,5	185,2 6,7
28	10 Дч 2Кло3Я4Кя1Кп	1 2	культуры поросль	24,1 9,6	19,2 10,2	0,422 0,040	35,7 5,4	182,7 1,2
28	10 Ак едКло 6Ак 2Кло 2Я	1 2	культуры поросль	20,9 6,3	18,0 10,3	0,370 0,017	18,3 3,1	180,2 11,6

Примечание: *Ак – акация белая, Дч – дуб черешчатый, Кло – клен остролистный, Кп – клен полевой, Кт – клен татарский, Кя – клен ясенелистный, Оч – орех черный, Св – свидина, Я – ясень обыкновенный.*

Таблица 2. Показатели роста различных древесных пород в Гербовецком лесу, в сухих лесорастительных условиях.

Состав насаждения	Показатели главной породы						
	Возраст, лет	диаметр, см		высота, м		количество деловых ство-лов, %	возраст техничес-кой спело-сти, лет
		$\overline{X}$ ± m*	C%	$\overline{X}$ ± m*	C%		
Орех черный с кленом остролистным	40	23,8±2,6	12,7	21,7±2,3	10,2	94,1	45-50
Дуб черешчатый с кле-ном остролистным	40	24,1±2,7	14,5	19,2±2,5	11,4	35,7	90-100
Белая акация	40	20,9±2,5	16,2	18,0±2,4	13,6	18,3	25-35

****Доверительный интервал для средних значений высоты и диаметра рассчитывался при значении на 1%-ном уровне значимости.***

Считается, что орех черный относительно влаголюбивая порода. Успешный рост его в условиях сухих ($Д_1$) и даже очень сухих ($Д_0$) дубрав в Гербовецком лесу безусловно объясняется почвенными условиями. Хорошо оструктуренные суглинистые почвы отличаются большей влагоемкостью и, следовательно, способны к более экономному расходованию влаги выпавших осадков.

Как компонент лесного фитоценоза орех черный уникален. Он относительно теневынослив особенно в первые годы жизни. Это и позволяет с успехом вводить орех черный при реконструкции белоакациевых насаждений по способу предварительных культур.

Таблица 3. Показатели хозяйственно-экономической эффективности древесных пород в Гербовецком лесничестве.

Древесная порода	Возраст, лет	Запас насаждений (по данным отводов), м^3/га
Акация белая	35	154,2
Дуб черешчатый	75	194,0
Дуб красный	80	230,0
Дуб Гартвиса	80	230,0
Орех черный	40	355,6

Рис. 1. 40-летние растения ореха черного с кленом остролистным в Гербовецком лесу, кв. 29.

Еще в 1963 г., когда проводилось лесоустройство Гербовецкого лесного массива как опытного, под реконструкцию намечалось 23% общей покрытой лесом площади. В реконструкцию намечались в основном белоакациевые и ясеневые насаждения, состояние которых было далеко от удовлетворительного. Основным способом реконструкции была сплошная рубка, корчевка, вычесывание пней и корней, плантажная вспашка, выравнивание, а затем создание культур.

Применявшаяся технология реконструкции неудовлетворительных по состоянию и составу насаждений в лесных фитоценозах Нижнего Днестра была антибиологична: вначале все уничтожали – растительность, лесную среду и, следовательно, все живое, сложение и структуру почвы, а затем начинали по отдельным элементам восстанавливать разрушенное.

Затем сложилась обстановка когда применявшаяся ранее технология реконструкции неудовлетворительных насаждений, базирующаяся на

использовании тяжелой техники, не могла быть применена, с одной стороны, из-за отсутствия тяжелых механизмов и дорогостоящих ГСМ, а с другой – ее неприемлемость ни с экологической, ни с природоохранной точек зрения. В создавшихся условиях потребовались новые подходы для решения задач по реконструкции насаждений.

В результате массового усыхания деревьев в насаждениях акации и других пород создавалась экологическая ниша, которая могла быть использована для естественного заселения другими растениями. В деградирующих насаждениях еще сохранилась лесная среда: мертвый напочвенный покров (подстилка), рыхлая почва. Почва природой подготовлена для нового поколения леса.

Маяцкий И.Н. [11] предложил использовать технологию реконструкции усыхающих белоакациевых насаждений, базирующуюся на использовании образующихся в процессе усыхания насаждений экологических ниш.

Принципиальными положениями технологии по реконструкции неудовлетворительных по состоянию и составу насаждений являлись:

- использование экологических ниш, освободившихся в результате усыхания насаждения;
- использование в максимальной степени лесной среды реконструируемых насаждений, что позволяло избежать трудоемких работ по раскорчевке и подготовке почвы;
- использование полога реконструируемого насаждения как фактора, ослабляющего рост сорняков и защищающего в первые годы жизни молодые растения в культурах;
- создание культур преимущественно посевом семян вводимой породы, как правило, без обработки почвы или с минимальной обработкой; посев рядами или площадками;
- использование в максимальной степени элементов естественного возобновления, имеющегося подроста, а также появляющейся поросли сопутствующих и кустарниковых пород.

Экологическая эффективность разработанной технологии реконструкции заключается в том, что не разрушается лесная среда, не снижаются природоохранные, природозащитные свойства лесных участков, где проводится реконструкция, не разрушается структура и сложение почвы, следовательно, ее водопроницаемость, влагоемкость, плодородие. Сохраняются или быстро восстанавливаются все условия для жизнедеятельности живых организмов. Следовательно, здесь соблюдается важное требование – сохранение биоразнообразия.

Наибольший *экономический эффект* ожидается от замены белоакациевых насаждений с использованием предлагаемой технологии, с вводом ореха черного, у которого особенно высок процент деловых стволов и большой запас ценной деловой древесины.

По данным проведенных исследований в лесных фитоценозах Нижнего Днестра, реконструкция неудовлетворительных по состоянию и составу насаждений в районе исследований возможна не только во влажных лесорастительных условиях, но и в сухих лесорастительных условиях Гербовецкого лесничества, где успешно произрастают растения ореха черного, формируя высокопродуктивные стволы.

Выводы

Принимая во внимание данные проведенных исследований и опыт интродукции в других странах, а также положительные качества изучаемой древесной породы: прямоствольность, высокую очищенность от сучьев, устойчивость к болезням и вредителям, высокую продуктивность и долговечность, рекомендуем к применению технологию реконструкции неудовлетворительных по состоянию и составу белоакациевых насаждений в лесных фитоценозах Нижнего Днестра, базирующуюся на использовании образующихся в процессе усыхания насаждения экологических ниш с вводом ореха черного, что экологически и экономически целесообразно.

Литература

1. *Гуманецкий В. М.* Из опыта лесоразведения на юге Молдавии (Гербовецкая лесная дача) //Известия МФ АН СССР. 1954. № 6. С. 69–82.

2. *Гуманецкий В. М.* Основные направления хозяйственной деятельности в Гербовецком лесу в прошлом. Рукопись. 1960.

3. *Доспехов В. А.* Методика полевого опыта. М.: Колос. 1979. 416 с.

4. *Иванов Г. С.* Исследование состояния и роста лесных культур. //Гербовецкий лес. Кишинев. 1970. С. 85–129.

5. *Кичук Н. И., Маяцкий И. Н., Дедю И. И.* Опыт реконструкции насаждений в Гербовецком лесничестве с применением интродуцированного ореха черного. Окружающая среда Приднестровья. Оценка состояния. Вып. 3. Бендеры. Полиграфист. 2014. С. 23-30.

6. *Кичук Н. И.* Отчет ГУ «Республиканский НИИ экологии и природных ресурсов» по теме 2.3.1. «Разработать способы, приемы, технологии, режимы хозяйствования в фитоценозах разных типов, направленных на их сохранение, восстановление, увеличение трофической емкости, продуктивности и рациональное использование», раздел 2 «Разработать рекомендации по реконструкции неудовлетворительных по составу и состоянию насаждений». Бендеры. 2010. С. 28-60.

7. *Кравчук Ю. П.* Выращивание продуктивных лесных насаждений в Молдавии. Кишинев: Картя Молдовеняскэ. 1969. 232 с.

8. *Лохматов Н. А.* Развитие и возобновление степных лесных насаждений. Балаклея: «СіМ». 1999. 498 с.

9. *Маяцкий И. Н., Яковенко Н. А., Маяцкая А. С.* Рост и продуктивность насаждений ореха черного в Молдавии. //Сельское хозяйство Молдавии. 1982. № 10. С. 48–49.

10. *Маяцкий И. Н.* Оценка состояния некоторых представителей семейства Juqlandaceae, произрастающих в Гербовецком дендрарии. //Изв. АН МССР. Серия биол. н. Кишинев. 1986. С. 17–19.

11. *Маяцкий И. Н.* Опыт реконструкции белоакациевых насаждений. //Науковий вісник Національного аграрного університету. Киев. 2004. С. 65-69.

ANIVERSĂRI

ACADEMICIANUL CONSTANTIN TOMA
la 80 de ani

Suntem în anul
în care
Academicianul

Constantin Toma

împlineşte 80 de ani, născut
fiind în 1935,
la 19 noiembrie,
în satul Gugeşti,
judeţul Vaslui

S-au adăugat astfel încă cinci ani de strădanii şi frumoase împliniri la cele ilustrate în volumul „IN HONOREM-Profesorului Constantin Toma la a 75-a aniversare” [1]. Am avut fericirea să găsesc în cuprinsul a 399 pagini şi 21 de anexe, care redau brevetele, medaliile, premiile şi diplomele primite de la instituţii academice, acreditarea meritelor deosebite pentru întreaga activitate ştiinţifică, didactică şi civică a sărbătoritului. În cele 52 de omagii consemnate din partea unei palete largi de personalităţi ştiinţifice, colaboratori, colegi şi prieteni s-au exprimat înalte aprecieri asupra operei ştiinţifice a Academicianului Constantin Toma, fondator al Şcolii de Morfo-anatomie şi Histologie vegetală la Facultatea de Biologie a Universităţii „Alexandru Ioan Cuza” din Iaşi, autor a 29 de cărţi (cursuri şi manuale universitare, atlase, tratate şi monografii), 450 studii şi articole ştiinţifice originale publicate în reviste din ţară şi din străinătate, peste 120 articole de popularizare şi de istoria botanicii, 30 de recenzii, 80 de referate ştiinţifice la teze de doctorat din România şi 8 din Republica Moldova. A fost premiat de trei ori de Academia Română (1978, 2000 şi 2002) cu Premiul „Emanoil Teodorescu”.

Orizonturile cunoaşterii imperiului vegetal cucerit de magistrul Constantin Toma s-au extins în ultimii cinci ani peste continente, prin publicarea la Heidelberg, New York, Dordrecht, London, unde îşi are reprezentanţe editura Springer, a unei lucrări monumentale: „Halophytes. An integrative Anatomical study” [2], în colaborare cu Grigore M. N. şi Ivănescu Lăcrămioara. Este aceasta şi o mărturie a bucuriei de a-şi vedea discipolii depăşindu-şi maestrul.

