

POLUAREA SONORĂ ȘI SĂNĂTATEA UMANĂ

*Aurelia CRIVOI, Iurie BACALOV, Elena CHIRIȚA, Ana ILIEȘ,
*Valentin AȘEVȘCHI, **Lidia COJOCARI, Iulian PARA, Irina BACALOV*

Universitatea de Stat din Moldova

**Universitatea de Studii Politice și Economice Europene „Constantin Stere”*

***Universitatea Pedagogică de Stat „Ion Creangă”*

În civilizația contemporană omul trăiește într-un spațiu cu sunet, însoțit în mod continuu de un „cortegiu” de zgomot și vibrații cu intensități cele mai variate și cu efecte care au mai mult sau mai puțin acțiune agresivă asupra confortului și chiar asupra sănătății lui. Din cauza prezenței sale dăunătoare în toate compartimentele vieții, poluarea fonică este o problemă majoră în toate țările, deoarece nivelul de zgomot se dovedește a fi un fenomen perturbator în creștere.

Cuvinte-cheie: poluare, zgomot, sănătate, mediu înconjurător, auz.

NOISE AND HUMAN HEALTH

In terms of contemporary civilization, man lives in a spacious sound, continually accompanied by a "cortege" noise and vibration of the most varied intensities and effects having more or less aggressive on the comfort and even on his health. Due to its harmful and its presence in all departments of life, noise pollution is a major problem in all countries where we are witnessing a phenomenon of increased noise levels.

Keywords: pollution, noise, health, environment, hearing.

Introducere

Poluarea sonoră interesează pentru aspectele sale actuale, deoarece ea creează incomodități, pagube și afectează sănătatea, implicând uneori mase mari de oameni, ceea ce obligă la cunoașterea cât mai aprofundată și mai extinsă a acestui fenomen.

Primele observații științifice asupra zgomotului și a influenței sale nocive se referă exclusiv la zgomotul produs de activitățile productive. Abia în secolul XX apar primele studii sistematice asupra zgomotului urban, deși cu mult înainte acesta a fost sesizat ca element perturbator al activității obișnuite a populației. Problemele legate de fenomenul poluării nu constituie o noutate, toate societățile omenești au luat naștere și s-au consolidat transformând mediul lor natural într-o manieră adesea ireversibilă.

Poluarea fonică reprezintă una dintre principalele noxe ale localităților urbane. Ea a devenit o formă de poluare a mediului mult mai nocivă și cu efecte mult mai grave decât numeroși alți poluanți existenți în jurul nostru.

Un număr mare de cercetători au arătat că în zonele cu zgomot intens sunt mult mai numeroase afecțiunile neuropsihice, cardiovasculare, precum și reacțiile de disconfort ale organismului în comparație cu zonele mai liniștite. Intensitatea zgomotului stradal, precum și a celui din locuințe depășește uneori cu mult valorile maxime admise, având consecințe negative asupra confortului unei mase destul de mari a populației [1].

Măsurarea și aprecierea efectelor poluării sonore este dificilă, ea depinzând de un număr mare de factori subiectivi, în afară de intensitatea cu care se manifestă agresiunea sonoră la un moment dat. Chiar dacă în Republica Moldova această „poluare fonică” nu a atins proporții îngrijorătoare, se impune totuși ca o necesitate de prim ordin cunoașterea nocivității zgomotului și asigurarea unui confort acustic la locul de muncă, pe stradă, acasă, în perioadele de activitate, dar și în cele de odihnă.

Zgomotul a devenit astăzi, îndeosebi pentru marile metropole, un adevărat flagel, o formă de poluare a mediului mult mai nocivă și cu efecte mult mai grave decât numeroși alți poluanți existenți în mediul ambiant.

Zgomotul comunal asaltează urechile cetățenilor cu o intensitate apropiată de nivelul acelei care produce leziuni permanente ale auzului. În jurul marilor aeroporturi zgomotul intens al avioanelor „bombardează” urechile a milioane de cetățeni, producându-le nu doar disconfort, dar chiar leziuni otice și alte perturbări somatice și psihice. De asemenea, numeroși muncitori sunt expuși la zgomot nu doar în industria grea, a transportului, confecțiilor, dar și în agricultură, în birouri, care erau considerate odinioară ca liniștite.

Omul percepe sunete cu o frecvență între 16 și 20000 vibrații pe secundă și cu o intensitate între 0 și 120 dB. Zgomotul produs de o convorbire se situează între limitele de 30 și 60 dB.

Nivelul de 20-30 decibeli este inofensiv pentru organismul uman, acesta este fonul sonor normal. În natură sunetele puternice sunt o raritate, zgomotul este slab și de obicei de scurtă durată. Sunetele sunt indispensabile existenței animale și umane. Sunete precum murmurul apei unui izvor, freamătul frunzelor sunt întotdeauna plăcute omului, ele liniștesc, scot stresul. Dar aceste sunete devin tot mai rare, fiind înlocuite de zgomotul provocat de industrie și transport. Majoritatea activităților în care este implicat omul sunt generatoare de zgomote. Poluarea sonoră poate fi generată de surse naturale și de surse artificiale [2]. Sursele naturale sunt erupțiile vulcanice, cutremurele, alunecările de teren, vuietul unei cascade etc.

Sursele artificiale de zgomot pot fi surse generatoare de zgomot în mediul ambiant: sunetul sirenelor, soneriile, claxoanele, zgomotul produs de traficul auto sau aerian. Traficul aerian, în special cel supersonic, prezintă o sursă de zgomot cu implicații puternice. Unele motoare aviatice se aud de la 30 km. Măsurările efectuate în orașele mari arată că nivelul zgomotului în orele de vârf depășește cu mult standardele și normele sanitare.

Este foarte ridicat nivelul zgomotului industrial, în unele întreprinderi el este la nivelul de 90-100 decibeli, dar și acasă nu este mai liniște.

Tabelul 1

Sursele și limitele admisibile ale nivelului zgomotului [6]

Intensitatea	Sursa
0 dB	Cel mai ușor sunet perceput de urechea umană.
30 dB	Zgomot în biblioteca publică, șoaptă ușoară sau ticăitul de ceas.
40 dB	Sufrageria sau biroul liniștit.
50 dB	Semnălele în traficul rutier, frigiderul sau o conversație.
60 dB	Plânsul bebelușului sau lucrul climatizorului.
70 dB	Trafic rutier aglomerat, zgomotul din restaurant.
80 dB	Zgomot de fabrică, lătrat de câne, sunetele unui pian, alarma de la ceas, uscător de păr, mașina de îndepărtat zăpada. Aceste zgomote devin periculoase dacă expunerea la ele continuă este mai mult de 8 ore.
90 dB	Mașina de tuns iarba, traficul de camioane, orchestra simfonică. Pe măsură ce intensitatea zgomotului crește, timpul de expunere periculos scade sub 8 ore.
100 dB	Mașini, unelte „Drujbă”, picamer, aparat de suflat frunzele, camion de gunoi, căști stereo. Chiar și două ore de expunere la aceste zgomote pot fi periculoase la 100 dB.
120 dB	Concert rock, explozii miniere, decolări de avion. Pericolul poate fi imediat; expunerea la 120 dB poate dăuna urechilor.
140 dB	Împușcătură, artificii, pistol cu capse. Orice durată de expunere la zgomotul de 140 dB este periculoasă și poate provoca dureri în ureche.
170 dB	Arma de foc puternică sau de vânătoare. Fără protecții pentru urechi, zgomotul la această intensitate produce daune ireversibile. Pierderea auzului poate fi inevitabilă.

În prezent se studiază acțiunea zgomotului asupra organismului uman. Cercetările au arătat că nivelul foarte mare acționează negativ, dar și liniștea apăsătoare produce reacții patologice [2]. Sunete de o anumită intensitate sunt necesare, în special la efectuarea diferitelor calcule.

Fiecare individ interpretează zgomotul în mod diferit. Foarte mult depinde de vârstă, temperament, starea de sănătate, factori externi. Sunetele de o intensitate mare afectează aparatul auditiv, centrele nervoase, pot produce reacții dureroase și chiar șocul.

Poluarea sonoră provoacă la nivelul organismului uman o serie întregă de efecte, începând cu ușoare oboseli auditive până la stări nevrotice grave și chiar traumatisme ale organului auditiv. Sunetele cu o frecvență mai ridicată sunt mai periculoase decât cele cu o frecvență joasă [3].

Zgomotele din timpul nopții sunt mai dăunătoare decât cele din timpul zilei, deoarece somnul superficial determină acumularea oboselii, având consecințe grave ca: hipertensiunea arterială, ulcerul, putând provoca chiar și infarct. Zgomotele din timpul zilei au efecte nefavorabile asupra organismului, determinând creșterea ritmului cardiac, a tensiunii arteriale, dureri de cap, amețeli, senzații de neliniște, frică, scăderea capacității de concentrare.

Cele mai importante probleme legate de sănătate, cauzate de poluarea fonică, sunt pierderea auzului. Orice sunet, care depășește ca intensitate vorbitul, poate răni celule delicate din cohlee, zonă unde sunetul este transformat în impuls nervos auditiv. Inițial rana este una temporară, însă expunerea repetată poate produce o rană permanentă. Zgomotele puternice provoacă surziri rapide, sunetele extrem de zgomotoase, cum ar fi sunetul produs de descărcarea unei arme de aproape, poate provoca surzire imediată. Cu toate acestea, și sunetele de 85 de decibeli vor provoca o pierdere a auzului după o expunere îndelungată; 10 milioane de americani [2] au unele probleme cu auzul datorate parțial sau integral expunerii la zgomote puternice și 20 de milioane sunt în risc.

Majoritatea problemelor legate de auz au sursa la locul de muncă, unde muncitorii nu se pot feri de sunete periculoase și expunerea la acestea poate dura mai mulți ani. Chiar și la niveluri sub cele care provoacă pierderea auzului, poluarea fonică produce unele probleme, cum ar fi incapacitatea de a conversa cu una sau mai multe persoane și probleme legate de somn. Fiind o sursă de stres, ea poate provoca pe lângă tensiuni mari și alte probleme cardiovasculare, alături de dereglări nervoase [4].

Zgomotul poate provoca diminuarea volumului caloric, afectarea funcțiilor circulatorii, schimbări ale ritmului inimii și ale presiunii sanguine, nevroze stomacale, insomnii. Zgomotul poate genera stări de teamă și incomoditate, diminuează atenția și siguranța. Traumatismele provocate de zgomot se referă la ruperea timpanului, lezarea organului Corti.

Organele auditive sunt într-o legătură puternică cu sistemul nervos central, diferite categorii de zgomot pot afecta orice țesut al organismului, orice celulă sau formațiune intracelulară și pot provoca diferite forme de îmbolnăviri. Acțiunea primară a zgomotului influențează puternic nu doar asupra urechii, dar are și urmări neurologice – amețeli, cefalee, oboseală. Muzica puternică poate crea stări de depresie [5].

Zgomotul este foarte periculos, acțiunea sa se manifestă cu timpul, pe nesimțite. Tot mai frecvent în lumea medicală se vorbește despre maladia zgomotului, cu afectarea sistemului nervos și a celui auditiv. Problema cu somnul o au nu doar adulții afectați de zgomot, ci și copiii. Astfel, potrivit unui studiu efectuat recent în Germania, copiii care dorm într-un mediu poluat fonic reprezintă un risc accentuat de a face astm bronșic și diverse forme de alergii. Pe de altă parte, în raportul Organizației Mondiale a Sănătății se atrage atenția asupra faptului că presiunea zgomotului este frecvent de peste 80 dB, ceea ce explică numărul în creștere al celor ce manifestă comportament violent, atât de vârstă fragedă, cât și maturi. Copiii care învață în școli apropiate unui aeroport sau unor artere cu trafic rutier major au mari dificultăți în procesul de învățare, memorare și concentrare [6]. În cazul acestor copii se înregistrează diminuarea nivelului intelectual. Cu cât timpul de expunere într-un mediu poluat fonic este mai mare, cu atât performanțele intelectuale vor fi mai scăzute [7].

Rezultatele unui studiu epidemiologic din anul 2009, efectuat cu ajutorul specialiștilor din Inspectoratul de Sănătate Publică și al specialiștilor din mediul mondial, semnalează manifestări superioare ale simptomelor nespecifice din zonele de trafic intens la grupa de vârstă 15-64 de ani pentru tulburările de somn (maximum 49%), cefalee (maximum 25%), pe un fon ridicat prezent și pentru zona rezidențială, care înregistrează destul de frecvent un nivel de zgomot superior celui de confort [8]. În privința frecvenței acțiunii potențiale, în societatea expusă excesiv la zgomot cea mai mare prevalență o înregistrează hipertensiunea arterială (maximum 16%) [9].

Chiar și mările și oceanele suferă de pe urma acestui gen de poluare. Operațiuni de exploatare a resurselor aflate pe malul mărilor și oceanelor, a motoarelor navelor, în special a vapoarelor și navelor foarte mari speciale pentru transport de mărfuri, produc sunete puternice care sunt aplicate pe apă. De curând pentru depistarea submarinelor și determinarea temperaturilor se folosește un sonor ce funcționează pe frecvențe joase. Chiar dacă noi nu recepționăm aceste sunete, animalele marine (balenele, delfinii), care folosesc propriul sonor pentru a depista hrana și pentru a se deplasa, suferă de pe urma acestui lucru [10].

Reieșind din cele relatate mai sus, **scopul** acestei lucrări constă în studiul influenței poluantului sonor asupra mediului înconjurător, îndeosebi asupra sănătății populației.

Material și metode

Cercetările au fost efectuate în municipiul Chișinău, cuprinzând două raioane ale acestuia, care se deosebesc după intensitatea mișcării mijloacelor de transport și nivelul poluării fonice. Raioanele pentru cercetare au fost diferențiate pe baza analizei preventive a materialelor Centrului Național de Sănătate Publică și a cercetărilor proprii.

Pentru cercetare au fost alese următoarele raioane:

- I. Raionul Sculeanca (sectorul părții de nord a orașului, de la strada Orheiului, care se mărginește la sud-vest cu strada Ion Creangă și b-dul Ștefan cel Mare până la strada Petricani.

II. Raionul Buiucani (sectorul de la finele străzii Ion Creangă până la complexul EXPO al Republicii Moldova) – raionul de control.

Cercetarea și descrierea poluării fonice au fost realizate prin următoarele metode:

- studierea literaturii (utilizarea diferitelor surse de informație, în care este abordată tema respectivă);
- observarea directă (observarea se efectuează vizual prin utilizarea mai multor mijloace de cercetare).

Sursele de zgomot au fost stabilite atât prin observație directă, cât și în urma determinărilor nivelului de zgomot. Studiul a fost realizat cu ajutorul telefonului mobil Nokia 5100, dotat cu sonometru. În raza orașului, ca puncte de prelevare a zgomotului au fost alese următoarele puncte:

- intersecții cu trafic intens – clasa tehnică II, unde limita maximă admisibilă este de 85 dB (A);
- intersecții cu trafic mediu – clasa tehnică III și IV, unde limita maximă admisibilă este de 75 dB (A).

Determinările zgomotului au fost efectuate la o distanță de 3 metri de la clădirile limitrofe străzilor din intersecție și la 1,5 metri înălțime.

Condițiile meteorologice au fost următoarele:

- Intensitatea vântului – calm;
- Timp – fără averse;
- Temperatura ambientală – (-4)/(+35°C).
- Prin observație directă a fost numărat fluxul de mașini timp de o oră.
- Determinările au fost efectuate timp de o zi (6.00 – 22.00).
- Domeniul de măsurare a fost ales în intervalul 50–110 dB.
- Timpul de determinare a fost stabilit la 15 minute, cu înregistrare a nivelului de zgomot din 15 în 15 secunde.

În mun. Chișinău ca străzi de studiu au fost alese următoarele: str. Muncești, str. Ion Creangă, str. Uzinelor, str. Calea Eșilor, gara Auto și gara Feroviară.

Rezultate și discuții

Datele studiului efectuat sunt prezentate în următorul tabel și în figurile ce urmează.

Tabelul 2

Nivelurile zgomotului pe străzile orașului Chișinău (dB)

Orele de studiu	6:00-9:00	11:00-12:00	13:00-14:00	15:00-16:00	17:00-19:00	20:00-22:00
Str. Uzinelor	74,21	71,68	71,10	70,23	74,08	68,47
Str. Muncești	70,36	70,88	70,23	68,29	72,11	68,79
Str. Ion Creangă	70,70	70,10	70,88	70,10	70,93	67,43
B-dul Ștefan cel Mare	68,79	68,80	68,23	67,43	69,43	66,23
Str. Calea Eșilor	75,73	75,37	75,73	75,04	73,04	71,89

Sursa: Elaborat de autori

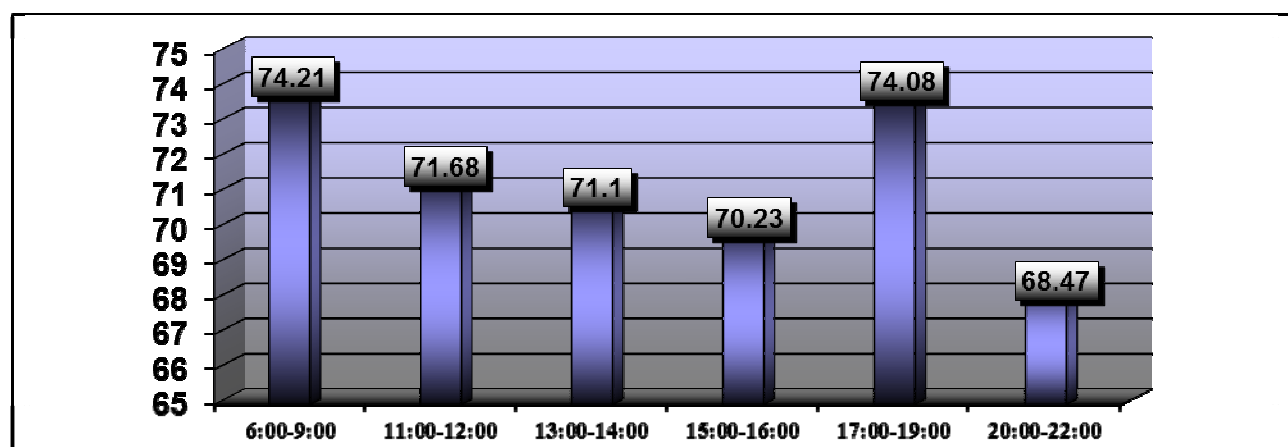


Fig.1. Nivelul zgomotului pe strada Uzinelor (dB).

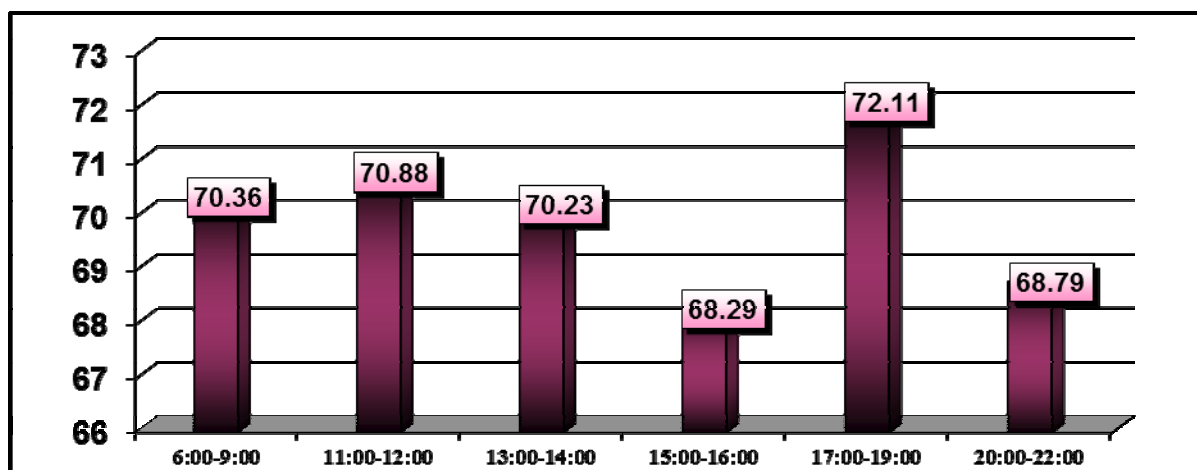


Fig.2. Nivelul zgomotului pe strada Muncești (dB).

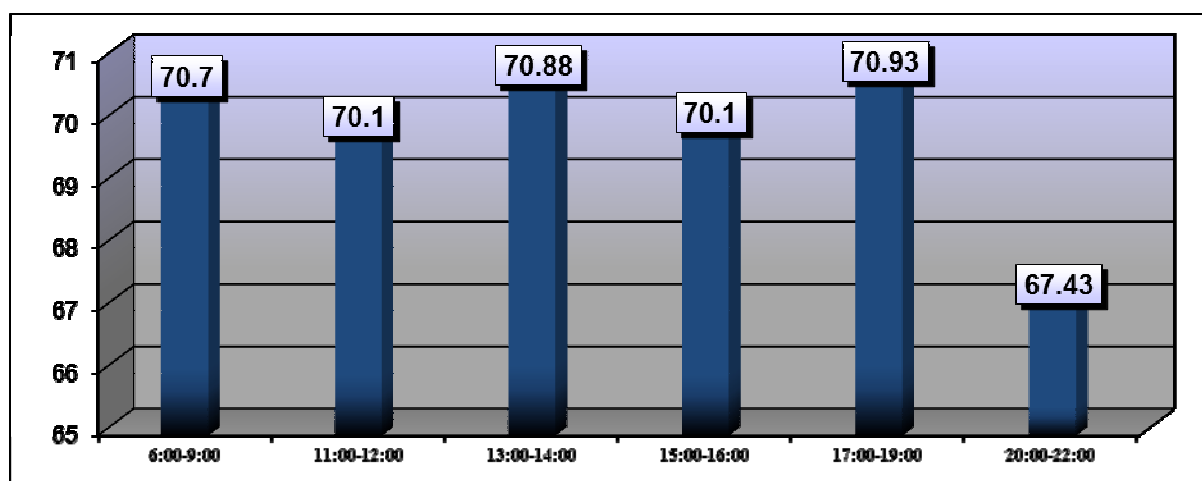


Fig.3. Nivelul zgomotului pe strada Ion Creangă (dB).

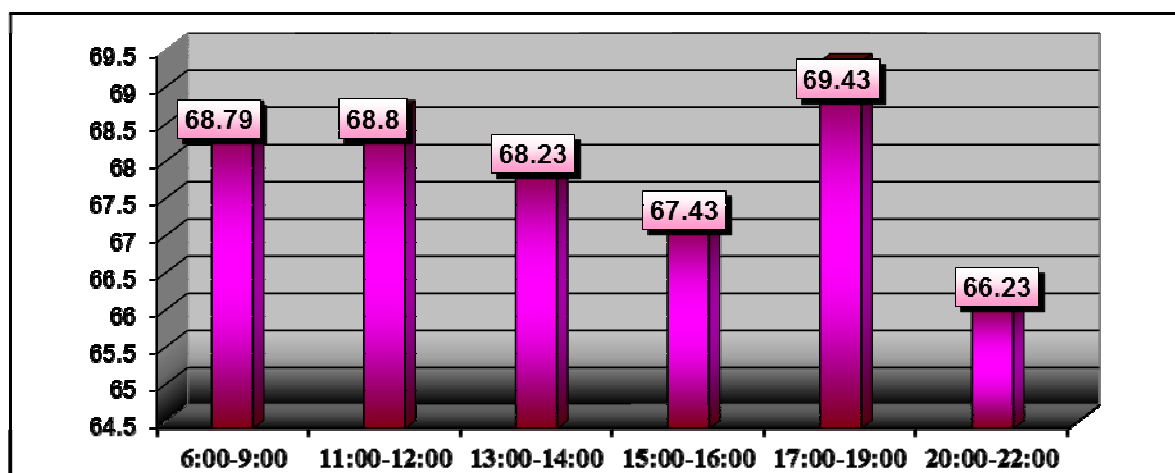


Fig.4. Nivelul zgomotului pe b-dul Ștefan cel Mare (dB).

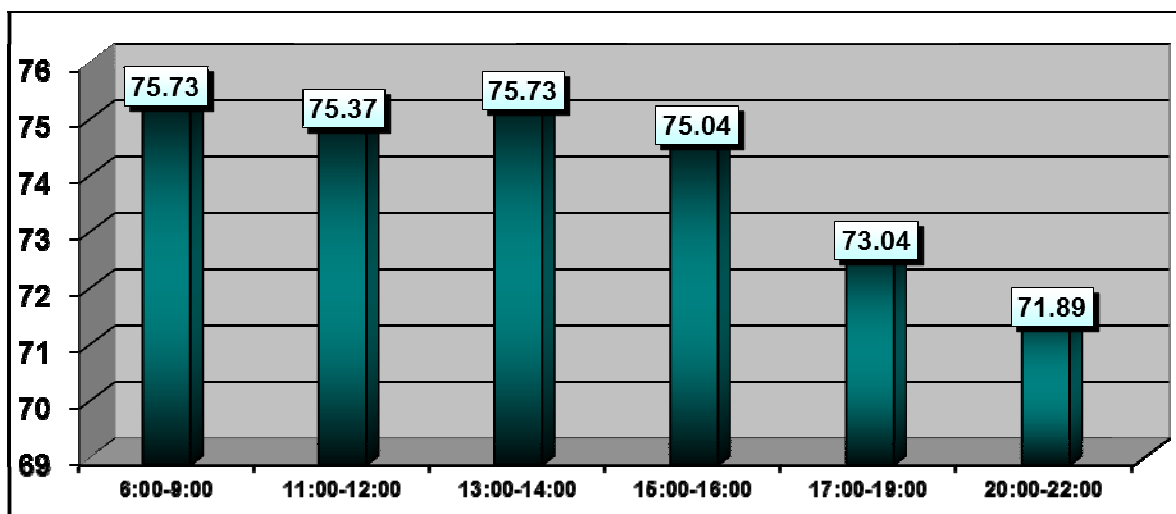


Fig.5. Nivelul zgomotului pe strada Calea Eșilor (dB).