Academicianul Constantin Toma este Doctor „*Honoris Causa*” al Universităţii „Vasile Alecsandri” Bacău (2005), „Vasile Goldiş” din Arad (2008), Universitatea din Oradea (2009), Universitatea „Apollonia” din Iaşi (2010), şi „*Profesor emeritus*” al Universităţii „Alexandru Ioan Cuza” din Iaşi, Membru de onoare al Academiei de Ştiinţe a Republicii Moldova (la 75 de ani, din ziua naşterii) [3].

O sinteză a personalităţii ştiinţifice a Academicianului Constantin Toma o

consemnează Academicianul Valeriu Cotea: „*Îi datoram contribuţii esenţiale în domeniul Morfo-anatomiei vegetale. Bazat pe o considerabilă muncă de documentare, foloseşte referinţe exacte, care permit demarcarea clară a punctului său de vedere de cel al resurselor folosite. Toate cărţile sunt interesante, novatoare, ieşite din obişnuit, de o mare şi diversă bogăţie documentară. Nu seamănă deloc între ele, fiecare cuprinde problemele ei proprii, însoţite de soluţii şi recomandări corespunzătoare. A crescut o şcoală de morfo-anatomie vegetală, echipa formată probând astăzi un profesionalism excepţional. Convingerea mea este că Profesorul Constantin Toma rămâne o permanenţă în galeria marilor oameni de ştiinţă din domeniul biologiei vegetale.”*[1]

De 62 de ani sunt un martor constant al activităţilor şi împlinirilor Academicianului Constantin Toma, începând cu anul I al Facultăţii de Ştiinţe naturale a Universităţii „Alexandru Ioan Cuza”, când am intrat în competiţia de afirmare a aspiraţiilor de cercetare în cadrul cercurilor ştiinţifice studenţeşti, complementare programei didactice. Ne-am confesat chiar şi în acomodarea subtilă, adeseori dramatică, la noua viaţă spirituală din cetatea universitară. Ne-am apropiat mai mult şi ne-am împrietenit poate şi pentru faptul că veneam amândoi din două sate vasluiene, despărţite doar de câteva coline. Veneam, de asemenea, din familii de ţărani cu şase copii în cazul lui, respectiv cinci copii în cazul meu.

Din perspectiva ecofiziologiei şi etologiei (biologia comportamentului) în care m-am specializat şi publicat, îmi voi accepta privilegiul de a argumenta şi motiva geneza amprentelor comportamentale care au fundamentat caracterul şi aptitudinile Profesorului Constantin Toma, pentru a fi pilduitoare tuturor tinerilor care aspira la libertatea prin cunoaştere.

Din sinteza autobiografică pe care ne-o oferă cu generozitate în volumul omagial menţionat mai sus, desprindem constelaţia de factori genetic determinaţi şi adiţionaţi ontogenetic, pe fondul cărora vom încerca să conturăm etograma personalităţii profesorului. Prin etogramă, Heymer (1977) înţelegea „*inventarul complet şi descrierea exactă a tuturor tipurilor de comportament ale unei specii”*, dar şi dificultatea de a nu putea experimenta pe om, aşa cum au reuşit etologii să stabilească etograma multor specii de animale, acelaşi autor constatând că „*o etogramă convenabilă a omului nu a fost stabilită în prezent”*. [4]

Folosind rezultate de actualitate în acest sens, Creţu, 2010, constată că „*Personalitatea este rezultanta finală a organizării şi „imprimării”(imprinting-în sensul Lorenz) la nivel biologic şi psihologic al acestor comportamente ca urmare a activităţilor repetate. Aceste comportamente reprezintă modalităţi de adaptare-specific persoanei şi înalt diferenţiate individual-la mediile (în special sociale) experimentate de-a lungul existenţei.”* Şi tot Creţu constată: „*Trebuie să investigăm omul, nefăcând abstracţie de stimuli situaţionali, ci în relaţie cu aceştia (părinţi, fraţi, prieteni, iubiţi, colegi de serviciu, parteneri sau rivali sociali relevanţi din diverse grupuri/instituţii etc.)*”. [5]

Ce ne spune Academicianul Toma despre părinţi? „*Tatăl meu – Irimia, om harnic, energic, răzbătător şi mama mea - Virginia, cu o voinţă ieşită din comun, conştientă de responsabilitatea pe care o avea de a creşte cei şase copii, erau dornici, ca şi alţi oameni din sat săraci dar destoinici, de a-şi vedea copiii la şcoli înalte”* [1]. În acest

cadru environmental al celor „7 ani de-acasă” s-a constituit amprenta comportamentală a Academicianului Constantin Toma, care odată imprimată s-a păstrat pentru tot restul vieţii, adiţionând doar variabile şi efecte ale stimulilor specifici altor circumstanţe de manifestare.

Încercând o concretizare a comportamentelor de bază cu semnificaţie pentru supravieţuire în această comunitate de şase fraţi, într-o perioadă de război şi secetă, vom afla şi geneza trăsăturilor de caracter ale Profesorului. De exemplu, în fluxul comportamentului alimentar, s-a imprimat atitudinea de toleranţă şi echitate în accesul la hrană a tuturor. În participarea la asigurarea hranei zilnice, prin muncă asiduă zi-lumină (vara 12-14 ore) s-a conturat spiritul de întrajutorare, cooperare, corectitudine, respect reciproc, bunăcuviinţă şi smerenie.

Dar mai presus de toate, integrarea în bioritmul natural, i-a prilejuit copilului să descopere viaţa plantelor, a animalelor şi rolul lor în supravieţuire. S-a impregnat cu bogăţia de culori a florilor, cu parfumul acestora, s-a răsfăţat în concertele ale păsărilor, şi-a potolit setea cu apa curată din izvorul fântânilor, a savurat gustul fructelor proaspete, apropiindu-se din ce în ce mai mult de inima naturii, care a devenit până azi coloana vertebrală a existenţei sale. Abia astăzi, când alimentaţia omului a devenit atât de denaturată prin procesare excesivă, putem aprecia valoarea hranei naturale asupra „*constituţiei, trăsăturilor fizice şi structurale, de caracter şi personalitate, de capacitate şi funcţionare a organelor”* (Kushi, 1996) [6].

În acest context s-a fixat amprenta cunoaşterii cerinţelor de viaţă a plantelor (sol, apă, lumină, căldură) şi animalelor (teritoriu, hrană, sănătate), a ritmului şi ciclurilor lor de viaţă, descoperirea miracolului creşterii lor proporţional cu efortul de îngrijire şi chiar a sentimentului de integrare şi înfrăţire cu fiinţele din jur. Dar, mai presus de orice, a fost etapa copilului care se descoperă pe sine prin descoperirea potenţialului celorlalţi fraţi: iubire, putere, rezistenţă, isteţime, veselie, joacă, empatie.

Preocuparea continuă pentru cunoaşterea de sine şi punerea în valoare a potenţialului său creator corespund mesajului lui Jacques Delors, raportor UNESCO pentru educaţia secolului XXI: „*Pentru a da copilului şi adolescentului o viziune justă asupra lumii, educaţia, fie făcută în familie, comunitate sau şcoală, trebuie mai întâi să-l facă să se descopere cine este el. descoperirea altuia trece obligatoriu prin cunoaşterea de sine.”* [7]

La maturitatea deplină a operei sale, Academicianul Constantin Toma ne convinge că aceasta se încadrează pe deplin în ceea ce unul dintre fondatorii etologiei moderne, Konrad Lorenz, atribuia autocunoaşterii: „*Cel mai mare obstacol al autocunoaşterii noastre, anume refuzul de a accepta originea noastră animală, derivă din faptul că noi ignorăm sau înţelegem puţin esenţa lumii vii. Acest obstacol, cel puţin în principiu, se poate elimina învăţând şi înţelegând. Al doilea obstacol al cunoaşterii de sine este o aversiune sentimentală în a admite că faptele şi gesturile noastre ar putea fi cauzate prin legi naturale. Al treilea obstacol provine din împărţirea lumii într-o lume a lucrurilor exterioare şi o lume interioară, a gândirii şi existenţei umane, singura purtătoare de valori. Printr-o supraestimare orgolioasă a propriului comportament şi în dorinţa de a ţine acest comportament în afara proceselor naturale considerate ca accesibile cercetării, omul se menţine în afara cunoaşterii de sine.”* [8]

Preocupat de modul în care omul ar putea să-şi identifice şi guverneze propriul

comportament, Barnett, 1967, consideră următoarele: „*Dacă e vorba să căutăm înţelepciune în relaţiile dintre noi, atunci e bine să respectăm îndemnul delfic: „Cunoaşte-te pe tine însuţi" (Socrate)"*. [9] Cultura biologică vastă a Academicianului Constantin Toma i-a permis să înţeleagă şi să se bucure de convingerile şi aptitudinile acumulate prin autocunoaştere.

Proiecţia în timp a acestor amprente comportamentale se găseşte în mărturisirea Profesorului de a avea „*o viaţă plină de greutăţi, dar şi de satisfacţii, de necazuri şi de bucurii, de sănătate de invidiat, dar şi de momente de cumpănă ce păreau uneori insurmontabile, de înţelepciune, dar şi de rătăcire, de încredere, dar şi de incertitudini; pe planul activităţii profesionale, am învins întotdeauna.[…] Soţiei, Leontina Schmidt Toma, şi mamei mele, le sunt profund îndatorat şi mă rog pentru odihna lor veşnică."* [1]

De la nivelul erudiţiei sale în sfera botanicii româneşti, Profesorul clujean Vasile Cristea, evocând opera Profesorului Constantin Toma, pe care o consideră „*fără doar şi poate caput anatomicorum plantarum Romaniae",* condensează personalitatea sa într-o metaforă strălucită „*un uriaş cu fruntea-n soare al ştiinţei şi culturii româneşti"*. [1]

Ne permitem şi noi să adăugăm, cu admiraţie şi mândrie, că Academicianul Constantin Toma este astăzi cel mai mare fitomorfolog român în viaţă, dorindu-i mulţi şi fericiţi ani!

Referinţe

1. *Ivănescu L., Zamfirache M.-M. (sub red.)*, 2010. In Honorem Profesorului Constantin Toma la a 75-a aniversare. Edit. Graphys, Iaşi.
2. *Grigore M.-N., Ivănescu L. Toma C*., 2014. Halophytes: An Integrative Anatomical Study. Springer International Publishing, 548 pp.
3. *Ciubotaru A*., 2011. Constantin Toma - membru de onoare al Academiei de Ştiinţe a Republicii Moldova (la 75 ani din ziua naşterii). Rev. Bot. Chişinău, **3**, 3: 197-200.
4. *Heymer A*., 1977. Ethological dictionary, Verlag Paul Parey, Berlin, 240 pp.
5. *Creţu R.Z*., 2010. Amprenta comportamentului şi evaluarea personalităţii. Ed. Polirom, Iaşi, 245 pp.
6. *Kushi M*., 1996. Cunoaşte-te singur. Metode orientale de diagnosticare, Ed. Deceneu, 195 pp.
7. *Delors J*., 1996. L'Education, un trésor est cache dedans. Rapport a L'UNESCO de la Commission internationale sur l'éducation pour le vingt et unième siècle, Editions Odile Jacob, 312 pp.
8. Lorenz K., 1969. L'agression. Une histoire naturelle du monde. Flammarion, Paris, 460 pp.
9. Barnett S. A., 1970. Instinct şi inteligenţă. Ed. Ştiinţifică, Bucureşti, 318 pp.

Ionel Miron

Membru al Academiei Oamenilor de Ştiinţă din România

ABSTRACTS

UDC: 612.8:614.2/.3

DEVELOPMENT OF PSYCHOSANOCREATOLOGY – PRACTICAL NEED TO IMPROVE THE SOCIETY'S PSYCHIC HEALTH. (Lecture at the plenary session of the 11th International interdisciplinary Congress «Neuroscience for medicine and psychology»). *Furdui T.I., Ciochina V.K., Furdui V.T.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 4-14.

Practical need to improve the population's psychic health has become the most urgent problem demanding its scientific solution. It is due to the following: the decisive role of psychic health in the development of scientific-technical progress, the threatening tendency of psychic disorders and psychic diseases spreading in the 20th century in the countries of Europe and America and their unfavorable prognosis for the moment, the high value of the healthy life loss index (DALY) because of neurological and psychiatrical pathology, as well as the preserved till now practice of spontaneous formation of psychic health. According to the WHO's prognosis, depression will be the top noninfectious disease and the major cause of morbidity by 2020. Moreover, psychic health has a great impact on *Homo sapiens* evolution. The above evidence indicates an obvious practical need for a new approach to the problem of psychic health - to develop a new direction of sanocreatology, psychosanocreatology, the task of which is the elaboration of scientific bases and practice of the purposeful formation and maintenance of psychic health, that is not inherited but acquired in ontogenesis, learned, as result of organism's interaction with the social environment.

It seems that nature itself provided the possibility of psychic health formation by intuition of the society. The evidence of that are at least the facts of modification, during the ontogenesis and learning process, of adequacy of the external environment perception and orientation in this environment. The individual's genotype determines just an outline of some of psychic potencies, realization of which depends on concrete historical social conditions of the subject's life. In the absence of deviation in the organism's development genetic program, the purposeful formation of psychic health and its components through a specially developed complex system of social interrelations and learning is obviously possible. It does not mean the creation of one-type personalities, but the formation of such a level of psychic health which would enable the subjects to psychically easily and adequately reflect their own internal world and the external environment, adequately orient himself (herself) in this environment, to demonstrate creative abilities and to oppose intentions with negative impact on the organism itself, the society or the natural environment.

19 references.

Key words: psychic health assessment, psychosanocreatology, level of psychic health, psychic processes.

Received September 22, 2015

UDC: [631.52:581.15]:58.03

GENETIC AND MOLECULAR MECHANISMS OF PLANT RESISTANCE TO BIOTIC STRESS. *Şestacova Tatiana, Tabără Olesea.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p**.** 14-27.

Control of plant diseases has fundamental importance and it is a major goal of plant breeding, pathology monitoring programs and agrochemical industry. However, during the evolution the plants have developed a large set of defense mechanisms: constitutive, such as mechanical barriers or pre-existing antimicrobial secondary compounds, and induced, such as responses to pathogen attack. These mechanisms can be activated in various types of resistance (specific, nonspecific, systemic, etc.), being largely common at cellular, molecular and genetic levels of organization.

Article includes recent data regarding different types of resistance and defence mechanisms characteristic for plants, revealing genetic and molecular aspects.

68 references, 3 figures, 1 table.

Key words: specific resistance, quantitative resistance, SAR, resistance genes, hypersensitive response.

Received September 24, 2013

UDC: 616.36-002:616.8

THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE OF MENTAL HEALTH INDICATORS IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS. *Berezovscaia E. S.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 27-38.

This article analyses data from scientific literature about the state of knowledge of mental health indicators in patients with Chronic Viral Hepatitis (VH). The problem is reflected through the prism of broad definition of mental health, based on the main concept of Sanocreatology. Chronic VH is associated with complex mental disorders in over 50% of the cases. Four groups of characteristic mental health problems have been highlighted. A high comorbidity of Chronic VH and depression, anxiety, asthenia, alcohol or drug dependences has been noticed. Scientific papers mainly focus on the average parameters and do not take into account the nature of mental disorders, depending on the pathogenesis, the form of diseases, the intellectual level of the patient and, accordingly, it lacks an individual approach to attenuation of psychological disorders.

54 references, 2 diagrams,1 figure, 1 table

Key words: mental health, sanocreatology, chronic viral hepatitis, depression, anxiety, conduct disorder, quality of life.

Received September 21, 2015

CZU: 591.05:591.13

THE VITAL POTENTIAL AND BODY WEIGHT OF ADULT RATS, ACCORDING TO THE CONTENT OF FOOD RATION. *Polyakova Lilya.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 38-44.

The present study investigated the vital potential and the body weight of adult rats, according to the content of food ration. As a result, it was found that both, a relatively high protein and relatively high carbohydrates diet, at maximum physical activity, do not significantly influence the manifestation of the vital potential of the animals. Animals fed a diet with relatively high protein content, had a higher body weight gain compared to their counterparts fed a diet with a relatively high content of carbohydrates.

7 references, 3 tables.

Key words: food allowance, age period, adult rats, physical activity, swimming, nutrients, vital potential.

Received September 22, 2015

UDC: 616.33-008:604

THE ROLE OF THE ALIMENTARY FACTOR IN MAINTENING THE INTESTINAL MICROBIOCENOSIS AND THE HEALTH OF THE ORGANISM. *Strutinschi T., Timoshco M.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 44-49.

Three variants of nutritional factor were tested on model animals (quinea pigs). The composition that provides a positive impact on the animal organism, as well as on the indices of main intestinal microflora representatives was identified (var. Nr.2). This was confirmed by an increased level of bifidobacteria, lactobacilli and streptococci (respectively by 32,92; 33,63 and 20,95%), as well as reduction of live weigh (by 31,71; 32,05 and 20,28%) and of the number of Escherichia and Proteus (by 32,98 and 53,86 %).

Changes in the composition of alimentary factors are not recommended, because only replacing animal protein by vegetable one negatively affect the studied parameters and contribute to a significant increase of the number of microorganisms of the genera Proteus and Escherichia (respectively, by 35, 68 and 27,89 %).

19 references, 3 tables.

Key words: alimentary factor, model animals, bifidobacteria, lactobacilli, streptococci, conditional pathogen genera

Received September 29, 2015

UDC:633.11:[631.53:631524.85]

THE PARTICULARITY OF *TRITICUM AESTIVUM* L. SEEDS GERMINATION UNDER HEAT SHOCK. *Jelev Natalia, Zdioruc Nina, Ralea Tudor, Dascaliuc Alexandru.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 50-60.

The dynamics of *Triticum aestivum L.* (variety Odeskaya 267) wheat seeds germination and seminal roots appearance in norm and after exposition to *heat shock* (*HS*) was determined. The kinetics of water

imbibitions in immersed in the cold water (at 4°C) seeds before germination can be separated into three periods, described by the different second order equations. The rate of water accumulation in wheat seeds significantly decreases in each subsequently period of immersion. This suggests a change of the seeds physiological state during transition from one period of water accumulation to another. This idea was confirmed by the different dynamics of germination and rate of seedling roots appearance in frame of each period. Mentioned parameters are achieving the maximal level in the second period of seeds immersion in water (12-36 hours), intermediate level in the first period (0-12 hours) and minimal level in the third period (36-130 hours). Harmful effects of different doses of *HS* were severe, intermediate and weak for seeds previously immersed in water during 72, 36 and 12 hours, respectively. These differences may be explained by the specificity of physiological state of the "*quiescent center*" cells of different seminal roots meristems during I-st and II-d periods of imbibitions, and by the negative effects of anoxia on root initials and "*quiescent center*" cells during III-d period of immersion. These data support the vision about the possibility of appreciation the initial thermal tolerance of different wheat genotypes by determining the specificity of germination and roots appearance of seedlings obtained from the seeds prepared for germination by immersing in cold water and then exposed to specific doses of HS.

17 references, 4 figures

Key wards: *Triticum aestivum* L., seeds, roots, germination, imbibitions with water, heat shock

Received June 18, 2015

UDC:633.11:[631.53:631524.85]

QUICK ESTIMATION OF THE THERMOTOLERANCE IN WHEAT GENOTYPES, CORRELATED WITH HEAT SHOCK INFLUENCE ON SEED GERMINATION. *Jelev Natalia, Zdioruc Nina, Ralea Tudor, Gorea Andrei, Dascaliuc Alexandru.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 60-66.

The possibility of wheat varieties distribution by their thermotolerance was tested on the basis of the analysis of heat shock influence with different temperatures (*intensity factor*) and durations of exposition (*extensity factor*) on the parameters of seed germination. The obtained data demonstrate that seeds of wheat varieties respond specifically to heat shock. Based on seed germination and root emergence, 19 wheat varieties were distributed according their thermotolerance. The optimal doses of heat shock for distributing a large number of wheat genotypes by their thermotolerance and those needed for the selection of forms with particular (high or low) thermotolerance are different. It is assumed that proposed procedures, due to their simplicity, power of resolution and high productivity could be used not only for assessement the thermotolerance of different wheat genotypes, but also to determine the effect of cultivation conditions, or application of growth regulators on seeds thermotolerance.

16 references, 5 figures.

Key wards: *Triticum aestivum* L., seeds germination, heat shock, varieties thermotolerance.

Received June 18, 2015

CZU 581.1.03:581.14

THE SIGNIFICANCE OF WATER HOMEOSTASIS AND ANTIOXIDANT PROTECTION FOR PLANT TOLERANCE TO DROUGHT.*Brînză Lilia.* Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 67-74.

The conditioned by drought differences in ability to adjust the water status and the activity of antioxidant enzymes in *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus acutifolius* Gray and *Phaseolus lunatus* L plants were established. The flowers and pods of resistant plants possess a better water homeostasis on account of stems water reserve, root system activity and stomata reactivity. Disruption of coordinative linkages between organs was more expressed in usual beans compared with tepary and lima ones. The high stomata reactivity, hydraulic conductivity adjustment, and high ability to restore the water status, as well as a reduced leaf surface area of tepary and lima beans reflect the conservative adaptation strategy of these plants. Low drought tolerance of *Phaseolus vulgaris L.* plants could be explained by a lower stomatal conductance, the occurrence of reactive oxygen species, poor coordination of antioxidant enzymes activity, acceleration of lipid peroxidation and oxidative damage to the cell structures.

19 references, 3 figures, 2 tables.

Key words: water status, adaptation, protective antioxidant enzyme, drought

Received September 25, 2015

UDC:581.1.03:581.14

EFFECT OF SALICYLIC ACID ON THE PROCESS OF PLANT ADAPTATION TO DROUGHT. *Melenciuc M.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 75-83.

The effect of salicylic acid and its derivatives with NH_4^+, K^+, Mg^{++} cations on the physiological processes in isohydric (*Zea mays* L) and anisohydric (*Sorghum bicolor* L., Moench) plants has been studied in different conditions of soil water content. Experiment results show that the regulation of plant water status in drought conditions is associated with adaptive morphological characters: reducing surface evaporation by the senescence of lower leaf (maize) and lateral shoots (sorghum), leaf rolling (maize), cutinization and exudation of silicon oxide (on sorghum). Thus, salicylates participate in the induction mechanisms of plant drought tolerance by modulating the absorption, hydraulic conductivity, stomatal resistance and transpiration intensity. Such adaptive changes are intended for maximum efficiency of water use in the production process. Treatment of seeds and plant foliage with relevant salicylates increases the organism's tolerance to insufficient water supply, which positively affects growth and productivity of plant crops.