Conform rezultatelor obținute pe parcursul cercetării, care sunt oglindite sub formă de tabel și figuri, în ceea ce privește poluarea sonoră, putem concluziona următoarele:

- În mun. Chișinău se evidențiază două perioade de criză: între orele 6⁰⁰ și 9⁰⁰ și între orele 14⁰⁰ și 18⁰⁰.
- Din străzile studiate cele mai zgomotoase și mai aglomerate sunt str. Calea Eșilor și str. Uzinelor.
- Cel mai înalt nivel de zgomot pe străzile Uzinelor, Muncești, Ion Creangă și pe b-dul Ștefan cel Mare a fost înregistrat între orele 17⁰⁰ și 19⁰⁰ (acest interval de timp este considerat „oră de vârf”).
- Cel mai jos nivel de zgomot pe străzile cercetate a fost înregistrat între orele 20⁰⁰ și 22⁰⁰, cu excepția străzii Muncești.
- În general, nivelul de zgomot se menține în limite suportabile.
- Unele situații de disconfort sunt cauzate de către societățile comerciale și traficul rutier.

Conform datelor din sursele bibliografice, dar și potrivit rezultatelor obținute, calculului propriu și analizei statistice, habitatul modern se caracterizează prin deteriorarea continuă a mediului sonor urban.

Concluzii

1. Poluarea fonică nu este necesar să fie auzită pentru a avea efecte negative asupra mediului, în primul rând asupra stării intelectuale a populației, sănătății ei. Aceasta este consecința traficului rutier, aerian, activității industriale, muzicii zgomotoase, comportamentului agresiv însoțit de strigăte.

2. Solicitarea continuă a sistemului nervos de către un stimul lipsit de informație utilă, cum se întâmplă în cazul unui climat sonor zgomotos, duce la manifestări nespecifice de tipul diminuării atenției, instalării unei stări de oboseală, generează cefalee, amețeli, tulburări de somn, irascibilitate, proporționale cu nivelurile și durata expunerii.

3. Caracteristicile descrise ale expunerii, percepția riscurilor, numărul populației expuse, frecvența ridicată a efectelor sunt criterii care susțin necesitatea intervenției conjugate atât din partea autorităților locale, cât și a specialiștilor din sănătatea publică și promovarea sănătății pentru reducerea nivelurilor de zgomot, dar și necesitatea conștientizării efectelor comportamentului individual inadecvat care se dovedește a fi și el sursa poluării sonore urbane.

4. Studiarea experienței statelor dezvoltate în domeniul ocrotirii mediului în scopul aplicării unor procedee avansate de ameliorare a situației ecologice în Republica Moldova. Pregătirea unui număr suficient de specialiști în domeniul ecologiei în instituțiile corespunzătoare care ar cunoaște Managementul securității ecologice.

5. Se impune aplicarea cerințelor legislative pentru protecția împotriva zgomotului, deoarece, în contrast cu multe alte probleme de mediu, poluarea sonoră continuă să crească datorită dezvoltării industriale și sociale.

6. Reducerea zgomotului la sursă s-a dovedit a fi o măsură foarte eficientă. Uniunea Europeană poate stabili standarde de nivel european, pentru a îmbunătăți performanțele acustice ale vehiculelor.

Recomandări:

Poluarea sonoră în municipiul Chișinău poate fi diminuată prin aplicarea mai multor măsuri tehnice și organizatorice, și anume:

- Utilizarea pe larg a transportului electric urban și electrificarea căilor ferate.
- Modernizarea utilajului și trecerea cazangeriilor la folosirea gazului natural.
- Implementarea tehnologiilor performante.
- Datarea întreprinderilor cu mijloace performante de purificare.

Traficul rutier reprezintă principala sursă de poluare fonică. Dacă legislația auto ar fi respectată, orașele ar fi cu mult mai liniștite. Claxonatul abuziv, instalarea sirenelor pe mașină sau a alarmelor care sună minute în șir sunt considerate contravenții. Legislația nu permite claxonatul îndelungat și fără motiv și interzice montarea sistemelor antifurt care se declanșează la trecerea în imediata apropiere a unui alt vehicul. Proprietarii care lasă alarmele antifurt să sune mai mult de un minut pot fi amendați. Montarea în mașină a unor mijloace speciale de avertizare sonoră trebuie sancționată, conform legii, cu reținerea certificatului de înmatriculare, amendă contravențională și reținerea plăcuțelor de înmatriculare și înregistrare.

Referințe:

1. AȘEVȘCHI, V., CRIVOI, A. *Igiena mediului*. Chișinău: Tipografia Centrală, 2013. 232 p. ISBN 978-9975-4449-2-7
2. CIPLEA, L., CIPLEA, A. *Poluarea mediului ambiant*. București: Editura Tehnică, 1978. 286 p.
3. BARNEA, M. *Efectele poluării mediului asupra omului*. București: Editura Academiei R.S.R., 1973, p.73-90.
4. FRIPTULEAC, G. ș.a. *Igiena Mediului*. Chișinău: Știința, 1998. 288 p.
5. URSONIU, C., DUMITRESCU, C. *Poluarea sonoră și consecințele ei*. Timișoara: Facla, 1976. 288 p.
6. DONEA, V. *Ecologie și protecția mediului*. Chișinău: Editura Enciclopedică, 2003. 322 p.
7. AȘEVȘCHI, V., DUDNICENCO, T., ROȘCOVAN, D. *Ecologia și protecția mediului*. Chișinău: Foxtrot, 2007. 400 p.
8. CRIVOI, A. *Ecologia umană*. Chișinău: CEP USM, 2007. 405 p.
9. AȘEVȘCHI, V., CRIVOI, A. *Sanologie și Ecologie Umană*. Chișinău: Tipografia Centrală, 2014. 730 p.
10. GRĂDINARU, G. *Protecția Mediului*. București: Editura Economică, 2000. 322 p.

Notă: Lucrarea a fost elaborată în cadrul Proiectului instituțional 15.817.05.02F finanțat de către CSȘDT al AȘM.

Prezentat la 12.04.2016

ОСОБЕННОСТИ АЗОТИСТОГО ОБМЕНА У ДОШКОЛЬНИКОВ С ДИССАНОГЕНИЯМИ СОСТАВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ

*Влада ФУРДУЙ, Анна ЛЕОРДА, Светлана ГАРАЕВА, Галина ПОСТОЛАТИ,
Галина РЕДКОЗУБОВА, Анатолий МАНТОПТИН*

Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы

PARTICULARITĂȚILE METABOLISMULUI AZOTAT LA PREȘCOLARII CU DISSANOGENII ALE COMPONENTELOR SĂNĂȚĂȚII PSIHICE

În articol sunt descrise particularitățile metabolismului azotat la preșcolarii cu diferite patologii ale unor componente ale sănătății psihice. Indicii obținuți privind particularitățile modificării nivelului aminoacizilor din sângele copiilor cu patologii ale SNC sugerează implicarea directă a dezechilibrului aminoacizilor cu conținut de sulf, mediatori esențiali și cetogeni, în dezvoltarea disfuncțiilor structurilor cerebrale și ale diverselor sisteme ale organismului.

Cuvinte-cheie: sănătate psihică, aminoacizi, sindrom Down, epilepsie, autism, paralizie infantilă cerebrală, copii.

THE NITROGEN METABOLISM FEATURES IN PRESCHOOL CHILDREN WITH DISSANOGENIES OF MENTAL HEALTH COMPONENTS

The article describes the nitrogen metabolism features in preschool children with various pathologies of mental health components. The resulting performance characteristics of amino acid changes level in the blood of children with CNS pathologies suggest direct involvement of sulfur contain amino acids imbalance, mediatory essential and ketogenic amino acids in the development of brain structures and the body various systems dysfunctions.

Keywords: mental health, amino acids, Down syndrome, epilepsy, autism, cerebral palsy, children.

Введение

В своей концепции психосанокреатологии академик Фурдуй Ф.И. отмечает, что, психика и психическое здоровье предопределяются генетической программой развития организма и формируются в процессе онтогенеза в результате взаимодействия плода и организма матери во внутриутробный период, ребенка и членов семьи – в постнатальный период; реализуются под влиянием психосоциальной среды в процессе ознакомления с окружающим миром и ассимиляции знаний о нем за счет координации функций интегральной нейрофизиологической системы, нейрохимической системы мозга, психофункциональных и оценочно-исполнительных систем в постнатальном онтогенезе [1]. Из этого следует необходимость изучения особенностей становления психики на начальных этапах ее формирования. Возрастной период до 6 лет, особенно с началом развития образной и логической памяти, является важнейшим в формировании психического здоровья, поскольку в эти годы ребенок воспринимает около 70% всей информации, которую он будет усваивать в течение жизни, о чем свидетельствует то, что в случае социальной депривации детей в этом возрасте становится невозможным формирование полноценного психического здоровья.

Концепция, разработанная в Институте физиологии и санокреатологии АН Молдовы, позволяет структурировать составные компоненты (блоки) психического здоровья (нейрофизиологический, когнитивный, эмоционально-чувственный, социально-поведенческий, коммуникативно-речевой, личностно-смысловой), формирующие единое сложное состояние и детерминирующие его [2, 3]. Стратегия исследования блоков состоит в изучении врожденной предрасположенности организма к реагированию на социальную среду, психического отражения внутренней среды организма через его потребности, побуждения, ощущения, «блочной экстерииоризации» психического здоровья, элементов, составляющих компоненты психо-функциональной структуры блоков, предусматривающих определение качественной характеристики таковых, с целью выявления саногенной или аттенуированной активности блока [1].

Когнитивный блок психического здоровья генетически детерминирован, но развивается под влиянием социальной среды и отражает формирование у детей внимания, памяти, мышления, сознания, которые неразрывно связаны с состоянием нейрофизиологической интегральной и нейрохимической

системами мозга, а также с генетической составляющей нейрофизиологического компонента. Примером дизонтогении когнитивного компонента психического здоровья могут служить дети с болезнью Дауна, обусловленной наследственными факторами на уровне генных изменений и хромосомных aberrаций [4] и характеризующейся патологическими и морфологическими изменениями головного мозга: уменьшением его объема, недоразвитостью лобных долей и недостаточной дифференциацией мозга, зачастую аномалиями сосудов мозга. Нарушаются процессы миелинизации нейронов головного и спинного мозга. Отмечается недостаточное развитие клеточных структур в диэнцефальной области [5]. ЭЭГ-исследование детей с болезнью Дауна выявляет задержку формирования биоэлектрической активности, отсутствие дифференцированности ритма [6]. Типичным проявлением болезни Дауна является снижение интеллекта, коэффициент умственного развития колеблется между 20 и 49 [7]. Подавляющее большинство обследованных детей имбецилы (86%), 10% – с идиотией, 4% – дебилы [8]. Характерным также является нарушение становления речевого компонента психического здоровья (понимание речи ограничено, словарный запас беден и т.д.) Внимание и память значительно снижены, механическая память преобладает над смысловой. Резко ограничено абстрактное мышление [9]. Состояние эмоциональной сферы характеризуется рядом особенностей, отличающих болезнь Дауна от других форм слабоумия: отмечается эмоциональная живость, относительная сохранность эмоций по сравнению с глубиной интеллектуального дефекта [8].

Нарушение интегрального взаимодействия функций различной модальности и координационной деятельности анализаторов приводит к ограничению восприятия на уровне ощущений [10,11] и выраженной сенсорной депривации [12]. Так, ДЦП (детский церебральный паралич) развивается в результате поражения по разным причинам головного и спинного мозга на ранних стадиях внутриутробного развития плода и в процессе родов. ДЦП составляет 24% в структуре органических заболеваний нервной системы у детей [13]. Для них характерно отставание формирования внимания, восприятия, памяти, мышления, входящих в когнитивный компонент психического здоровья, вызванное сенсорной депривацией [13,14].

Аутизм также является следствием системных нарушений функций мозга, которые могут быть вызваны различными отклонениями в функционировании ведущих регуляторных систем, таких как нейротрансмиттерная, иммунная, гормональная [15]. Для детей с установленным диагнозом аутизма характерны стереотипное поведение и патологические изменения социально-поведенческого компонента психического здоровья. Кроме того, аутизм – серьезное нарушение интеллектуального развития [15]. Аутистический дизонтогенез уже с самых начальных проявлений формируется по типу искажения развития всех психических функций, причем в каждой из этих функций с неизменной отчетливостью выступает недостаточность их коммуникативного компонента [16].

Моделью результатов пагубного влияния экзогенных факторов на морфологический субстрат, нейрофизиологическую и нейрохимическую системы мозга может служить эпилепсия, к возникновению которой приводят разнообразные вредные факторы, действующие как внутриутробно и во время родов, так и постнатально, особенно в ранние годы жизни (травмы, инфекции, интоксикации) [17,18]. Эпилепсия занимает третье место среди заболеваний нервной системы у детей и подростков, в 70% случаев дебютирует в детском возрасте, поскольку незрелый головной мозг отличается повышенной судорожной готовностью [19, 20].

Многочисленные данные свидетельствуют о том, что нейромедиаторные аминокислоты и их рецепторы принимают участие в формировании фундаментальных процессов нервной деятельности, в развитии процессов мышления, обучения, памяти и др. [21,22,23]. Неблагоприятные экзо- и эндофакторы вызывают изменения функций биомолекул, следствием чего является нарушение метаболизма. Уже обоснована теоретически, доказана экспериментально и продемонстрирована клинически целесообразность и перспективность использования показателей фонда свободных аминокислот и их производных для характеристики метаболического дисбаланса при различных патологиях развития. Так, у детей с болезнью Дауна обнаружены изменения содержания аминокислот в крови и моче: в частности, Т.Н. Волкова и В.В. Русских указывали на отклонения от нормы в содержании в крови тирозина и аргинина при болезни Дауна, а также отмечали снижение лейцина, фенилаланина, валина, аланина, глицина, серина [24]. Это позволяет предположить, что свободные аминокислоты, принимая участие в работе нейрохимической системы мозга, оказывают непосредственное влияние на саногенность формирования и развития других блоков, обеспечивающих психическое здоровье ребенка.

Материалы и методы

Нами было проведено исследование профиля свободных аминокислот (САК) сыворотки крови и утренней мочи у 62-х детей в возрасте от 2 до 6 лет, разделенных на 5 групп: дети без клинических проявлений отклонений в психическом развитии (20); с установленным диагнозом аутизма (10), ДЦП (12), эпилепсии (10), болезнью Дауна (10). Анализ САК осуществлялся методом жидкостной ионообменной хроматографии [25] на аминокислотном анализаторе ААА-339 М, Чехия.

Результаты и их обсуждение

Статистический анализ содержания САК в сыворотке крови при аутизме, ДЦП, синдроме Дауна и эпилепсии выявил однонаправленность изменений концентраций большинства аминокислот.

- Существенно снижено суммарное содержание САК, особенно при ДЦП (в 2,5 раза), эпилепсии (в 2,4 раза), аутизме (в 1,3 раза), что подтверждают и данные других авторов [4,15].

- Однонаправленно изменено содержание конечных продуктов азотистого обмена: мочевины – снижено (при эпилепсии в 3,8 раза, аутизме и ДЦП в 2,5 раза, синдроме Дауна в 1,5 раза), NH_3 – повышено (при синдроме Дауна в 4,3 раза, эпилепсии и ДЦП в 2,4 раза, аутизме в 1,3 раза). Результаты анализа полученных данных свидетельствует, что при этих патологиях имеет место нарушение орнитинового цикла синтеза мочевины и дезактивации аммиака. Это говорит о снижении функциональной активности гепатоцитов и замедлении метаболических процессов в печени, что подтверждается пониженным индексом Фишера во всех группах. Накопление аммиака влияет на клетки ЦНС, вызывая отек нейроглии и дисфункцию астроцитов [4,15, 24].

- Выявлен дисбаланс серосодержащих САК. Отдельно необходимо отметить, что на фоне малоизмененного суммарного содержания серосодержащих аминокислот при аутизме и ДЦП имеет место их дисбаланс в сыворотке крови. У аутистов практически не изменено содержание таурина, при этом отмечается снижение содержания метионина (в 1,4 раза) и увеличение уровня цистеина (в 2,6 раза). При ДЦП значительно повышено (в 2,5 раза) содержание цистеиновой кислоты и цистеина (в 2,8 раза), но снижена концентрация таурина (в 1,8 раза). Ранее было показано [24], что содержание и соотношение серосодержащих аминокислот играет важнейшую роль в поддержании функционального состояния всех основных органов и систем организма. Нарушение обмена серосодержащих аминокислот приводит к многообразным патологическим последствиям для организма (повреждениям стенок артерий, клеток головного мозга, структуры ДНК, нарушениям внутриутробного развития и т.д.). Это свидетельствует о неспецифическом влиянии серосодержащих САК на функциональное состояние организма. Их количественные изменения во многом определяют уровень здоровья, в частности психического, и могут быть использованы в качестве его маркеров.

- Снижено соотношение незаменимые/заменимые САК. Такие изменения наиболее выражены при синдроме Дауна (в 1,6 раза), эпилепсии и ДЦП (в 1,3 раза). Этот факт свидетельствует в пользу предположения, что процессы поступления и транспорта аминокислот в организме нарушены в большей степени, нежели их синтез, и что снижена способность гепатоцитов синтезировать незаменимые САК. Горина А.С. [4], наблюдая снижение этого индекса и при ряде других патологий, предположила, что этот показатель является неспецифическим для патологий ЦНС.

- Увеличено соотношение *тормозные/возбуждающие* САК, что может свидетельствовать, во-первых, о недостаточном энергетическом обеспечении мозга при этих патологиях, а во-вторых, подтверждает возможное наличие энцефалопатии. Это говорит о преобладании тормозных процессов в головном мозге, вызывающих отставание психического развития [26,27]. Данные изменения наиболее выражены при ДЦП и эпилепсии (в 2 раза). Снижение в крови глутамата и аспартата с параллельным увеличением ГАМК и глицина приводит к значительному снижению соотношения возбуждающие/тормозящие аминокислоты: от 0,24 до 0,10, то есть в 2,4 раза. Это может привести к сдвигу в головном мозге в сторону тормозных аминокислот. Очевидно, что такое нарушение баланса функционально противоположных медиаторов может иметь патогенетическое значение – снижать активность центральной нервной системы.

- Увеличен индекс *T тирозин/фенилаланин*, который является прогностическим показателем функциональной активности щитовидной железы, что свидетельствует о системном характере развития исследованных патологий. Эти изменения наиболее выражены при эпилепсии (в 1,75 раза) и ДЦП (в 1,2 раза).

- Отмечается накопление промежуточных продуктов превращений САК, в частности, при всех исследованных патологиях – α -АМК (продукт обмена метионина), наиболее выраженное при эпилепсии в 2,6 раза, синдроме Дауна в 2,4 раза и аутизме в 2 раза, а также α -аминоадипиновой кислоты (высший аналог глутамата), особенно выраженное при аутизме – в 2,3 раза. Концентрация γ -АМК (продукт декарбоксилирования глутамата, тормозной нейромедиатор в мозге) статистически достоверно и значимо повышена при синдроме Дауна в 1,9 раза, аутизме в 3,6 раза, эпилепсии в 2,1 раза, в то время как при ДЦП не изменена. Это может свидетельствовать о нарушениях обмена медиаторных САК в мозге при исследованных патологиях.

Следует также подчеркнуть наличие, помимо общих закономерностей, специфических особенностей профилей САК сыворотки крови у больных детей каждой группы.

- Спектр САК сыворотки крови при аутизме (по сравнению с другими исследованными патологиями) характеризуется значительно повышенными концентрациями α -аминоадипиновой кислоты в 2,3 раза, γ -АМК в 3,6, триптофана в 1,3, орнитина в 1,4 раза.

- Для ДЦП характерны сниженная концентрация серина в 1,3 раза, а также гомоцистеина в 1,5 раза. Повышенная концентрация гомоцистеина является предиктором развития сопутствующих сосудистых патологий. Обращает на себя внимание факт значительного снижения содержания САК с разветвленной цепью в крови детей с ДЦП по сравнению с аутистами (изолейцина в 1,7 раза, лейцина в 1,6 раза, валина в 1,2 раз), что свидетельствует о недостаточном их поступлении в кровь вследствие нарушения всасывания в ЖКТ. Эти незаменимые аминокислоты активно участвуют в синтезе белка, особенно в мышечной ткани, стимулируют поступление других аминокислот в мышцы, синтез гормона роста, активизируют обмен инсулина и метаболитов цикла Кребса, а также играют важную роль в энергетике и метаболизме нервных клеток [11]. Наконец, они активируют глутаматдегидрогеназу, обеспечивающую нормальное проведение нервных импульсов. Таким образом, выраженный недостаток САК с разветвленной цепью может являться симптомом клинических проявлений выраженной мышечной гипотрофии при ДЦП по сравнению с другими патологиями.

- При эпилепсии (в отличие от других исследованных патологий) в сыворотке крови в период ремиссии отмечается повышенная концентрация валина (в 1,2 раза) и тирозина (в 1,2 раза).

- При синдроме Дауна на фоне минимального снижения суммарного содержания САК (по сравнению с другими исследованными патологиями) имеет место повышенное содержание в сыворотке крови глутаминовой кислоты в 1,3 раза и аланина в 1,2 раза. В то же время не изменено содержание таурина (как и при аутизме).

Указанные показатели могут служить специфическими биохимическими маркерами данных патологий. Полиморфизм и специфичность нарушений при исследованных патологиях позволили предположить и выявить наличие характерных биохимических изменений, которые, исходя из общих теоретических представлений, могут являться ключевыми звеньями в патогенезе данных патологий. Результаты исследования содержания концентрации аминокислот в крови и моче детей с синдромом Дауна, аутизмом, ДЦП, эпилепсией вполне сочетаются с данными других авторов [28-31].

Выводы

Полученные показатели особенностей изменения уровня аминокислот в крови детей с патологиями ЦНС позволяют предположить их непосредственное участие в развитии дисфункций структур головного мозга и различных систем организма вследствие дисбаланса серосодержащих, медиаторных, незаменимых и кетогенных САК. Это неизбежно нарушает саногенез нейрофизиологического компонента психического здоровья и влечет недостаточное развитие как когнитивного, так и речевого и социально-поведенческого компонентов психического здоровья. Следовательно, развитие всех компонентов психического здоровья лимитируется качеством его нейрофизиологического компонента, а состояние когнитивного компонента неразрывно связано с развитием эмоционально-чувственного. От уровня когнитивного компонента, в свою очередь, зависит развитие личностно-смыслового и социально-поведенческого компонентов психического здоровья.

Литература:

1. ФУРДУЙ, Ф.И., ЧОКИНЭ, В.К. Психосанокреатологическая концепция. Генетически и онтогенетически обусловленные системы, участвующие в формировании и поддержании психического здоровья. В: *Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни*, 2012, №3(318), с.4-23.

2. ФУРДУЙ, Ф.И., ЧОКИНЭ, В.К. Санокреатология – альтернатива существующим концепциям формирования и поддержания психического здоровья. В: *Известия АН Молдовы. Науки о жизни*, 2013, №2(30), с.4-35.
3. ФУРДУЙ, Ф.И., ЧОКИНЭ, В.К., ФУРДУЙ, В.Ф. и др. Психическое здоровье с позиций санокреатологии и системогенеза. В: *Известия Академии наук Молдовы. Науки о жизни*, 2012, №2(317), с.4-11.
4. ГОРИНА, А.С. *Аминокислоты и их метаболиты при неврологических заболеваниях у детей* / Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Иркутск, 1997. 16 с.
5. ДРОЗДОВ, В.А., ДРОЗДОВА, М.В. *Справочник психотерапевта*. Москва, 2005. 236 с.
6. АЛЕХИНА, А.В. *Особенности психического развития детей с синдромом Дауна* / Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Москва, 2000. 18 с.
7. БАДАЛЯН, Л.О., ТАБОЛИН, В.А., ВЕЛЬТИЦЕВ, Ю.Е. *Наследственные болезни у детей*. Москва: Книга по требованию, 2012. 374 с.
8. ЕВТУШЕНКО, С.К., ШАЙМУРЗИН, М.Р., ЕВТУШЕНКО, О.С. Нейромышечные заболевания у детей: проблемы ранней диагностики и современной медицинской и социальной реабилитации. В: *Международный неврологический журнал*, 2013, №5 (59), с.32-49.
9. КРУЖКО, Д.А. *Исследование состояния нервной системы при синдроме Дауна*. / Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Москва, 2006. 17 с.
10. МАМАЙЧУК, И.И. Нейропсихологические исследования гностических процессов у детей с различными формами детского церебрального паралича. В: *Журнал невропатологии и психиатрии*, 1992, №4, с.49-56.
11. СОЛОДКОВ, А.С. *Физиология человека: Учебное пособие*. Москва: Терра-спорт, 2001. 520 с.
12. ЛЕВЧЕНКО, И.Ю. *Психологические особенности подростков с детским церебральным параличом*. Москва: Альфа, 2001. 160 с.
13. СКВОРЦОВ, И.А. *Вопросы этиопатогенеза детского церебрального паралича*. Москва, 1993. 189 с.
14. МАСТЮКОВА, Е.М. Дети с церебральным параличом. В: *Специальная психология*, 2003, №2, с.89-92.
15. РЕПИНА, Н.В. *Основы клинической психологии: Учебное пособие*. Ростов-на-Дону: Феникс, 2003. 480 с.
16. СТАРОВОЙТОВА, Т.Е. *Закономерности изменения пула свободных аминокислот в биологических жидкостях у детей с аутизмом* / Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2011. 18 с.
17. ФЕТ, А. И. *Инстинкт и социальное поведение*. Москва: Сова, 2005. 650 с.
18. МАШИЛОВ, К.В., ЖИГАРЕВА, Е.Б., КОГАН, Б.М. Психологические особенности подростков, страдающих эпилепсией. В: *Системная психология и социология*, 2011, №4, с.9-13.
19. ПЕТРУХИН, А.С. *Эпилептология детского возраста*. Москва: Медицина, 2000. 624 с.
20. ЛИТОВЧЕНКО, Т.А. Эпилепсия: терминология, эпидемиология, классификация, этиология, патогенез. В: *Neuro News*, 2010, № 2, с.27-33.
21. ПРУСАКОВ, В.Ф. Клинико-эпидемиологическая характеристика детской эпилепсии в г. Казани. В: *Казанский медицинский журнал*, 2006, том 87, №2, с.111-114.
22. РАЕВСКИЙ, К.С., ГЕОРГИЕВ, В.П. *Медиаторные аминокислоты*. Москва, 1986. 184 с.
23. РАЕВСКИЙ, К.С. Возбуждающие аминокислоты, патология ЦНС и пути ее фармакологической коррекции. В: *Итоги науки и техники. Серия: Физиология человека и ж.-х., том.36: Возбуждающие аминокислоты как нейромедиаторы*. Москва, 1989, с.148-176.
24. ВОРОНКОВА, К.В. *Фокальные формы эпилепсии у детей: интеллектуальное развитие и варианты нарушений высших психических функций* / Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Москва, 2002. 27 с.
25. КОЗАРЕНКО, Т.Д., ЗУЕВ, С.Н., МУЛЯР, Н.Ф. *Ионообменная хроматография аминокислот*. Новосибирск, 1981. 67 с.
26. ФИЛИППОВИЧ, Ю.Б. *Основы биохимии: Учебник для хим. и биол. спец. пед. ун-тов и ин-тов*. Москва: Агар, 1999. 512 с.
27. ЧОКИНЭ, В.К., ГАРАЕВА, С.Н., ГАРАЕВА, О.И., НЕВОЙЯ, А.И. Серосодержащие аминокислоты в диагностике, целенаправленном поддержании и формировании здоровья. В: *Известия АН Молдовы. Науки о жизни*, 2011, № 3(315), с.15-35.
28. БУЛАК, М. Эпилепсия, ионные каналы и гены. В: *Неврология и психиатрия*, 2005, том 105(12), с.59-61.
29. ЗЕНКОВ, Л.Р. *Клиническая эпилептология (с элементами нейрофизиологии)*. Москва: ООО Медицинское Информационное Агентство, 2002. 415 с.
30. КАЛИНИН В.В. Психиатрические проблемы эпилептологии и нейропсихиатрия. В: *Социальная и клиническая психиатрия*. Москва, 2003, №3, с.5-11.
31. КОРОЛЕВА, Н.Ю., ВОРОНКОВА, К.В., ТАРАБРИН, П.А. Нарушения когнитивных функций у больных с эпилепсией, влияние антиэпилептической терапии и коррекция нарушений. В: *Consilium Medicum*, 2010, №4, с.12-18.