26 references, 2 figures, 4 tables.

Key words: water status, adaptation, drought, morphological characteristic, resistance

Received September 28, 2015

UDC: 631.528:633.854.78

IDENTIFICATION OF GENES DIFFERENTIALLY EXPRESSED IN SUNFLOWER DURING INTERACTION WITH *PLASMOPARA HALSTEDII*. *Şestacova Tatiana, Port Angela, Duca Maria.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 83-89.

Downy mildew, caused by the pathogenic oomycete *Plasmopara halstedii*, is the one of most devastating diseases of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). However, the interaction between sunflower and *P. halstedii* is still poorly understood. In order to identify differentially expressed genes in sunflower during interaction with *P. halstedii*, the expression of defence associated genes was analysed in five sunflower genotypes from Republic of Moldova, which were naturally infected with downy mildew. In total, 14 sunflower gene sequence and eight ESTs were used in study. The functional categories of investigated sequences were assigned on the base of function classification established in model plant and significant homology. The largest groups contained genes for SOD, catalase etc. Moreover, the signal transduction related genes and important transcription factors involved in defense response against phytopathogens were included in the present study. Briefly, the genes differentially expressed in response to downy mildew revealed the partially distinct molecular mechanism associated with the resistance of sunflower against *P. halstedii*.

15 references, 2 figures, 1 table.

Key words: Helianthus annuus; *Plasmopara halstedii*, defense response, differentially expressed genes, qPCR.

Received September 24, 2015.

UDC 599.323.4:591.5(478.9)

STRUCTURE AND DIVERSITY OF SMALL RODENT COMMUNITIES IN ABANDONED LANDS FROM THE CENTRAL ZONE OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA. *Sîtnic Veaceslav, Nistreanu Victoria, Larion Alina, Munteanu Andrei, Savin Anatolie, Postolachi Vlad, Chihai Nina.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 90-98.

The studies were accomplished in 2012-2014 in two types of abandoned agricultural ecosystems from the central zone of the republic. Standard capture and mark methods were used for establishing the spatial structure of small rodent populations. The structure and diversity of small mammal communities were analyzed on fallow ground and in abandoned orchard during spring-autumn period. It was established that on abandoned land there is an increase of density from spring to autumn in *Apodemus sylvaticus* and *Apodemus uralensis*, it being higher in *A.sylvaticus.* The ratio of sedentary individuals decreases in this period and the value of this parameter is higher than in *A. uralensis.* It can be explained by the fact that toward autumn the activity of migrant individuals is more intense.

18 references, 1 figure, 1 table

Key words: small rodents, communities, abundance, density, similarity

Received: July 28, 2015

UDC: 550.42 : 638.1 (478)

THE CONTENT OF HEAVY METALS IN HONEY AND PROPOLIS. *Gliga Olesea, Cebotari Valentina, Buzu Ion, Chihai Nina.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 98-110.

The aim of this paper was the determination of residues of heavy metals such as Pb, Cd and Cu in honey and propolis in different areas of the republic, with different human impact. The study was conducted by placing 12 hives of bees families in 4 research areas (the forest area, the agricultural area, the road traffic area and the industrial area) with different human impact. The forest area served as control where, practically, lacked sources of pollution. In the agricultural area the potential sources of pollution are: the former deposit of pesticides, vehicles from nearby auto route Cishinău-Balti, and agricultural machinery. The road traffic area located at the periphery of the city, has been most affected by smoke gases from road transport circulating along the route Balcani, asphalt production enterprise, automobile market etc.. The industrial area located at the periphery has been, as well, under the impact of road transport and industry. For research purpose, in the period 2012-2013 in May and June, respectively 10g of honey and propolis have been collected from each family of bees. The content of heavy metals (Pb, Cd and Cu) in the honey and the propolis has been determined using Atomic Absorption Spectrometry with thermal atomization (GFASS). It was found that, the content of heavy metals in the honey and the propolis depends on the specific area of apiary location. The research results revealed the presence of investigated heavy metals in all analyzed samples of the honey, except for Cd without detectable value. The highest content of Pb and Cu in the honey samples has been recorded in the industrial area (0.162 ± 0.021 and 0.481 ± 0.055 mg / kg), and the lowest content - in the forest area (0.017 ± 0.002 and 0.031 ± 0.003 mg / kg). The presence of heavy metals in research samples of propolis was detected. The highest content of Pb and Cd in propolis have been recorded in the industrial area (9.23 ± 1.08 and 0.402 ± 0.055 mg/kg), and the lowest content in the forest area (2.28 ± 0.44 and 0.038 ± 0.002 mg/kg).The highest content of Cu in the propolis has been recorded in the road traffic area (6.74 ± 0.33 mg / kg) and the lowest content in the forest area (3.24 ± 0,26mg / kg). Heavy metals concentrations in the honey and the propolis from Republic of Moldova do not exceed maximum admissible level established by European and international norms. Therefore, we can conclude that the studied bee products and their collecting area are not polluted with heavy metals.

31 references, 2 figures, 5 tables

Key Words: honey, propolis, heavy metals, lead, cadmium, copper.

Received September 01, 2015

UDC: 595.421:591.5(478:282.247.14)

ANTHROPOGENIC TRANSFORMATION AND ITS ROLE IN THE SHAPING OF URBAN NATURAL FOCI OF TICKS *(*ACARINA*: IXODIDAE)* IN THE LOWER DNIESTER AREA. *Kravchenko Oksana.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 110-118.

The influence of antropogenic factors on natural outbreaks of infectious diseases is very high, leading to different outbreak changes and bringing them closer to inhabited areas, which causes a high level of epidemiological tension of many vector-borne diseases. Antropogenic factors have an important influence on tick vital activity, abundance, species composition, as well as on tick hosts species composition. The significant practical impact of ixodid ticks (Acarina: *Ixodidae*) make them a very important subject of study, a lot of attention being paid to their morphology, physiology and biology.

13 references, 4 figures, 2 tables.

Key words: ticks; epidemic and epizootic significance; anthropogenic impact; natural outbreaks; collecting; abiotic factor.

Received March 11, 2015

UDC: 595.799

THE SUPERFAMILY APOIDEA (*HYMENOPTERA, APOIDEA*) - POLLINATORS OF CULTIVATED IN MOLDOVA AROMATIC PLANTS. *Stratan V.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 119-126.

84 species of wild apoid pollinators were identified for 16 species of cultivated aromatic plants. The paper presents the description of the influence of functionally complete biocenosis conditions on the development and numerical maintaining of apoid-pollinators species.

1 reference, 1 table.

Key words: Apoidea, aromatic plants, pollinators
Received: February 11, 2015

UDC: 597.2/.5(597:282.2)

CHARACTERISTICS OF IDENTIFIED MORPHOLOGY OF GENUS *SCHISTURA* MCCLELLAND, 1838 IN THE GIANH RIVER BASIN FROM VIETNAM. *Ho Anh Tuan.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 126-134.

Genus *Schistura* McClelland, 1838 consists 193 species, in which 29 species mainly distribute in the upper small parts of stream and rivers in Vietnam. Analysis and identification of 248 specimens of genus *Schistura* McClelland, 1838 in the Gianh river basin from Vietnam. We have classified four species: *Schistura finis* Kottelat, 2000; *Schistura hingi* (Herre, 1934); *Schistura kottelati* Tuan et al, 2015; *Schistura pervagata* Kottelat, 2000. Which has species: *Schistura finis* Kottelat, 2000 & *Schistura kottelati* Tuan et al, 2015 was first discovered in the Gianh river basin from Vietnam.

17 references, 5 figures, 2 tables.
Key words: fish fauna, biodiversity, morphometric characters, aquatic ecosistems.
Received: October 26, 2015

UDC: 546.562:615.28:547.4

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 2-FORMYLPYRIDINE N(4)-ALLYL-3-SELENOSEMICARBAZONE AND ITS COPPER COORDINATION COMPOUND. *Graur Vasilii, Garbuz Olga, Zariciuc Elena, Gudumac Valentin, Gulea Aurelian.* // Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 135-142.

The paper presents the synthesis of the 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-seleno-semicarbazone that was studied using NMR spectroscopy. This ligand was used for the synthesis of a copper(II) chloride coordination compound. The study of antimicrobial and antifungal activities showed that these substances possess bacteriostatic and bactericidal activities towards a series of gram-positive and gram-negative bacteria and fungi in the range of concentration 0.7-500µg/mL. The activity of the copper(II) coordination compound towards gram-negative microorganisms significantly exceeds the activity of the ligand. The antioxidant activity of the synthesized selenosemicarbazones exceeds the activity of the coordination compound. These substances inhibit proliferation of MeW-164, HL-60 and HeLa tumor cells.

16 references, 1 table, 7 schemes
Key words: selenosemicarbazones, copper complexes, antimicrobial activity, antioxidant activity, antitumor activity
Received July29, 2015

UDC: 579.6

DYNAMICS OF CHANGES IN SPIRULINA BIOCHEMICAL COMPOSITION DEPENDING ON THE LIGHT REGIME DURING CULTIVATION IN LABORATORY CONDITIONS. *Rudic V., Rudi L., Chiriac T., Codreanu S., Dumbrăveanu V., Djur S., Cepoi L., Miscu V., Ghelbet V., Chelmenciuc V.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 142-149.

The paper presents the results of the research in laboratory conditions on the dynamics of changes in biochemical composition of *Spirulina platensis*, depending on the lighting regime. Two modes of continuous and photoperiodical illumination (12 hour light / 12 hours dark) were tested and the quantitative content of proteins, lipids, carbohydrates, chlorophyll, carotenoids and phycobilins in produced biomass was monitored. Spirulina productivity in experimental models was similar, the only differences being observed in biomass composition. Photoperiodical lighting regime can be considered less favorable for spirulina culture, even if it is the natural mode of cyanobacterium growth. It leads to a reduced amount of protein and increased carbohydrate content in biomass, as well as to a more pronounced accumulation of lipid peroxidation products, especially at the end of the monitoring period. The level of peroxidation products remains stable-low throughout cultivation under continuous illumination regime, revealing the normal physiological condition of spirulina biomass.

16references, 7 figures.
Key words: Spirulina platensis, proteins, lipids, malondialdehyde, carbohydrates, phycobilines, carotenoids, lighting regime.
Received September 22, 2015

UDC: 579.083.13+579.24

EFFECT OF NANOPARTICLES OF TiO_2 ON THE GROWTH AND PROTEIN BIOSYNTHESIS OF YEASTS. *Usatîi Agafia, Chiseliţa Natalia, Molodoi Elena, Bejenaru Ludmila, Chiriţa Elena, Beşliu Alina, Borisova Tamara.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 149-155.

The article provides information about the influence of different concentrations of TiO_2 nanoparticles on yeast genera *Saccharomyces* and *Rhodotorula*. It is found that in concentrations of 0.5 to 15.0 mg/L of TiO_2 nanoparticles, not significantly affect cell growth and biomass production of *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, *Rhodotorula gracilis* II / 6. It is shown that nanoparticles of titanium dioxide cause a reduction in the amount of protein in the biomass of *Saccharomyces* strains and the increase of this index in pigmented yeast *Rhodotorula gracilis* II / 6.