Nota: *Articolul a fost elaborat în cadrul proiectului 15.817.04.01F: Sănătatea psihică, exteriorizarea ei, teste și tehnologie de estimare, dezvoltarea sistemului de clasificare a acestora.*

Prezentat la 07.04.2016

OLIGOELEMENTE ESENȚIALE – ACTUALITĂȚI ȘI PERSPECTIVE ÎN REPRODUCERE

Ina DIDILICĂ

Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM

În această lucrare este analizată influența zincului și a seleniului asupra reproducerii masculine, fiind determinați și factorii care induc infertilitatea genului masculin. Pentru depășirea problemelor de fertilitate mai multe studii au arătat că anume influențarea proceselor de spermatogeneză prin intermediul factorilor esențiali, participanți în spermoproducție, ar putea reglementa creșterea proprietăților biologice ale spermatozoizilor. Formarea spermatozoizilor implică o serie de modificări moleculare și morfologice în celulele germinale masculine, care sunt reprezentate prin celule stem diploide, spermatogoniile al căror stoc este întreținut prin mitoze, îndeosebi în fazele inițiale ale spermatogenezei. Prin urmare, suplimentarea alimentației cu oligoelementele sus-menționate ameliorează funcția și sistemul reproductiv, precum și a altor sisteme vitale ale organismului.

Cuvinte-cheie: oligoelemente, reproducere, zinc, seleniu.

ESSENTIAL TRACE ELEMENTS – NEWS AND PERSPECTIVES IN REPRODUCTION

In this paper there is analyzed the influence of zinc and selenium on male reproduction, as well as the factors that bring to their infertility. In order to overcome the infertility problems, more studies showed that namely the influence of the process of spermatogenesis via the essential factors, participants in spermoproduction could regulate the biological properties' growth of sperm. The sperm formation involves a series of molecular and morphological changes in the male germ cells which are represented by the diploid stem cells, the spermatogonia, whose stock is maintained through mitosis, especially in the initial phases of spermatogenesis. Thus, the nutrition supplementation with the above-mentioned mineral elements improve the function and the reproductive system, as well as other vital systems of the organism.

Keywords: mineral elements, reproduction, zinc, selenium.

Reproducerea este funcția prin intermediul căreia organismele dau naștere unor ființe asemănătoare lor și prezintă o formă din manifestarea ciclică a vieții. Procesele de reproducere masculină pot fi împărțite în trei subdiviziuni majore: (1) spermatogeneza, care înseamnă formarea propriu-zisă a spermatozoizilor; (2) desfășurarea actului sexual masculin; (3) reglarea de către diferiți hormoni a funcțiilor de reproducere masculină [1,2].

Spermatogeneza, la rândul său, reprezintă procesul de formare a celulelor sexuale masculine, a spermatozoizilor [3], care se desfășoară în organele sistemului reproducător masculin. Disfuncția spermatogenezei este cea mai frecventă cauză de infertilitate a genului masculin [4], care este definită ca o boală a sistemului reproductiv [5] ce afectează 10-15% din cuplurile aflate la vârsta reproductivă [6]. Factorii masculini contribuie la aproximativ jumătate din aceste cazuri, fără cauze identificabile în aproximativ 25%. Infertilitatea masculină este considerată o modificare a concentrației spermei și/sau motilității și/sau morfologiei în cel puțin un eșantion de două analize a spermei, colectate la un interval de timp de 1 și 4 săptămâni [7].

Deficitul de oligoelemente afectează aproape toate procesele fiziologice, cum ar fi creșterea, reproducerea, imunitatea și alte procese vitale ale organismului. De asemenea, modificări ultrastructurale cauzate de deficiențele minerale au fost stabilite și în secțiunile histologice ale organelor [8].

Astfel, conform numeroaselor studii [9-11], o serie de elemente minerale sunt esențiale pentru o dezvoltare normală a organismului, precum și pentru menținerea stării lui de sănătate. Acestea mai au și un rol foarte important pentru funcția de reproducere. Prin cercetări experimentale [12-14] s-a demonstrat că elementele minerale, cum sunt: calciul, fosforul, sodiul, magneziul, potasiul, sulful, clorul, trebuie neapărat incluse în rația alimentară, în cantități care să asigure necesitățile organismului. O altă serie de elemente (oligoelemente), ca: manganul, zincul, seleniul, iodul, cuprul, fierul, cobaltul, molibdenul, de asemenea sunt necesare organismului, doar că în cantități foarte mici.

Dintre oligoelementele esențiale, zincul și seleniul au un rol prioritar, determinând funcționarea normală a sistemului reproductiv și rațiile alimentare trebuie suplinite în mod obligatoriu cu aceste microelemente. De obicei, rațiile alimentare tradiționale cotidiene conțin sau sunt suplimentate cu aceste substanțe sub formă de compuși anorganici, iar problema constă în asimilarea inefficientă a zincului și seleniului, deoarece formele

lor anorganice în mediul acid al tractului gastrointestinal formează compuși insolubili, care nu se asimilează. În acest sens, un interes deosebit prezintă formele organice sintetizate ce conțin zinc și seleniu și care s-au dovedit a fi esențiale pentru dezvoltarea normală a testiculelor și la derularea spermatogenezei [15].

Prin urmare, **seleniul** este un nutrient esențial de importanță fundamentală în biologia organismului. Acest lucru a devenit evident în ultimii ani, pe măsură ce noi studii descoperă roluri neașteptate și de importanță majoră ale acestui element [16-18], unul dintre care fiind menținerea fertilității masculine [13,14,19].

Cele mai răspândite forme organice ale seleniului sunt selenocisteina, selenometionina și metilselenocisteina, iar cele anorganice sunt selenitul și selenatul. Atât compușii organici ai seleniului, cât și cei anorganici sunt metabolizați de diferiți metaboliți ai seleniului. Dintre formele organice, selenometionina este forma predominantă în alimentație. Pentru a produce selenoproteine, seleniul pătrunde în metabolism în momente diferite, în funcție de forma chimică. Ajuns în sânge, seleniul este legat în proteine și se acumulează în eritrocite printr-un mecanism de transport activ, așa cum demonstrează studiile realizate *in vitro*. Seleniul este încorporat în selenoproteine ca selenocisteine. Majoritatea selenoproteinelor prezintă funcții redox enzimatiche diferite, care le conferă activitate antioxidantă și catalitică [16].

Selenocisteina este aminoacidul pivot în sinteza de cistolic glutation peroxidază seleno-activă, dar numai 30% din seleniul organismului este încorporat în acest tip de proteină, restul 70% de seleniu activ se regăsește în celelalte tipuri de selenoproteine existente.

În organism, seleniului îi revine rolul de a participa la realizarea respirației celulare, la protejarea hemoglobinei celulelor roșii, precum și la absorbția și sporirea eficienței vitaminei E, cu care, de altfel, acționează sinergic. În plus, seleniul este și antiaterogen și antisenescent și posedă proprietăți deosebit de benefice, îndeosebi pentru persoanele în vârstă. De asemenea, acest oligoelement contribuie la menținerea elasticității țesuturilor, atenuează simptomele specifice menopauzei, potențează tratamentele aplicate în bolile cardiovasculare. Concentrații crescute de seleniu se găsesc în corticosuprarenale, fetus și în sistemul enzimatic, iar concentrații scăzute – în sistemul nervos, piele, schelet, mușchii scheletici [20].

Integrarea seleniului organic în lanțul alimentar favorizează un transfer mai mare al seleniului într-o formă ce poate fi asimilată la maximum de către organism [21,22]. Acest element indispensabil poate determina modificări fiziologice în țesuturi, inclusiv în testicule [23] și asupra calității materialului seminal [24].

Abou-Shakra și colab. [25] au stabilit că rolul microelementelor în infertilitatea masculină este mai strâns legat de raportul dintre conținutul acestora în materialul seminal și serul sanguin, comparativ cu nivelul acestor compuși în plasma sanguină.

În același timp, este cunoscută legătura dintre seleniu și cancerul de prostată. Într-un studiu clasic s-a evidențiat că bărbații care au aportul recomandat de seleniu dezvoltă cu 65% mai puține cazuri de cancer de prostată (în forme avansate) decât cei la care aportul de seleniu alimentar a fost mai redus [26].

Seleniul este necesar și pentru biosinteza testosteronului, precum și pentru formarea și dezvoltarea normală a spermatozoizilor [27]. De asemenea, seleniul este implicat în controlul și sinteza prostaglandinelor, prostaciclinelor, leucotrienelor și tromboxanilor. Funcțiile organelor reproductive și hormonale în mare măsură depind de un status suficient al seleniului din organism [18].

În plus, seleniul poate proteja materialul seminal împotriva deteriorării ADN-ului și este necesar pentru funcția și dezvoltarea normală a testiculelor, spermatogenezei și motilității spermatozoizilor [28].

De menționat că testiculele au capacitatea de a acumula seleniu și de a menține acest element chiar și în cazul deficitului acestuia [29,30].

Există dovezi că carența de seleniu la cocoși scade semnificativ numărul de celule Sertoli și Leydig, care sunt necesare pentru spermatogeneză și producția de testosteron [31].

Așa cum am amintit anterior, seleniul are un rol determinant în buna funcționare a aparatului reproducător masculin, deoarece, pe de o parte, intră în structura proteinelor ce constituie peretele mitocondrial din piesa intermediară a spermatozoidului, iar, pe de altă parte, intră în structura unor proteine deosebit de importante din compoziția plasmii seminale și din structura spermatozoidului, cum ar fi: glutation peroxidaza (GSH-Px), care are un rol esențial în stabilitatea structurală și funcțională a spermatozoidului, sau fosfolipid-hidroperoxid glutation peroxidaza (PH-GSH-Px).

În cazul deficitului de seleniu s-a constatat creșterea numărului de spermatozoizi cu anomalii (tulburări de motilitate, ruperea spermatozoidului la piesa intermediară, poziție anormală a acrozomului, leziuni membranare), anomalii care duc la incapacitatea spermatozoizilor de a fertiliza ovulul. De asemenea, s-a constatat diminuarea volumului de ejaculat și scăderea concentrației de spermatozoizi din plasmă [32].

A fost dovedit că deficiența de seleniu duce la afectarea fertilității masculine la șobolani, șoareci și vieri. Principalul dezavantaj al deficitului de seleniu la spermatozoizi este deformarea structurii la secțiunea intermediară, unde în mod normal mitocondriile sunt încorporate într-o matrice keratinoasă numită *capsula mitocondrială*. Această structură, care conține cea mai mare parte de seleniu din spermă, este compusă din proteinele oxidative cross-linkate, un component important fiind glutathion peroxidaza (GSH-Px), care se sintetizează abundent în spermatozoidele rotunde sub controlul indirect al testosteronului. În faza târzie a spermatogenezei, peroxidaza solubilă activă este transformată printr-un proces oxidativ care nu este elucidat în detaliu într-o proteină structurală, enzimatic inactivă.

Un alt reprezentant al microelementelor esențiale cu impact reproductiv este **zincul**, care, similar seleniului, este un oligoelement foarte important, implicat într-o gamă largă de procese metabolice și performanțe productive, cum ar fi creșterea [11], reproducerea și menținerea sistemului imun umoral.

Totodată, zincul mai este unul dintre cele mai esențiale elemente minerale pentru fiziologia pielii și metabolism în ansamblu, funcția cea mai importantă a acestuia fiind aceea de apărare a organismului și de consolidare a sistemului imun. Este recomandat persoanelor care sunt supuse la stres continuu, care suferă de insomnie, care au suferit răni grave, arsuri, care folosesc diuretice, anticoncepționale, care suferă de infestări parazitare interne. La fel, acesta este indicat femeilor după naștere și persoanelor în vârstă, întrucât contribuie la întărirea sistemului imunitar și, implicit, a funcțiilor vitale ale organismului.

S-a constatat că zincul se utilizează și pentru prevenirea patologiilor de prostată, precum și în tratamentul psoriazisului, dermatitei seboreice, în calitate de antiinflamator, înmoaie țesuturile și favorizează vindecarea rănilor, a arsurilor, a iritațiilor pielii sau a cicatricelor rezultate din intervențiile chirurgicale.

Zincul îndeplinește în organism rolul unui agent biologic de circulație, dirijând și supraveghind buna desfășurare a proceselor fiziologice și întreținerea sistemelor enzimatice și celulare. Este un oligoelement important necesar pentru sinteza proteinelor, participând și la sinteza insulinei, fiind important pentru stabilitatea chimică a sângelui și în menținerea echilibrului acidobazic al organismului. Acest element exercită efect de normalizare a activității prostatei, deținând un rol important în dezvoltarea tuturor organelor de reproducere [33,34].

Zincul este microelementul mineral care persistă cel mai abundent în organism (1,4-2,3 g la 70 kg masă corporală pentru adulți). Acesta joacă un rol vital în dezvoltarea normală a testiculelor, în derularea spermatogenezei și motilitatea spermatozoizilor [35] și a fost raportat a fi un cofactor esențial pentru mai mult de 200 de metaloenzime ale organismului diferitelor specii de animale [36]. Zincul este necesar pentru creșterea, maturizarea sexuală și reproducere [37], precum și pentru înlocuirea reciprocă a acizilor nucleici [38,39].

Din literatura de specialitate se cunoaște că nivelurile conținutului de zinc din testiculele mature și prostată sunt semnificativ mai înalte comparativ cu alte organe și țesuturi [40]. A fost demonstrat și un conținut de zinc semnificativ mai mare în materialul seminal, comparativ cu cel din serul sanguin [41,42].

Zincul este important pentru diviziunea celulelor și producerea de spermatozoizi sănătoși și reprezintă elementul cel mai critic pentru funcția sexuală masculină. Acesta este necesar pentru metabolismul testosteronului, creșterea testiculelor, numărului și mobilității spermatozoizilor, precum și pentru sporirea volumului materialului seminal [9,43,44].

Corelația negativă dintre nivelul de zinc din plasmă și nivelul de zinc din spermatozoizi este un bun indicator al importanței zincului pentru spermatogeneză. Acest fenomen poate fi explicat prin rolul important al elementului menționat în metabolismul proteinelor [45] și sinteza acizilor nucleici [46], în procesul extrem de important pentru spermatogeneză [47].

Există dovezi că suplimentarea cu zinc sporește nivelul de testosteron seric la oameni și animale [48,38,49], prin care se confirmă că nivelul scăzut de zinc este asociat cu hipogonadismul [50]. Ultimul poate fi explicat prin rolul zincului în activarea adenilat ciclazei, care este implicată în stimularea steroidogenezei [51]. Stimularea directă a celulelor Leydig poate îmbunătăți producția de testosteron [38]. O puternică corelație pozitivă între concentrația nivelului de zinc și nivelul de testosteron de asemenea confirmă acest lucru [47].

Cercetările au relevat faptul că zincul se acumulează în celulele germinale, în special în mitocondriile spermatozoniilor și spermatozoizilor [52,53,54].

Mai mult ca atât, zincul joacă un rol important pentru enzima 5 α -reductaza, care este necesară pentru conversia testosteronului în formă biologic activă [34].

O creștere semnificativă a nivelului de testosteron și dihidrotestosteron în plasmă a fost observată după 40-50 zile de administrare a zincului la pacienții cu factor idiopatic masculin, la care a persistat infertilitatea de peste cinci ani [49].

Alte studii au arătat că este posibil de a mări volumul de ejaculare prin două modalități: (1) utilizarea suplimentelor pe bază de plante, care conțin aminoacizii corespunzători și (2) administrarea nemijlocită a zincului [55]. Astfel, aminoacizii sporesc calitatea lichidului seminal, iar zincul dezvoltă capacitatea spermatozoizilor de a se deplasa în mod natural și independent.

Deficiența de zinc determină reducerea dimensiunilor organelor sexuale, întârzierea în dezvoltare sau maturizare a testiculelor cu atrofie marcantă a epiteliului tubular și reducerea concentrației de zinc în testicule, epididim și prostată [15].

Hipofuncția testiculară cauzată de deficiența de zinc a fost caracterizată prin funcția scăzută a celulelor Leydig și oligospermie. Descreșterea nivelului androgenilor serici, creșterea nivelului gonadotropinei serice și întreruperea reversibilă a spermatogenezei au fost observate prin biopsia testiculară la unii pacienți cu deficit de zinc [50].

Deficiența de zinc determină reducerea productivității gonadotropinei hipofizare și scăderea ulterioară a nivelului de androgeni la șobolanii masculi.

Din lipsa constituirii unei rezerve constante de zinc pentru asigurarea optimală a acestui element, organismul se află în dependență directă de asimilarea necesarului de zinc din alimente [22]. Zincul se acumulează în testicule în concentrații ridicate, care sunt comparabile, în special, cu cele din ficat și rinichi, cu instabilitate și evacuare recentă prin căile eliminatorii ale organismului [56].

Din analiza literaturii de specialitate reiese că inhibarea spermatogenezei și anomalii evidente ale spermei au fost observate în patologii care induc deficitul de zinc [57,22]. Deficitul de zinc poate provoca leziuni severe ale testiculelor, așa cum ar fi atrofia la nivelul tubilor seminiferi și inhibarea spermatidelor [58,59]. Suplimentarea cu zinc a fost utilizată pentru a crește nivelul de testosteron plasmatic și numărul de spermatozoizi la bărbații infertili [60].

În unele cercetări s-a observat că hiponivelul de zinc în serul sanguin provoacă hipogonadism și întreruperea reversibilă a spermatogenezei, care afectează numărul de spermatozoizi și motilitatea acestora și, în cele din urmă, duce la infertilitatea masculului [34].

Concluzii

Pentru depășirea problemelor de fertilitate scăzută din cauza performanței slabe a efectivului masculin, mai multe studii au arătat că anume influențarea proceselor de spermatogeneză prin intermediul factorilor esențiali, participanți în spermoproducție, ar putea reglementa creșterea proprietăților biologice ale spermatozoizilor.

Referințe:

- GUYTON, A.C. and HALL, J.E. *Tratat de fiziologie a omului*. Ediția a 11-a, 2007, p.996-1026. ISBN [13] 978-973-87261-4-7
- ФУРДУЙ, Ф.И., БОРОНЧУК, Г.В., БАЛАН, И.В. et. al. *Межмолекулярные взаимодействия в криобиологических системах*. Chișinău: Tipogr. AȘM, 2012, 896 p. ISBN 978-9975-62-320-9
- CHEPTANARI, S. *Anatomia și fiziologia omului*. Manual. Chișinău, 2013, p.191-197. ISBN 978-9975-53-219-8
- BJÖRNDAHL, L., MORTIMER, D., BARRATT, C. et al. *A Practical Guide to Basic Laboratory Andrology*. New York: Cambridge University Press, 2010. ISBN 978-0-521-73590-2
- ZEGERS-HOCHSCHILD, F., ADAMSON, G.D., de MOUZON, J. et al. On behalf of ICMART and WHO. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO). In: *Revised Glossary on ART Terminology Hum Reprod.*, 2009, 24, p.2683-2687.
- CORICOVAC, A., NANU, D., DRACEA, L. Factori de predicție ai succesului în procedurile de reproducere umană asistată. În: *Revista medicală română*, 2015, vol. XII, nr.3.
- SHARLIP, I.D., JAROW, J.P., BELKER, A.M. et al. Best practice policies for male infertility. In: *Fertility and Sterility*, 2002, 77, p.873-882.
- HAENLEIN, G. and ANKE, M. Mineral and trace element research in goats. In: *Small Rumin Res.*, 2011, 95, p.2-19.
- BROWN, L. and PENTLAND, S. Health infertility organization: Male infertility – improving sperm quality. In: *Acubalance wellness*. Centre Ltd. Onwest 8th Ave. Vancouver Bc. Canada, 2007.

10. SAVAGE, J.E. Trace minerals and avian reproduction. In: *Fed. Proc.*, 1968, 27, p.927-931.
11. UNDERWOOD, E.J. and SUTTLE, N.F. *The mineral nutrition of livestock*. 3rd ed. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxon, UK. Technology, 1999, 93, p.193-203.
12. STANWEELL-SMITH, R., THOMPSON, S.G., HAINES, A.P. et al. A comparative study of zinc, copper, cadmium and lead levels in fertile and infertile men. In: *Fertility and Sterility*, 1983, 40, p.670-677.
13. BROWN, K.M., ARTHUR, J.R. Selenium, selenoproteins and human health. In: *Public Health Nutrition*, 2001, 4(2B), p.593-599.
14. HILL, K.E., ZHOU, J., MCMAHAN, A.K. et al. Deletion of Selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse. In: *Journal Biology Chemistry*, 2003, 278, p.13640-13646.
15. UNDERWOOD, E.J. and SOMER, M. *Zinc: Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. 4th ed. New York: Academic Press, 1977, p.196-242.
16. RAYMAN, M. The importance of selenium to human health. In: *The Lancet.*, 2000, vol. 356, July 15, p.233-241.
17. REILLY, C. *The Nutritional Trace Metals*. Oxford: Blackwell Publishers, 2004.
18. TEODOR, V.I. *Alimentele și suplimentele nutritive – surse de seleniu pentru organism*. Rezumatul tezei de doctorat. Iași, 2011.
19. McCOY, K.E., WESWIG, P.H. Some selenium responses in the rat not related to vitamin E. In: *Journal of Nutrition*, 1969, 98, p.383-389.
20. CONSTANTIN, N. *Fiziologia animalelor domestice*. București: Coral Sanivet, 1998, vol. 1 și 2.
21. BERDANIER, C.D. et al. *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Third edition, Wadsworth Thomson Learning: Belmont CA, 1999, p.87-105.
22. BALAN, I. Modificări moleculare și morfologice dirijate ale celulelor spermatice în progresia spermatogenezei. În: *Buletinul AȘM. Seria „Științele vieții”*, 2012, nr.1, p.65-82.
23. CIOFU, C. Nutriție și alimentație. În: *Pediatrie*, 2001, nr.1, p.90-92.
24. LENG, R. et al. Comparative metabolic and immune responses of chickens fed diets containing inorganic selenium and Sel-plex M organic selenium. In: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries*. Lyons T.P. and Jaques K.A. (eds.), 2003, p.131-145.
25. ABOU-SKAKRA, F.R., WARD, N.I., EVERARD, D.M. The role of trace element in male infertility. In: *Fertility and Sterility*, 1989, 52, p.307-310.
26. MARY, E. Some Eighteenth-Century Metals. The Discovery of the Elements. In: *Journal of Chemical Education*, 1933.
27. BEHNE, D., WEILER, H. and KYRIAKOPOULOS, A. Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats. In: *J. Repro. Fert.*, 1996, 106, p.291-297.
28. URSINI, F., HEIM, S., KIESS, M., MAIORINO, M. et al. In: *Science*, 1999, 285, p.1393.
29. BROWN, D.G., BURK, R.F. Selenium retention in tissues and sperm of rats fed a torula yeast diet. In: *Journal Nutrition*, 1973, 103, p.102-108.
30. BEHNE, D., HOFER-BOSSE, T. Selenium. In: *Journal Nutrition*, 1984, no.114, p.1289.
31. EDENS, F.W. and SEFTON, A.E. Selenomethionine supplementation to diets of broiler breeders improves performance. In: *Poultry Science*, 2002, 81, p.91.
32. NOACK-FILLE, G., de BEER, C. and SWEIBERT, H. Cadmium, lead, selenium, and zinc in semen of occupationally unexposed men. In: *Andrologia*, 1993, 25, p.7-12.
33. GROZA, P. *Fiziologie*. București: Editura Medicală, 1991.
34. KHAN, M., ULLAH, R., ULLAH, A., AKRAM, M. *Association of Blood Zinc with Reproductive Hormones & Seminal Cytology*, 2014, 10(3), p.131-135.
35. MADDING, C.I., JACOB, M., RAMSAY, V.P., SOKOL, R.Z. Serum and semen zinc levels in normospermic and oligozoospermic men. In: *Ann. Nutrition Metabolism*, 1986, 30(4), p.213-218.
36. McGRAW, H. A study ties zinc deficiency to male infertility. In: *Med. World. News.*, 1979, 20(12), p.12-16.
37. MOHAN, H., VERMA, J., SINGH, I. et al. Interrelationship of zinc levels in serum and semen in oligospermic infertile patients and fertile males. In: *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 1997, 40, p.451-455.
38. KUMAR, N., VERMA, R.P., SINGH, L.P. et al. Effect of different levels and sources of zinc supplementation on quantitative and qualitative semen attributes and serum testosterone level in crossbred cattle bulls. In: *Reproduction, Nutrition, Development*, 2006, 46, p.663-675.
39. SMITH, O.B., AKINBAMISO, O.O. Micronutrients and reproduction in farm animals. In: *Animal Reproduction Science*, 2000, 60, p.549-560.
40. LINDHOLMER, C., GLAVMAN, H. Zinc and magnesium in human male reproductive tract. In: *Andrologia*, 1972, 4, p.213-217.
41. MEEKER, J.D., ROSSANO, M.G., PROTAS, B. et al. Cadmium, lead, and other metals in relation to semen quality: human evidence for molybdenum as a male reproductive toxicant. In: *Environmental Health Perspective*, 2008, 116, p.1473-1479.