17 references, 4 figures.

Key words: NPs TiO_2, *Saccharomyces, Rhodotorula*, reproduction, biomass, proteins.

Received September 11, 2015

UDC: 579.6

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *SPIRULINA PLATENSIS* BIOMASS DURING CULTIVATION DEPENDING ON THE LIGHTING. *Rudic V., Rudi L., Chiriac T., Codreanu S., Dumbrăveanu V., Djur S., Cepoi L., Miscu V., Cojocari A., Sadovnic D., Chelmenciuc V.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 156-162.

This article deals with dynamics of antioxidant activity of water, hydroethanolic (50%) and etanolic extracts from *Spirulina platensis* grown under laboratory conditions and two light regimens: continuous and photoperiodical (12 h light /12 h dark) lighting. The ability of water and etanolic extracts to inhibit the ABTS radical cation is significantly higher in the case of biomass grown under continuous illumination. In hydroethanolic 50% extracts the same tendency is maintained only during the exponential phase of growth. The highest antiradical capacity against $ABTS^{\cdot+}$ (up to 70.14% inhibition) was shown by ethanol extract of spirulina biomass grown under continuous illumination. Antiradical activity against DPPH radical of hydroethanolic and ethanolic extracts of spirulina biomass grown in different lighting regimes practically does not vary; the only fluctuations observed during the process are determined by culture's age. The ability of water extract to inhibit DPPH radical is 6 times higher in the case when the biomass used for extraction is grown under continuous illumination than that obtained under photoperiodical illumination.

15 references, 6 figures.

Keywords: Spirulina platensis, antioxidant activity, illumination regimen

Received September 22, 2015

UDC: 579.61

CONTEMPORARY APPROACHES TO ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY AND RESISTANCE. *Oltu Iulian.* //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 163-170.

The aim of this paper is to highlight the main action mechanisms of antifungal preparations, as well as contemporary classifications of antifungal preparations based on these mechanisms and their chemical structure. The universal mechanisms of antifungal resistance development are emphasized. This justified the need of new studies aiming to overcome the resistance to antifungal therapy. The article presents results of contemporary approaches to this therapeutic and pharmaceutical problem.

43 references

Key words: antifungal activity, classification of antifungal preparations, antifungal resistance mechanisms.

Received September 29, 2015

UDC: 630.182:582.632.2(478)

PECULIARITIES OF HEIGHT GROWTH IN DOWNY OAK (*QUERCUS PUBESCENS* WILLD) DESCENDANTS DEPENDING ON THEIR ORIGIN. *Cuza Petru.*// Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 171-178.

The peculiarities of height growth of downy oak (*Quercus pubescens* Willd.) descendants of different ecological origin were investigated. The growth energy of local saplings was revealed to be higher

than those obtained from acorns collected from distant places. At the same time, Baimaclia originated descendants showed the same growth rate as the local seedlings. It seems that genetic heterogeneity and high adaptation of Baimaclia plantations allows its descendants to maintain the growth energy in new growing conditions. Based on the above mentioned information, for establishment of forest plantations, we recommend the breeding of downy oak by planting local or originated from adjacent area acorns.

14 Reference, 1 figure, 1 table

Key words: downy oak, acorn origin, saplings, growth.

Received May 22, 2015

UDC:634.512:504.75

THE RATIONALE FOR RESTRUCTURING THE WHITE ACACIA PLANTATIONS OF LOWER DNIESTER FOREST PHYTOCOENOSIS BY INTRODUCING OF NON-NATIVE BLACK WALNUT. *Kichuk Natalia*. //Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele vieţii. 2015, No 3(327), p. 179-185.

The article deals with the problem of white acacia trees drying out that require the reconstruction of Lower Dniester forest phytocoenosis. This paper presents a comparative estimation of growth status, stumps quantity, growing stock and timber technical maturity of common oak, black walnut and white acacia plantations of Gerbovetskii dry forest. The technology is recommended for restructuring white acacia plantations, being in poor condition, by introducing of non-native black walnut.

11 references, 3 tables, 1 figure.

Key words: black walnut, introduced, white acacia trees, reconstruction, timber stock, upright trees, high trunks.

Received September 02, 2015

РЕФЕРАТЫ

УДК: 612.8:614.2/.3

РАЗВИТИЕ ПСИХОСАНОКРЕАТОЛОГИИ – ПОТРЕБНОСТЬ ПРАКТИКИ В ПСИХИЧЕСКОМ ОЗДОРОВЛЕНИИ ОБЩЕСТВА. (Лекция на пленарном заседании XI-го Международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии”). *Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3(327), с. 4-14.

Потребность практики в психическом оздоровлении населения стала актуальнейшей проблемой, требующей своего научного решения. Это обусловлено: детерминирующей ролью психического здоровья в развитии научно-технического прогресса; угрожающей тенденцией распространения психических нарушений и психических болезней в XX веке в странах Европы и Америки и неутешительным их прогнозом на ближайшее будущее; высоким индексом потери здоровой жизни (DALY), в результате утраты здоровых лет жизни из-за неврологической и психиатрической патологии, а также, сохранившейся по настоящее время, практикой спонтанного формирования психического здоровья. Согласно прогнозу ВОЗ к 2020 году депрессия выйдет на первое место в структуре заболеваемости и займет ведущее положение среди неинфекционных болезней. К тому же оно оказывает значительное влияние на ход эволюции *Homo sapiens.* Сказанное свидетельствует об очевидной потребности практики в новом подходе к решению проблемы психического здоровья – развитию нового направления в санокреатологии - психосанокреатологии, задача которой состоит в разработке научных основ и практики целенаправленного формирования и поддержания психического здоровья, которое не передается по наследству, а формируется в онтогенезе при взаимодействии организма с социальной средой и научения.

Природа как бы сама предусмотрела возможность формирования психического здоровья по наитию общества, доказательством чего могут служить хотя бы факты модификации адекватности восприятия внешней среды и ориентации в ней в онтогенезе по мере научения. Генотип индивида детерминирует лишь контуры определенного количества психических потенций, реализация которых зависит от конкретно-исторических социальных условий жизни субъекта. При отсутствии аберраций в генетической программе развития организма, представляется возможным направленное формирование психического здоровья и его компонентов, посредством специальной разработанной комплексной системы социальных взаимоотношений и научения. При этом имеется в виду не создание однотипных личностей, а формирование такого уровня

психического здоровья, который позволил бы субъектам психически легко и адекватно отражать свой внутренний мир и окружающую среду, адекватно ориентироваться в ней, проявлять креативные способности и противостоять побуждениям, наносящих вред себе, обществу или природе.

Библ.-19.

Ключевые слова: психическое здоровье, санокреатология, хронические вирусные гепатиты, депрессия, тревожность, расстройства поведения, качество жизни.

Поступила в редакцию 22 сентября 2015

УДК: 631.52:581.15]:58.03

ГЕНЕТИКО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К БИОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ. *Шестакова Татьяна, Табэрэ Олеся.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3(327), с. 14-27.

Контроль болезней растений имеет фундаментальное значение и является основной целью селекции растений, программ мониторинга патологий и агрохимической промышленности. Однако, растения в ходе эволюции развили широкий набор защитных механизмов: пассивных, как механические барьеры и вторичные метаболиты, и активных в ответ на атаку патогенов. Эти механизмы могу быть активированы в рамках различных типов устойчивости (специфической, неспецифической, системной и др.), являясь во многом сходными на клеточном, молекулярном и генетическом уровне организации.

Статья включает современные данные о различных типах устойчивости и защитных механизмах растений, выявляя генетико-молекулярные особенности.

Библ. – 68, рис. – 3, табл. – 1.

Ключевые слова: специфическая устойчивость, неспецифическая устойчивость, системная приобретённая устойчивость, гены устойчивости, гиперчувствительный ответ.

Поступила в редакцию 24 сентября 2015

УДК: 616.36-002:616.8

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ. *Березовская Е.С.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3(327), с. 27-38.

В статье проведен анализ данных научной литературы о состоянии изученности показателей психического здоровья у пациентов с хроническими вирусными гепатитами (ХВГ). Проблема рассмотрена сквозь призму комплексного определения психического здоровья, которое основано на ведущей концепции санокреатологии. ХВГ ассоциируются с комплексом психических расстройств более чем в 50% случаев. Выделено четыре группы характерных нарушений психического здоровья. Отмечена высокая коморбидность ХВГ с депрессией, тревожностью, астенией, проявлениями алкогольной или наркотической зависимости. В опубликованных работах акцент делается на среднестатистические показатели и не учитывается характер психических расстройств в зависимости от патогенеза, формы заболевания, интеллектуального уровня пациента и, соответственно, отсутствует индивидуальный подход аттенуации психологических нарушений. Библ.-54, диаграммымы – 2, рис.-1, табл.1.

Ключевые слова: психическое здоровье, санокреатология, хронические вирусные гепатиты, депрессия, тревожность, расстройства поведения, качество жизни.

Поступила в редакцию 21 сентября 2015

УДК: 591.05:591.13

ЖИЗНЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И МАССА ТЕЛА ВЗРОСЛЫХ КРЫС ПИТАВШИХСЯ ДИЕТАМИ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ НУТРИЕНТОВ. *Полякова Лилия.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3(327), с. 38-44.

В работе изучены жизненный потенциал и масса тела взрослых крыс, питавшихся диетами с различным содержанием нутриентов. В результате было установлено, что обе диеты: с рационом относительно богатым протеинами и рационом относительно богатым углеводами, при максимальной физической нагрузке, не оказывают существенного влияния на проявление жизненного потенциала животных. Животные, получавшие диету с относительно высоким содержанием белка, имели более высокий прирост массы тела по сравнению с аналогами, получавшими диету с относительно повышенным содержанием углеводов. Библ.-7, табл.- 3.

Ключевые слова: рацион питания, возрастной период, взрослые крысы, физическая нагрузка, плавание, нутриенты, жизненный потенциал.

Поступила в редакцию 22 сентября 2015

УДК: 616.33-008:604

РОЛЬ ПИЩЕВОГО ФАКТОРА В ПОДДЕРЖАНИИ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА И ЗДОРОВЬЯ ОРГАНИЗМА. *Струтинский Ф.А., Тимошко М.А.* // Известия Академии Наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, №3(327), с. 44-49.

Испытаны три варианта пищевого фактора на модельных животных (морские свинки). Выявлен состав, который обеспечивает положительное воздействие как на показатели основных представителей кишечной микрофлоры, так и на организм животных (вариант №2). Подтверждением явилось увеличение уровня бифидобактерий, лактобацилл и стрептококков (соответственно, на 32,92; 33,63 и 20,95%), а также снижение численности бактерий родов Escherichia и Proteus (на 32,98 и 53,86%) и живой массы (на 31,71; 32,05 и 20,28%).

Изменения в составе пищевого фактора не рекомендуются, потому что замена лишь животных белков растительными отразилась бы отрицательно на изучаемых параметрах и способствовала значительному увеличению численности микроорганизмов родов Escherichia и Proteus, соответственно, на 35,68 и 27,89%. Библ. - 19, таб. – 3.

Ключевые слова: пищевой фактор, модельные животные, бифидобактерии, лактобациллы, стрептококки, условно-патогенные роды.

Поступила в редакцию 29 сентября 2015

УДК:633.11:[631.53:631524.85]

ОСОБЕННОСТИ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН *TRITICUM AESTIVUM L.* ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИИ НА НИХ ТЕПЛОВЫМ ШОКОМ. *Желев Наталия, Здёрук Нина, Раля Тудор, Даскалюк Александру.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 50-60.

Была исследована динамика прорастания и появления семенных корней у проростков пшеницы сорта Одесская 267, полученных из семян, замоченных в течение различных периодов времени в воде, при температуре 4°C, и последующим воздействием на экспериментальные семена различными дозами теплового шока (ТШ). Кинетика поглощения воды семенами последовательно менялась на протяжении трех периодов. В каждом периоде она может быть описана уравнением второй степени, со специфическими коэффициентами пропорциональности. С начала замачивания, в каждый последующий период, скорость поглощения воды семенами значительно уменьшалась, достигнув стационарного уровня (*заключительный этап*) лишь после 36 часов замачивания. Это привело к мысли, что именно в начале стационарной фазы семена пшеницы достигают оптимального уровня готовности к прорастанию. Это предположение было подтверждено достижением максимального значения динамики прорастания семян и появления корней при погружении семян в воду в течение 36 часов, промежуточного - у семян, погруженных - в воде в течение 12 часов, и низкого – у семян третьего периода (72 часа).

Вредные воздействия определенных доз ТШ были слабыми, промежуточными и тяжелыми для семян, которые предварительно были погружены в воду в течение 72, 36 и 12 часов соответственно. Полученные данные подтверждают мнение, что упомянутые эффекты могут быть из-за выхода из состояния покоя инициалей и клеток "*центра покоя*" меристем корня семян во время второго периода погружения в воду и из-за негативных последствий аноксии семян, погруженных в воде длительное время (в третьем периоде). Данные результаты указывают на возможность определения первичной термоустойчивости различных генотипов пшеницы на основе оценки специфики прохождения процессов прорастания и появления корней у проростков, полученных из хорошо подготовленных к прорастанию семян путем погружения в воду (во втором период) а затем обработанные специфическими дозами ТШ. Библ. 17 , рис.4.

Ключевые слова: Triticum aestivum L., семена, корни, прорастания, динамика поглощения воды, тепловой шок.

Поступила в редакцию 18 июня 2015

УДК:633.11:[631.53:631524.85]

УСКОРЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМО-УСТОЙЧИВОСТИ ГЕНОТИПОВ ПШЕНИЦЫ, ОСНОВАННОЕ НА ЗАКОНОМЕРНОСТЯХ ВЛИЯНИЯ ТЕПЛОВОГО ШОКА НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН. *Желев Наталия, Здиорук Нина, Раля Тудор, Горя Андрей, Даскалюк Александру***.** //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 60-66.

Была протестирована возможность распределения сортов пшеницы по их термоустойчивости на основе результатов анализа влияния теплового шока различными температурами (*фактор интенсивности*) и длительностями воздействия (*фактор экстенсивности*), на значения параметров характеризующие прорастание семян. Полученные данные показали, что семена различных сортов пшеницы реагировали специфично на определенные дозы теплового шока.

Исходя из значений параметров прорастания семян и динамики роста корней, исследуемые 19 сортов пшеницы были распределены по термоустойчивости. Оптимальные дозы теплового шока, которые необходимы для разделения большего количества генотипов пшеницы по их термоустойчивости и те которые необходимы для селекции форм с высокой или низкой термоустойчивости различны. Предполагается, что предложенные процедуры, благодаря их легкости, высокой разрешающей способности и производительности, могут быть использованы не только для оценки термоустойчивости различных генотипов пшеницы, но и для определения влияния регуляторов роста и условий выращивания на термоустойчивости семян. Библ. 16 , рис.5.

Ключевые слова: Triticum aestivum L., термоустойчивость, прорастание семян, тепловой шок.

Поступила в редакцию 18 июня 2015

УДК 581.1.03:581.14

ЗНАЧЕНИЕ ВОДНОГО ГОМЕОСТАЗА И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ДЛЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ЗАСУХЕ. *Брынзэ Лиля.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 67-74.

Установлены различия, обусловленные засухой, в способности регуляции водного статуса и активности антиокислительных ферментов у растений *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus acutifolius* Gray и *Phaseolus lunatus* L. У устойчивых растений соцветия и стручки обладают более высокой способностью поддержания водного гомеостаза за счет запасов воды стебля, активности корневой системы и устьичного аппарата.

Нарушение координации функций между органами более выражено у растений обычной фасоли в сравнении с растениями *Phaseolus acutifolius* Gray и *Phaseolus lunatus* L. Высокая реактивность устьиц, гидравлической проводимости, экономное использование воды и меньшая листовая поверхность отражает консервативную стратегию адаптации этих растений. Слабая устойчивость к засухе растений Phaseolus vulgaris L является следствием снижения устьичной проводимости, усиленного образования реактивных форм кислорода, нарушения координации активности ферментов антиокислительной защиты, акивизация процессов перекисного окисления липидов и окислительной деструкции клеточных структур. Библ. – 19, рис. – 3, табл. – 2.

Ключевые слова: растения, водный статус, реактивные формы кислорода, антиокислительные ферменты, засухоустойчивость.

Поступила в редакцию 25 сентября 2015

УДК: 581.1.03:581.14

ЭФФЕКТ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОЦЕС АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К ЗАСУХЕ. *Меленчук М.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 75-83.

Изучено влияние салициловой кислоты и её соединений с катионами NH_4^+, K^+, Mg^{++} на физиологические процессы изогидрических (*Zea mays* L.) и анизогидрических (*Sorghum bicolor* L. Moench) растений в условиях недостаточной влажности. Установлено, что особенности саморегуляции водного статуса в условиях засухи, обусловлены морфологическими адаптивными признаками: уменьшением поверхности испарения высыханием нижних листьев (кукуруза) и придаточных побегов (сорго), свертыванием листьев (кукуруза), кутинизацией листьев и экссудацией окиси кремния (сорго). Показано, что салицилаты участвуют в индукции механизмов засухоустойчивости растений путем модуляции поглощения воды, гидравлической проводимости, состояния устьиц и интенсивности транспирации. Такие адаптивные изменения направлены на повышение эффективности использования воды растениями. Обработка семян и листьев растений

салицилатами увеличивает устойчивость к недостаточному увлажнению что положительно отражается на рост и продуктивность растений. Библ. – 26, рис. – 2, табл. – 4.

Ключевые слова: водный статус, засуха, морфологические характеристики, устойчивость.

Поступила в редакцию 28 сентября 2015

УДК: 631.528:633.854.78

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ ДИФФЕРНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЕМЫХ В ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ ПОДСОЛНЕЧНИКА НА ЛОЖНУЮ МУЧНИСТУЮ РОСУ. *Шестакова Татьяна, Порт Анжела, Дука Мария.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 83-89.

Ложная мучнистая роса (ЛМР), вызываемая патогенным оомицетом *Plasmopara halstedii*, является одним из самых серьезных заболеваний подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Однако, механизм взаимодействия подсолнечника и ЛМР до сих пор недостаточно изучен. Для идентификации генов дифференциально экспрессируемых при взаимодействии *P. halstedii* и подсолнечника, была проанализирована экспрессия генов, ассоциированных с защитным ответом у пяти генотипов подсолнечника из РМ, инфицированных ЛМР в полевых условиях. В целом, в исследовании были использованы 14 последовательностей генов и восемь EST. На основе классификации функции для модельного организма и значительной гомологии отобранным последовательностям были присвоены функциональные категории. Самая большая группа содержала гены супероксиддисмутаз, каталаз и других. Более того, в данном исследовании были изучены гены, участвующие в переносе сигнала, и транскрипционные факторы, вовлеченные в защитный ответ. Дифференциальная экспрессия генов в ответ на воздействие ЛМР выявило частично молекулярный механизм, связанный с устойчивостью подсолнечника к ЛМР.

Библ. – 15, рис. – 2, табл. – 1.

Ключевые слова: Helianthus annuus; *Plasmopara halstedii*; защитный ответ; дифференциальная экспрессия генов; количественная ПЦР.

Поступила в редакцию 24 сентября 2015.

УДК 599.323.4:591.5(478.9)

СТРУКТУРА И РАЗНООБРАЗИЕ СООБЩЕСТВА МЕЛКИХ ГРЫЗУНОВ НА НЕОБРАБОТАННЫХ ПОЛЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЗОНЫ РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА. *Сытник Вячеслав, Нистреану Виктория, Ларион Алина, Мунтяну Андрей, Савин Анатолий, Постолаки Влад, Кихай Нина.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 90-98.

Исследования проводились в двух типах необработанных агроценозов центральной части республики в 2012-2014 годах. Использовались методы ловушко-ночей и мечения для выявления пространственной структуры популяций мышевидных грызунов. Были проанализированы структура и разнообразие сообществ мелких млекопитающих на необработанном поле и в заброшенном саду в весенне-осеннем периоде. Установлено, что на необработанном поле плотность видов *Apodemus sylvaticus* и *A. uralensis* растёт с весны к осени, но она больше у *A. sylvaticus*. Доля оседлых особей убывает в этот период. Этот параметр больше у *A. sylvaticus* по сравнении с *A.uralensis*. Это объясняется тем, что осенью возрастает активность мигрирующих особей.

Библ. 18 , рис.1 ., табл.1.

Ключевые слова: мышевидные грызуны, сообщества, обилие, плотность, сходство

Поступила в редакцию 28 июля 2015

УДК: 550.42 : 638.1 (478) УДК:550.42 : 638.1 (478)

СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В МЁДЕ И ПРОПОЛИСЕ. *Глига Олеся, Чеботарь Валентина, Бузу И., Кихай Нина.*// Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 98-110.