42. CHIA SIN-ENG, ONG CHOON-NAM, CHUA LAY-HA et al. Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. In: *Journal of Andrology*, 2000, 21, p.53-57.
43. FAVIER, A.E. The role of zinc in reproduction. In: *Biological trace elements resources*, 1992, 32, p.363-382.
44. PRASAD, A.S. Zinc in growth and development and spectrum of human zinc deficiency. In: *Journal Am. Coll. Nutrition.*, 1988, 7, p.377-384.
45. GOLDEN, M., GOLDEN, B. Trace elements: Potent importance in human nutrition with particular references to zinc and vanadium. In: *British Medical Bulletin*, 1981, 37, p.31-36.
46. VALSA, J., GUSANI, P.H., SKANDHAN, K.P., MODI, H.T. Copper in split and daily ejaculates. In: *The Journal of Reproductive Medicine*, 1994, 39, p.725-728.
47. AKINLOYEI, O., FAYEOFORI, M., ABBIYESUKU et al. The impact of blood and seminal plasma zinc and copper concentrations on spermogram and hormonal changes in infertile Nigerian men. In: *Reproductive Biology*, 2011, vol.11, no.2, p.83-98.
48. BETTGER, W., O'DELL, B.A. Critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. In: *Life Sciences*, 1981, 28, p.1425-1438.
49. NETTER, A., HARTOMA, R., NAHAIL, K. Effects of zinc administration on plasma testosterone and dihydrotestosterone and sperm count. In: *Archives of Andrology*, 1981, 7, p.69-73.
50. ABBASI, A.A., PRASAD, A.S., ORTEGA, J. et al. Gonadal function abnormalities in sickle cell anaemia: Studies in adult male patients. In: *Ann. Intern. Med.*, 1976, 85(5), p.601-605.
51. FANG, V.S., FURUSHASI, N. Partial alleviation of the antitesticular effect of pipercolinomethyl- hydroxyindane by zinc in rats. In: *Journal of Endocrinology*, 1978, 79, p.151-152.
52. GUAN, Z. et al. Kinetic identification of a mitochondrial zinc uptake transport process in prostate cells. In: *Journal Inorg. Biochemistry*, 2003, 97, p.199-206.
53. STOLTENBERG, M. et al. Autometallographic demonstration of zinc ion in rat sperm cell. In: *Mol. Human Reproduction*, 1997, 3, p.763-767.
54. YAMAGUCHI, S. et al. Zinc is an essential trace element for spermatogenesis. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, 106, 26, p.10859-10864.
55. ALI, H., AHMED, M., BAIG, M., ALI, M. Relationship of zinc concentrations in blood and seminal plasma with various semen parameters in infertile subjects. In: *Pakistan Journal of Medical Science*, 2007, 1, p.111-114.
56. BEDWAL R.S., BAHUGUNA A. Zinc, copper and selenium in reproduction. In: *Cell. Mol. Life Sci.*, 1994, 50, p.624-640.
57. EL-TAWIL, A.M. Zinc deficiency in men with Crohn's disease may contribute to poor sperm function and male infertility. In: *Andrologia*, 2003, 35, p.337-341.
58. PRASAD, A.S. Zinc deficiency. In: *British Med. Journal*, 2008, 326, p.409-410.
59. JANKOWSKI-HENNING, M.A. et al. Zinc-deficient rat embryos have increased caspase 3-like activity and apoptosis. In: *Biochem. Biophysic. Res. Commun.*, 2000, 271, p.250-256.
60. HUNT, C.D., JOHNSON, P., HERBAL, J., MULLER, L.K. Effects of dietary zinc depletion on seminal volume and zinc loss, serum concentrations, and sperm morphology in young men. In: *Am. Journal Clin. Nutr.*, 1992, 56, p.148-157.

Prezentat la 01.04.2016

IMPACTUL RAȚIILOR ALIMENTARE ÎN PROCESUL DE MULTIPLICARE ȘI DEZVOLTARE A UNOR REPREZENTANȚI AI BACTERIOCENOZEI INTESTINALE

*Tudor STRUTINSCHI, Maria TIMOȘCO, Aliona VELCIU,
Victoria BOGDAN, Valentina STROCOV, Lilia POLEACOVA*

Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM

În condiții *in vitro* au fost experimentate 6 variante de rații alimentare nou-elaborate cu destinație specială. A fost studiată acțiunea lor asupra procesului de multiplicare și dezvoltare a 4 specii de bacterii intestinale (*Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli* și *Enterococcus faecium*) în monocultură și asociație. În primul caz s-a obținut un impact pozitiv la variantele: 3 cu escherichii, 5 cu bifidobacterii și lactobacili și 6 cu enterococi, iar în al doilea – la varianta 5. Aceasta a contribuit la stimularea procesului de multiplicare și dezvoltare a bifidobacteriilor, lactobacililor și enterococilor, dar la inhibarea acestuia la escherichii – reprezentante ale microflorei intestinale condiționat patogene.

Cuvinte-cheie: rație alimentară, bacteriocenoză intestinală, destinație specială, proces de multiplicare și dezvoltare, specie de bacterii.

THE IMPACT OF ALIMENTARY RATIONS IN MULTIPLICATION AND DEVELOPMENT PROCESS A SEPARATE REPRESENTATIVES OF INTESTINAL BACTERIOGENESIS

At the condition „*in vitro*” was experimented the 6 varies of alimentary rations new-elaborated for specially destination. To studied the its influence about of multiplication and development process the 4 species of intestinal bacteria (*Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium*) in monocultures and in association. In the first case established the positive impact by var.3 with Escherichia, - 5 with bifidobacteria and lactobacilli and 6 with enterococci, again in two – at var.5. This to contributed on stimulation of multiplication and development process the bifidobacteria, lactobacilli and enterococci, but suppression it with Escherichia – representatives of conditionally pathogenic of the intestinal microflora.

Keywords: alimentary ration, intestinal bacteriogenesis, specially destination, multiplication and development process.

Introducere

Informația existentă atenționează că factorul alimentar îndeplinește un rol determinant în activitatea vitală a organismului [1-3]. Totodată, cercetările noastre precedente au confirmat faptul că de nivelul cantitativ și de componența calitativă a bacteriocenozei intestinale depinde starea sănătății organismului [4-9]. Experimental, au fost întreprinse încercări de a optimiza funcționalitatea organismului prin utilizarea diverselor surse alimentare. De aceea, s-a decis ca menținerea bacteriocenozei intestinale la nivel optim să fie posibilă și prin utilizarea surselor alimentare specifice [7,10,11]. Aceasta, probabil, se datorează și proprietăților utile ale florei microbiene intestinale (de protecție, de sintetizare a substanțelor biologice active, de reglare a metabolismului etc.) [10,12-15].

În baza rezultatelor acestor cercetări au fost propuse și unele măsuri de apreciere rapidă a valorii nutriționale a acestora prin determinarea indicilor numerici ai unor reprezentanți ai microbiocenozei intestinale [6,15].

Luând în considerare cele relatate, s-a cerut continuarea cercetărilor referitor la aprecierea valorii nutriționale a rațiilor alimentare nou-elaborate cu destinație specială.

Astfel, a fost argumentat scopul cercetărilor de a elucidă impactul rațiilor alimentare nou-elaborate în procesul de multiplicare și dezvoltare a unor reprezentanți ai bacteriocenozei intestinale, mai ales al celor de importanță vitală pentru organism.

Material și metode

Pentru atingerea scopului prevăzut, în laboratorul „Alimentație și Digestie Sanocreatologică” al Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM au fost elaborate 6 variante de rații alimentare noi (preponderent, conform structurii calorice). Acestea au fost supuse experimentării, în condiții *in vitro* cu evidențierea acțiunii lor asupra procesului de multiplicare și dezvoltare a microorganismelor din unele genuri specifice bacteriocenozei intestinale (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia* și *Enterococcus*), utilizând metode microbiologice clasice [16]. Studiile au fost realizate prin utilizarea a 4 specii de bacterii: *Lactobacillus acidophilus*,

Bifidobacterium longum, *Escherichia coli* și *Enterococcus faecium*. Acestea, fiind specifice tubului digestiv uman de diversă vârstă (0-16; 17-25; 26-35; 36-45; 46-55 ani), au fost utilizate inițial în monocultură, apoi și în asociație. Au fost determinați indicii cantitativi ai bacteriilor speciilor sus-menționate, inoculate pe medii nutritive electivă atât în mod separat, cât și în comun cu decoctul a 6 variante de rații alimentare nou-elaborate.

Rezultate și discuții

Rațiile alimentare nou-elaborate cu destinație specială, conform indicilor de bază indicați, sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1

Structura calorică a rațiilor nou-elaborate, %

Indicii de bază	Variantele rațiilor					
	1	2	3	4	5	6
Proteine	8	9	10	11	12	14
Lipide	35	33	31	29	27	25
Glucide	57	58	59	60	61	61

Rezultatele obținute la studierea gradului de acțiune a rațiilor alimentare nominalizate asupra procesului de multiplicare și dezvoltare a microorganismelor speciei *Lactobacillus acidophilus* sunt reflectate în Tabelul 2.

Datele acestui tabel denotă că bacteriile speciei *Lactobacillus acidophilus* inoculate în mod separat au demonstrat valoare numerică specifică de $8,58 \pm 0,48$ log/ml. Comparativ cu martorul, în loturile experimentale (II-VII) indicii cantitativi ai acestor bacterii erau diferiți. Dacă primele trei variante și cea cu nr.6 au contribuit la diminuarea cantității celulelor microbiene vii ale acestei specii de lactobacili (în medie cu 23,89, 21,56, 28,43 și 0,93%, respectiv loturilor II, III, IV și VI), apoi variantele 4 și 5 – la sporirea neesențială a acesteia (cu 0,11 și 2,09%).

Tabelul 2

Indicii cantitativi ai bacteriilor speciei *Lactobacillus acidophilus*, inoculate în condiții *in vitro* în mod separat și în comun cu rațiile alimentare elaborate

Lotul	Variantele rațiilor alimentare	Modul de inoculare	Cantitatea celulelor microbiene vii la 1 ml de suspensie în logaritmi zecimali (log)	Deosebirea, comparativ cu martorul, %
I	-	*	$8,58 \pm 0,48$	-
II	1	**	$6,53 \pm 0,55$	-23,89
III	2	**	$6,73 \pm 0,54$	-21,56
IV	3	**	$6,14 \pm 0,41$	-28,43
V	4	**	$8,59 \pm 0,48$	+0,11
VI	5	**	$8,76 \pm 0,25$	+2,09
VII	6	**	$8,50 \pm 0,39$	-0,93

Notă: Lotul I – martor (inocularea *Lactobacillus acidophilus* în mod separat*); loturile II-VII – experimentale (inocularea *Lactobacillus acidophilus* în comun** cu decoctul a 1-6 variante de rații alimentare nou-elaborate).

Așadar, aceste date au confirmat existența impactului pozitiv la variantele rațiilor alimentare nou-elaborate (cu numărul 4 și 5). Totuși, cea mai de perspectivă s-a dovedit a fi varianta 5, pentru că a exercitat influență stimulatorie asupra procesului de multiplicare a lactobacililor. Deci, varianta 5 poate fi considerată de acțiune prebiotică și recomandată spre utilizare.