Целью исследования было, определить остатки тяжелых металлов *Pb, Cd* и *Cu* в мёде и прополисе, в различных зонах Республики Молдова, с разным антропогенным влиянием. Для этого, выбраны 4 зоны исследования (лесная, сельскохозяйственная, автотранспортная и промышленная) где размещены по 12 пчелиных семей. Лесная зона служила контролем где практически отсутствовали источники загрязнения. В сельскохозяйственной зоне потенциальными источниками загрязнения были бывший склад ядохимикатов, выхлопные газы автомобилей от центральной трассы

Кишинев-Бельцы и сельхозтехники. Автотранспортная зона, будучи расположенной на окраине города в близи интенсивной трассы Балкань была под сильным влиянием выхлопных газов автомобилей, предприятия по производству асфальта, авторынка и др. Также и промышленная зона, находясь на окраине города, была под сильным влиянием выделений промышленных объектов и автотранспорта. В период 2012-2013гг., в мае-июне месяце от каждой пчелиной семьи были отобраны по 10 г мёда и прополиса. Количественный анализ металлов в пчёлопродуктах проведен используя спектрометрический метод атомной абсорбции с термической атомизацией (GFASS). Было установлено,что содержание ТМ в мёде и прополисе зависит от зоны размещения пасеки. Результаты исследования подтвердили присутствие ТМ во всех анализируемых пробах мёда, за исключением *Cd* который не имел обнаруживаемых значений. Самое высокое содержание *Pb* и *Cu* в мёде было зарегистрировано в промышленной зоне (0,162±0,021 и 0,481±0,055 мг/kг), а самое низкое – в лесной зоне (0,017±0,002 и 0,031±0,003 мг/kг). В пробах прополиса зарегистрировано присутствие всех трех исследуемых ТМ. Самое высокое содержание *Pb* и Cd в прополисе было зарегистрировано в промышленной зоне (9,23±1,08 и 0,402±0,055 мг/kг), а самое низкое – в лесной зоне (2,28±0,44 и 0,038±0,002 мг/kг). Самое высокое содержание Cu в прополисе было зарегистрировано в автотранспортной зоне (6,74±0,33 мг/kг), а самое низкое – в лесной зоне (3,24±0,26 мг/kг). Концентрация ТМ в мёде и прополисе Республики Молдова не превышает МДЛ установленные нормами ЕС и ФАО. Следовательно, можем заключить что исследуемые пчелиные продукты и зоны в которых были отобраны пробы меда и прополиса не загрязнены тяжелыми металлами.

Библ. 31, табл. 5, рис. 2.

Ключевые слова: мёд, прополис, тяжелые металлы, свинец, кадмий, медь.

Поступила в редакцию 01 сентября 2015

УДК: 595.421:591.5(478:282.247.14)

АНТРОПОГЕННАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ И ЕЕ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ УРБАНИСТИЧЕСКИХ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ *(*ACARINA*: IXODIDAE)* В РАЙОНАХ НИЗОВЬЯ ДНЕСТРА. *Кравченко Оксана Владимировна.* // Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 110-118.

В работе рассмотрены результаты изучения иксодовых клещей по полевым сборам за 2011 - 2014 года в некоторых районах, подверженных антропогенному прессу, в зонах низовья Днестра. Обобщены собственные и литературные данные о видовом составе, приведен мониторинг динамики численности иксодовых клещей в зависимости от абиотических факторов.

Библ.-13, табл.-2,рис.-4.

Ключевые слова: иксодовые клещи; эпидемическое и эпизоотологическое значение; антропогенное воздействие; природные очаги; сборы; абиотический фактор; активность клещей.

Поступила в редакцию 11 марта 2015

УДК: 595.799

ПЧЕЛИННЫЕ (*HYMENOPTERA, APOIDEA*) – ОПЫЛИТЕЛИ ЭФИРОМАСЛИЧНЫХ РАСТЕНИЙ, ВОЗДЕЛЫВАЕМЫХ В Р. МОЛДОВА. *Стратан В.* // Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 119-126.

На 16 видах эфиромасличных культур выявлено 84 вида диких пчелиных-опылителей. В работе дается описывание действия условий функционально-полноценного биоценоза на развитие и поддерживание численности пчелиных-опылителей. Библ. - 1табл. - 1,

Ключевые слова: Apoidea, эфиромасличные культуры, опылители

Поступила в редакцию: 11 февраля 2015

УДК: 597.2/.5(597:282.2)

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SCHISTURA* MCCLELLAND, 1838 ИЗ БАССЕЙНА РЕКИ GIANH, ВЬЕТНАМ. *Ho Anh Tuan.* // Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 126-134.

Род *Schistura* McClelland, 1838 содержит 193 видов, из которых 29 видов распространены, главным образом, в верховьях рек Вьетнама. Было анализировано 248 экземпляров рода *Schistura* McClelland, 1838 из бассейна реки Gianh во Вьетнаме. Выявлены четыре вида: *Schistura finis* Kottelat, 2000; *Schistura hingi* (Herre, 1934); *Schistura kottelati* Tuan et al, 2015; *Schistura pervagata* Kottelat, 2000. Два вида: *Schistura finis* Kottelat, 2000 и *Schistura kottelati* Tuan et al, 2015

были впервые обнаружены в бассейне реки Gianh из Вьетнама. Библ. – 17, рис. – 5, таб. – 2.

Ключевые слова: ихтиофауна, биоразнообразие, морфометрические признаки, водные экосистемы.

Поступила в редакцию: 26 сктября 2015

УДК: 546.562:615.28:547.4

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N(4)-АЛЛИЛ-3-СЕЛЕНОСЕМИКАРБАЗОНА 2-ФОРМИЛПИРИДИНА И КОМПЛЕКСА МЕДИ С ДАННЫМ ЛИГАНДОМ. *Граур Василий, Гарбуз Ольга, , Заричук Елена, Гудумак Валентин, Гуля Аурелиан.* // Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 135-142.

В работе представлен синтез N(4)-аллил-3-селеносемикарбазона 2-формилпиридина, который был изучен с использованием спектроскопии ЯМР (^{1}H и ^{13}C). Используя синтезированный селеносемикарбазон был осуществлен синтез комплекса хлорида меди(II) с данным лигандом. Для синтезированных веществ была изучена биологическая активность. Данные вещества проявляют бактериостатическую и бактерицидную активность в отношении ряда грам-положительных и грам-отрицательных микроорганизмов и грибов в интервале 0,7-500мкг/мл. Активность комплексного соединения меди в отношении грам-отрицательных микроорганизмов значительно превышает активность лиганда. Антиоксидантные свойства синтезированного селеносемикарбазона значительно превосходят антиоксидантные свойства комплекса. Синтезированные вещества также ингибируют рост и размножение раковых клеток MeW-164, HL-60 и HeLa.

Библ. – 16, таб. – 1, рис. - 7

Ключевые слова: селеносемикарбазоны, медные комплексы, противомикробная активность, антиоксидантная активность, противораковая активность

Поступила в редакцию 29 июля 2015

УДК: 579.6

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СПИРУЛИНЫ ВЫРАЩЕННОЙ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕЖИМА ОСВЕЩЕНИЯ. *Рудик В., Рудь Л. Кирияк Т., Кодряну С., Думбрэвяну В., Джур С., Чепой Л., Миску В., Гелбет В., Кельменчук В.* // Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 142-149.

В статье представлены результаты исследования по динамике изменения биохимического состава биомассы спирулины, выращенной в лабораторных условиях, в зависимости от режима освещения. Эксперименты проводились в режиме непрерывного освещения и периодичного освещения (12 час света:12 часов темноты). В полученной биомассе определяли количественное содержание белков, липидов, углеводов, пигментов. Производительность спирулины в экспериментальных моделях были одинаковыми, различия наблюдались в составе биомассы. Условия культивирования в режиме периодичного освещения можно считать менее благоприятными для выращивания спирулины, даже если это ее естественная среда. Это связано с уменьшением количества белка и увеличение содержания углеводов в биомассе, а также накоплением продуктов перекисного окисление липидов, особенно в конце периода мониторинга. При непрерывном режиме освещения стабильность продуктов перекисного окисления на протяжении периода выращивания, свидетельствует о нормальном физиологическом состоянии биомассы спирулины. Библ. – 16, рис. - 7.

Ключевые слова: Spirulina platensis, белки, липиды, углеводы, малоновый диальдегид, фикобилины, каротиноиды, режим освещения

Поступила в редакцию 22 сентября 2015

УДК: 579.083.13+579.24

ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ TiO_2 НА РОСТ ДРОЖЖЕЙ И БИОСИНТЕЗ БЕЛКА. *Усатый Агафия, Киселица Наталия, Молодой Елена, Беженару Людмила, Кирица Елена, Бешлиу Алина, Борисова Тамара.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 149-155.

В работе представлена информация о влиянии различных концентраций наночастиц TiO_2 на рост дрожжей рода *Saccharomyces* и *Rhodotorula.* Установлено, что наночастицы TiO_2 в концентрации от 0,5 до 15,0 мг/л не оказывают существенного влияния на процесс размножения и

накопление биомассы дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, *Rhodotorula gracilis* II/6. Установлено, что наночастицы диоксида титана вызывают снижение содержания белка в биомассе дрожжей рода *Saccharomyces* и увеличение данного показателя у пигментированных дрожжей *Rhodotorula gracilis* II/6. Библ. – 17, рис. - 4.

Ключевые слова: Наночастицы TiO_2, *Saccharomyces cerevisiae, Rhodotorula gracilis,* размножение, биомасса, белок.

Поступила в редакцию 11 сентября 2015

УДК: 579.6

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ В БИОМАССЕ ЦИАНОБАКТЕРИИ *SPIRULINA PLATENSIS* НА ПРОТЯЖЕНИЕ ПРОЦЕССА ВЫРАЩИВАНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОСВЕЩЕНИЯ. *Рудик В.Ф., Рудь Л.Б., Киряк Т.В., Кодряну С.Н., Думбрэвяну В., Джур С., Чепой Л., Миску В., Кожокарь А., Садовник Д., Келменчук В.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 156-162.

В статье представлены результаты исследования по изучению динамике изменения антиоксидантной активности водного, этанольного и водноспиртового (50%-ного) экстрактов, полученных из биомассы спирулины, выращенной в лабораторных условиях при непрерывном освещении и при режиме 12/12 часов день / ночь. Способность водного и этанольного экстрактов ингибировать катион-радикал ABTS значительно выше в случае биомассы, выращенной при непрерывном освещении. В водноспиртовых экстрактах также тенденция сохраняется только во время фазы экспоненциального роста. Самая высокая антирадикальная активность по отношению к $ABTS^{\cdot+}$ характерна для этанольного экстракта из биомассы, полученной при непрерывном освещении (до 70.14% ингибирования).

Антирадикальная активность по отношению к $DPPH^{\cdot}$этанольного и водноэтанольного экстрактов биомассы спирулины, выращенной в различных режимах освещения находится на одном уровне. Наблюдаемые колебания определяется возрастом культуры. Антирадикальная активность по отношению к $DPPH^{\cdot}$водного экстракта в 6 раз выше в случае экстракции из биомассы полученной при непрерывном освящении. Библ. – 15, рис. - 6.

Ключевые слова: спирулина, антиоксидантная активность, световой режим

Поступила в редакцию 22 сентября 2015

УДК: 579.61

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ В ИЗУЧЕНИИ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ ВОСПРИИМЧИВОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ. *Олту Юлиан.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 163-170.

Данная статья призвана подчеркнуть основные механизмы действия противогрибковых препаратов и современные классификации противогрибковых препаратов на основе этих механизмов, а также на основе их химической структуры. Описаны универсальные механизмы развития устойчивости к противогрибковым препаратам. Доказана необходимость проведения дальнейших исследований, направленных на выявление возможностей для преодоления резистентности к противогрибковой терапии. Приведены примеры результатов, полученных в результате применения современных подходов к этой проблеме. Библ.– 43.

Ключевые слова: противогрибковая активность, классификация препаратов противогрибкового действия, механизмы противогрибковой резистентности.

Поступила в редакцию 29 сентября 2015

УДК: 630.182:582.632.2(478)

ОСОБЕННОСТИ РОСТА В ВЫСОТУ ПОТОМСТВА ДУБА ПУШИСТОГО (*QUERCUS PUBESCENS* WILD.) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ПРОИСХОЖДЕНИЯ. *Куза Петру.* //Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3 (327), с. 171-178.

Были исследованы особенности роста в высоту потомства дуба пушистого (*Quercus pubescens* Willd.) разного экологического происхождения. Выявлено что у потомств локального происхождения, проявляется более высокая энергия роста по сравнению с теми, которые происходят от семян с отдалённых мест сбора. В то же время показано, что у особей из Баймаклии проявляется аналогичный характер роста в высоту в сравнении с потомством местного происхождения. По

видимому насаждения из Баймаклии отличаются генетической гетерогенностью и повышенной адаптацией, позволяющим потомству поддерживать энергию роста в новых условиях произрастания. На основании вышесказанного рекомендуем при создании ленных культур выводить потомства дуба пушистого путём посева семян локального происхождения или из близлежащих насаждений. Библ. – 1, рис. – 1, табл. - 1

Ключевые слова: Дуб пушистый, происхождение желудей, сеянцы, рост.

Поступила в редакцию 22 мая 2015

УДК:634.512:504.75

ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ РЕКОНСТРУКЦИИ БЕЛОАКАЦИЕВЫХ НАСАЖДЕНИЙ С ВВОДОМ ИНТРОДУЦИРОВАННОГО ОРЕХА ЧЕРНОГО В ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ НИЖНЕГО ДНЕСТРА. *Кичук Наталья.* // Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни. 2015, № 3(327), с. 179-185.

В статье рассматривается проблема усыхающих белоакациевых насаждений, требующих реконструкции в лесных фитоценозах Нижнего Днестра. Дана сравнительная оценка роста, состояния, количества деловых стволов, запаса насаждений и возраста технической спелости древесины насаждений дуба черешчатого, ореха черного и акации белой в сухих лесорастительных условиях Гербовецкого лесничества. Рекомендуется к применению технология реконструкции неудовлетворительных по состоянию и составу белоакациевых насаждений в лесных фитоценозах Нижнего Днестра, базирующаяся на использовании образующихся в процессе усыхания насаждений экологических ниш с вводом ореха черного. Библ.- 11, табл. – 3, рис. – 1.

Ключевые слова: черный орех, интродуцент, белоакациевые насаждения, реконструкция, запас древесины, прямоствольность, высокопродуктивные насаждения.

Поступило в редакцию 02 сентября 2015

CONTENTS

BASIC ARTICLES

Development of psychosanocreatology – practical need to improve the society's psychic health. (Lecture at the plenary session of the 11th International interdisciplinary Congress «Neuroscience for medicine and psychology»).
Furdui T.I., Ciochina V.K., Furdui V.T. **4**

Genetic and molecular mechanisms of plant resistance to biotic stress.
Şestacova Tatiana, Tabără Olesea **14**

PHYSIOLOGY AND SANOCREATOLOGY

The current state of knowledge of mental health indicators in patients with chronic viral hepatitis.
Berezovscaia E. S. **27**

The vital potential and body weight of adult rats, according to the content of food ration.
Polyakova Lilya **38**

The role of the alimentary factor in maintening the intestinal microbiocenosis and the health of the organism.
Strutinschi T., Timoshco M. **44**

PLANT PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY

The particularity of *Triticum aestivum* L. seeds germination under heat shock.
Jelev Natalia, Zdioruc Nina, Ralea Tudor, Dascaliuc Alexandru **50**

Quick estimation of the thermotolerance in wheat genotypes, correlated with heat shock influence on seed germination.
Jelev Natalia, Zdioruc Nina, Ralea Tudor, Gorea Andrei, Dascaliuc Alexandru **60**

The significance of water homeostasis and antioxidant protection for plant tolerance to drought.
Brînză Lilia **67**

Effect of salicylic acid on the process of plant adaptation to drought.
Melenciuc M. **75**

GENETICS, MOLECULAR BIOLOGY AND BREEDING

Identification of genes differentially expressed in sunflower during interaction with *Plasmopara halstedii.*
Şestacova Tatiana, Port Angela, Duca Maria **83**

ZOOLOGY

Structure and diversity of small rodent communities in abandoned lands from the central zone of the Republic of Moldova.
Sîtnic Veaceslav, Nistreanu Victoria, Larion Alina, Munteanu Andrei, Savin Anatolie, Postolachi Vlad, Chihai Nina **90**

The content of heavy metals in honey and propolis.
Gliga Olesea, Cebotari Valentina, Buzu Ion, Chihai Nina..... **98**

Anthropogenic transformation and its role in the shaping of urban natural foci of ticks *(*Acarina*: Ixodidae)* in the lower Dniester area.
Kravchenko Oksana **110**

The superfamily Apoidea (*Hymenoptera, Apoidea*) – pollinators of cultivated in Moldova aromatic plants.
Stratan V. **119**

Characteristics of identified morphology of genus *Schistura* McClelland, 1838 in the Gianh river basin from Vietnam.
Ho Anh Tuan **126**

MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

Synthesis and biological activity of 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemi-carbazone and its copper coordination compound.
Graur Vasilii, Garbuz Olga, Zariciuc Elena, Gudumac Valentin, Gulea Aurelian **135**

Dynamics of changes in spirulina biochemical composition depending on the light regime during cultivation in laboratory conditions.
Rudic V., Rudi L., Chiriac T., Codreanu S., Dumbrăveanu V., Djur S., Cepoi L., Miscu V., Ghelbet V., Chelmenciuc V. **142**

Effect of nanoparticles of TiO_2 on the growth and protein biosynthesis of yeasts.
Usatîi Agafia, Chiseliţa Natalia, Molodoi Elena, Bejenaru Ludmila, Chiriţa Elena, Beşliu Alina, Borisova Tamara **149**

Antioxidant activity of *Spirulina platensis* biomass during cultivation depending on the lighting.
Rudic V., Rudi L., Chiriac T., Codreanu S., Dumbrăveanu V., Djur S., Cepoi L., Miscu V., Cojocari A., Sadovnic D., Chelmenciuc V. **156**

Contemporary approaches to antifungal susceptibility and resistance.
Oltu Iulian **163**

ECOLOGY AND GEOGRAPHY

Peculiarities of height growth in downy oak (*Quercus pubescens* Willd) descendants depending on their origin.
Cuza Petru **171**

The rationale for restructuring the white acacia plantations of Lower Dniester forest phytocoenosis by introducing of non-native black walnut.
Kichuk Natalia **179**

ANNIVERSARIES

Academician Constantin Toma on his 80th birthday celebration.
Miron Ionel **186**

Abstracts (in Eng). **190**

Рефераты (in Rus). **197**

CUPRINS

ARTICOLE DE FOND

Развитие психосанокреатологии – потребность практики в психическом оздоровлении общества. (Лекция на пленарном заседании XI-го Международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии”).
Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф. **4**

Mecanisme genetico-moleculare ale rezistenţei plantelor la stresul biotic.
Şestacova Tatiana, Tabără Olesea **14**

FIZIOLOGIA ŞI SANOCREATOLOGIA

Современное состояние изученности показателей психического здоровья у пациентов с хроническими вирусными гепатитами.
Березовская Е.С. **27**

Potenţialul vital şi masa corpului şobolanilor maturi alimentaţi cu diferit conţinut al componentelor constituente ale raţiei.
Poleacova Lilia **38**

Rolul factorului alimentar în menţinerea microbiocenozei intestinale şi sănătăţii organismului.
Strutinschi Tudor, Timoşco Maria **44**

FIZIOLOGIA ŞI BIOCHIMIA PLANTELOR

Particularităţile germinării seminţelor de *Triticum aestivum* L. expuse şocului termic.
Jelev Natalia, Zdioruc Nina, Ralea Tudor, Dascaliuc Alexandru **50**

Aprecierea accelerată a termotoleranţei genotipurilor de grâu în baza specificului influenţei şocului termic asupra germinării seminţelor.
Jelev Natalia, Zdioruc Nina, Ralea Tudor, Gorea Andrei, Dascaliuc Alexandru **60**

Semnificaţia homeostazei apei şi protecţiei antioxidante pentru toleranţa plantelor la secetă.
Brînză Lilia **67**

Efectul acidului salicilic asupra procesului de adaptare a plantelor la secetă.
Melenciuc M. **75**

GENETICA, BIOLOGIA MOLECULARĂ ŞI AMELIORAREA

Identification of genes differentially expressed in sunflower during interaction with *Plasmopara halstedii.*
Şestacova Tatiana, Port Angela, Duca Maria **83**

ZOOLOGIA

Structura şi diversitatea comunităţilor de rozătoare mici în terenurile neprelucrate din zona centrală a Republicii Moldova.
Sîtnic Veaceslav, Nistreanu Victoria, Larion Alina, Munteanu Andrei, Savin Anatolie, Postolachi Vlad, Chihai Nina **90**

Conţinutul metalelor grele în miere şi propolis.
Gliga Olesea, Cebotari Valentina, Buzu Ion, Chihai Nina **98**

Антропогенная трансформация и ее роль в формировании урбанистических природных очагов иксодовых клещей (Acarina: *Ixodidae)* в районах низовья Днестра.
Кравченко Оксана Владимировна **110**

The superfamily apoidea (*Hymenoptera, Apoidea*) - pollinators of cultivated in Moldova aromatic plants.
Stratan V. **119**

Characteristics of identified morphology of genus *Schistura* McClelland, 1838 in the Gianh river basin from Vietnam.
Ho Anh Tuan **126**

MICROBIOLOGIA ŞI BIOTEHNOLOGIA

Synthesis and biological activity of 2-formylpyridine N(4)-allyl-3-selenosemicarbazone and its copper coordination compound.
Graur Vasilii, Garbuz Olga, Zariciuc Elena, Gudumac Valentin, Gulea Aurelian **135**

Dinamica modificării componenţei biochimice a spirulinei pe durata cultivării în condiţii de laborator în dependenţă de regimul de iluminare.
Rudic V., Rudi L., Chiriac T., Codreanu S., Dumbrăveanu V., Djur S., Cepoi L., Miscu V., Ghelbet V., Chelmenciuc V. **142**

Efectul nanoparticulelor TiO_2 asupra reproducerii celulelor şi conţinutului de proteine la levuri.
Usatîi Agafia, Chiseliţa Natalia, Molodoi Elena, Bejenaru Ludmila, Chiriţa Elena, Beşliu Alina, Borisova Tamara **149**

Activitatea antioxidantă în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* pe durata cultivării în dependenţă de iluminare.
Rudic V., Rudi L., Chiriac T., Codreanu S., Dumbrăveanu V., Djur S., Cepoi L., Miscu V., Cojocari A., Sadovnic D., Chelmenciuc V. **156**

Abordări contemporane în sensibilitatea şi rezistenţa antifungică.
Oltu Iulian **163**

ECOLOGIA ŞI GEOGRAFIA

Specificul creşterii în înălţime a descendenţilor stejarului pufos (*Quercus pubescens* Willd.) în funcţie de provenienţa lor ecologică.
Cuza Petru **171**

Целесообразность реконструкции белоакациевых насаждений с вводом интродуцированного ореха черного в лесных фитоценозах Нижнего Днестра.
Кичук Наталья **179**

ANIVERSĂRI

Academicianul Constantin Toma la 80 de ani.
Miron Ionel **186**

Abstracts (in Eng). **190**

Рефераты (in Rus). **197**