Din bibliografia existentă se cunoaște că din primele ore după naștere și până la vârsta înaintată în bacteriocenoza intestinală umană bifidobacteriile ocupă primul loc. De aceea, au fost supuse experimentării aceleași variante de rații alimentare, concretizând impactul lor în multiplicarea și dezvoltarea bacteriilor speciei *Bifidobacterium longum*.

Rezultatele obținute la inocularea acestora atât în mod separat, cât și în comun cu 6 variante ale rațiilor alimentare nou-elaborate sunt incluse în Tabelul 3.

Tabelul 3

Indicii cantitativi ai bacteriilor speciei *Bifidobacterium longum*, inoculate în condiții *in vitro* în mod separat și în comun cu rațiile alimentare elaborate

Lotul	Variantele rațiilor alimentare	Modul de inoculare	Cantitatea celulelor microbiene vii la 1 ml de suspensie în logaritmi zecimali (log)	Deosebirea, comparativ cu martorul, %
I	-	*	10,30±0,48	-
II	1	**	8,25±0,41	-19,90
III	2	**	9,32±0,38	- 9,51
IV	3	**	9,20±0,48	-10,67
V	4	**	10,85±0,51	+ 5,33
VI	5	**	10,96±0,25	+ 6,40
VII	6	**	10,74±0,41	+ 4,27

Notă: Lotul I – martor (inocularea *Bifidobacterium longum*, în mod separat*); loturile II-VII – experimentale (inocularea *Bifidobacterium longum* în comun** cu decoctul a 1-6 variante de rații alimentare nou-elaborate).

Din datele lotului martor (I) observăm că nivelul cantitativ al bifidobacteriilor speciei *Bifidobacterium longum* era de 10,30±0,48 log/ml, iar în loturile experimentale (II-VII) el a fost în limitele de 8,25±0,41 – 10,96±0,25 log/ml. Probabil, diferența se datorează intensității acțiunii factorului alimentar. În acest caz, primele trei variante ale rațiilor alimentare manifestau influență inhibitorie asupra procesului de multiplicare a bacteriilor acestei specii, contribuind la micșorarea cantității lor (respectiv, în loturile II-IV cu 19,90; 9,51 și 10,67%), iar variantele 4, 5 și 6 – la mărirea ei (cu 5,33; 6,40 și 4,27%).

Așadar, în baza acestor date putem afirma că impactul rațiilor alimentare nou-elaborate în procesul de multiplicare a bifidobacteriilor poate fi considerat pozitiv numai în cazul variantelor 4, 5 și 6. Deci, acestea pot fi recomandate spre utilizare, fiind considerate optime.

În seria următoare, considerând că acestea reprezintă microflora condiționat patogenă și valoarea lor numerică înaltă deseori se depistează în cazul disfuncțiilor intestinale diareice, au fost experimentate aceleași 6 variante de rații alimentare la inocularea lor în comun cu bacteriile speciei *Escherichia coli*.

Rezultatele obținute în prezenta serie sunt incluse în Tabelul 4.

Tabelul 4

Valoarea numerică a bacteriilor speciei *Escherichia coli* inoculate în condiții *in vitro* în mod separat și în comun cu rațiile alimentare nou-elaborate

Lotul	Variantele rațiilor alimentare	Modul de inoculare:	Cantitatea celulelor microbiene vii la 1 ml de suspensie, logaritmi zecimali (log/ml)	Deosebirea, comparativ cu martorul, %
I		*	8,25±0,55	
II	1	**	8,46±0,30	+2,54
III	2	**	8,17±0,48	-3,88
IV	3	**	6,32±0,73	-23,39
V	4	**	8,34±0,45	+1,09
VI	5	**	8,11±0,34	-1,69
VII	6	**	7,92±0,47	-4,00

Notă: Lotul I – martor (inocularea *Escherichia coli* în mod separat*); loturile II-VII – experimentale (inocularea *E. coli* în comun** cu decoctul a 1-6 variante de rații alimentare nou-elaborate).

Aceste date au demonstrat că în lotul martor (I) valoarea numerică a escherichiilor a atins nivelul mediu de 8,25±0,55, iar în loturile experimentale (II-VII) el era în limitele de 6,32±0,73 – 8,46±0,30 log/ml. Probabil, specificul acesteia era determinat de componența rațiilor utilizate. Dacă variantele cu nr.1 și 4 au contribuit la stimularea procesului de multiplicare și dezvoltare a escherichiilor, apoi variantele 2, 3, 5 și 6 – la inhibarea lui.

Așadar, s-a constatat că cel mai înalt grad de acțiune asupra escherichiilor a fost în lotul IV, pentru că s-a evidențiat inhibarea procesului de multiplicare și dezvoltare a bacteriilor speciei *E.coli* cu 23,39%. Conform impactului pozitiv al variantei 3 de rații alimentare experimentate, s-a argumentat oportunitatea recomandării ei în scopul inhibării procesului de multiplicare și dezvoltare a bacteriilor condiționat patogene (pe exemplul speciei *E.coli*).

Totodată, se cunoaște că bacteriocenoza tubului digestiv include și bacterii în formă de streptococi, iar în lucrările noastre precedente s-a menționat că în tubul digestiv există un număr mai mare de reprezentanți ai genului *Enterococcus*. De aceea, aceleași 6 variante de rații alimentare, elaborate în premieră, au fost supuse experimentării asupra speciei de bacterii *Enterococcus faecium*.

Rezultatele obținute în prezenta serie sunt reflectate în Tabelul 5.

Tabelul 5

Valoarea numerică a bacteriilor genului *Enterococcus* inoculate în condiții *in vitro* în mod separat și în comun cu rațiile alimentare elaborate

Lotul	Variantele rațiilor alimentare	Modul de inoculare	Cantitatea celulelor microbiene vii la 1 ml de suspensie, logaritmi zecimali (log/ml)	Deosebirea, comparativ cu martorul, %
I		*	8,69±0,65	
II	1	**1	6,38±0,39	-26,58-
III	2	**2	6,63±0,39	-23,70
IV	3	**3	6,17±0,48	-28,99
V	4	**4	8,59±0,63	- 1,15
VI	5	**5	8,77±0,67	+ 0,92
VII	6	**6	8,50±0,64	- 2,18

Notă: Lotul I – martor (inocularea *E.faecium* în mod separat*); loturile II-VII – experimentale (inocularea *E.faecium* în comun** cu decoctul a 1-6 variante de rații alimentare respectiv loturilor).

Datele Tabelului 5 demonstrează că inocularea separată a enterococilor a asigurat multiplicarea lor până la nivelul de 8,69±0,65 log/ml. Rațiile testate au acționat asupra procesului de multiplicare a acestor bacterii în mod diferit, asigurând divers nivel numeric de dezvoltare a lor (respectiv, a loturilor II-VII, de la 6,17 până la 8,77 log/ml). Deci, variantele rațiilor alimentare cu nr.1-4 și 6 au acționat inhibitoriu, iar varianta 5 – stimulatoriu, pentru că a contribuit la mărirea numărului acestor bacterii (cu 0,92%).

Așadar, s-a constatat că varianta rațiilor alimentare, nou-elaborate, cu nr.5 a demonstrat un impact pozitiv asupra procesului de multiplicare și dezvoltare a bacteriilor speciei *E.faecium*.

Studiile dedicate componenței cantitative a bacteriocenozei intestinale afirmă că speciile de bacterii sus-menționate permanent se multiplică și se dezvoltă, fiind în asociație. Astfel, s-a argumentat experimentarea rațiilor alimentare, nou-elaborate, cu asociația speciilor, studiate în monocultură, iar rezultatele obținute în 7 serii de experimente sunt reflectate în Tabelul 6.

Datele Tabelului 6 denotă că în prima serie de experimente bacteriile din genurile studiate au atins divers nivel cantitativ, fiind specific fiecărui gen. Inocularea separată a asociației microbiene, pregătite în premieră, a manifestat următoarea continuitate cantitativă a genurilor ei: pe primul loc era genul *Bifidobacterium*, pe al doilea – *Lactobacillus*, pe al treilea – *Enterococcus* și pe al patrulea – *Escherichia*, constituind, respectiv, 11,63±0,48, 9,96±0,45, 9,59±0,15 și 6,53±0,55 log/ml.

Rezultatele obținute în seriile experimentale confirmă faptul menținerii ordinii genurilor și deosebirii valorii lor numerice, comparativ cu datele lotului-martor. Constatarea este fundamentată de acțiunea diverselor variante ale rațiilor alimentare nou-elaborate. Dacă variantele 1-4 (seriile II-V) au inhibat procesul de multiplicare și dezvoltare a tuturor membrilor asociației microbiene utilizate, apoi variantele 5 și 6 (seriile VI și VII) au contribuit la stimularea lui, îndeosebi a bifido-, lactobacililor și enterococilor (mărirea numărului lor, respectiv, cu 2,49, 2,40 și 3,85; precum și cu 0,85, 2,10 și 1,04%). Referitor la escherichii, se poate afirma că asemenea bacterii în asociație au demonstrat rezultate diferite celor obținute la experimentarea rațiilor alimentare cu acestea în monocultură. Este semnificativ faptul diminuării valorii numerice a reprezentanților microflorei condiționat patogene (din genul *Escherichia*), mai ales în cazul experimentării variantelor 5 și 6 ale rațiilor alimentare care a fost respectiv mai mică, cu 31,08 și 26,64%.

Tabelul 6

**Indicii numerici ai unor reprezentanți ai bacteriocenozei intestinale după inocularea
asociației de microorganisme în condiții *in vitro* în mod separat și în comun
cu diverse variante ale rațiilor alimentare nou-elaborate**

Seria de experimente	Variantele rațiilor alimentare	Modul de inoculare	Genurile de microorganisme determinate	Cantitatea celulelor microbiene vii la 1 ml de suspensie în logaritmi zecimali (log)	Deosebirea, comparativ cu martorul, %
I		*	B	11,63±0,48	
		*	L	9,96±0,45	
		*	Es	6,53±0,55	
		*	En	9,59±0,15	
II	1	**	B	8,38±0,44	-27,94
			L	7,17±0,48	-28,01
			Es	5,49±0,58	-15,92
			En	8,32±0,39	-13,24
III	2	**	B	9,50±0,52	-18,31
			L	8,46±0,45	-15,06
			Es	5,82±0,45	-11,02
			En	8,38±0,49	-12,61
IV	3	**	B	8,75±0,45	-25,02
			L	7,98±0,30	-19,87
			Es	5,88±0,58	- 9,95
			En	8,69±0,46	- 9,38
V	4	**	B	11,34±0,45	- 2,49
			L	9,43±0,36	- 5,32
			Es	4,59±0,62	-29,70
			En	9,46±0,48	- 1,35
VI	5	**	B	11,92±0,37	+ 2,49
			L	10,20±0,41	+ 2,40
			Es	4,50±0,35	-31,08
			En	9,96±0,45	+ 3,85
VII	6	**	B	11,73±0,41	+ 0,85
			L	10,17±0,45	+ 2,10
			Es	4,79±0,69	-26,64
			En	9,69±0,48	+ 1,04

Notă: Seria: I – martor (inocularea asociației de bacterii: *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli* și *Enterococcus faecium* în mod separat*); II-VII – seriile experimentale (inocularea asociației nominalizate în comun cu 1-6 variante de rații alimentare nou-elaborate**).

Genurile de microorganisme determinate: B – *Bifidobacterium*; L – *Lactobacillus*; Es – *Escherichia*; En – *Enterococcus*.

Prin urmare, inocularea asociației microbiene noi în comun cu decoctul rațiilor alimentare nou-elaborate a confirmat că în procesul de multiplicare și dezvoltare a microorganismelor genurilor determinate impactul a fost pozitiv numai în seriile VI și VII. Asemenea concluzie se bazează pe capacitatea rațiilor alimentare de a inhiba procesul de multiplicare a bacteriilor din genul *Escherichia*, fiind facultative tubului digestiv și reprezentante condiționat patogene pentru el. Concomitent, variantele 5 și 6 ale rațiilor experimentate au reflectat și capacitatea de a stimula asemenea proces la bacteriile din genurile obligative tubului digestiv (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*), precum și a unor din cele facultative pe exemplul genului *Enterococcus* (numai a bacteriilor speciei *E.faecium*).

Așadar, testarea rațiilor alimentare în comun cu asociația microbiană a demonstrat deosebire, comparativ cu rezultatele obținute în cazurile testării lor cu astfel de bacterii în monocultură. În acest caz, procesul de multiplicare și dezvoltare a reprezentanților bacteriocenozei intestinale realizându-se în mod diferit, totuși cel mai pozitiv impact a fost depistat la varianta 5.

Concluzii

1. Cel mai exprimat impact pozitiv la multiplicarea și dezvoltarea monoculturii de *E.coli* – reprezentantă a microflorei condiționat patogene l-a reflectat varianta 3 a rațiilor alimentare nou-elaborate, contribuind la diminuarea ei numerică cu 23,39%.

2. Impactul prebiotic pronunțat s-a evidențiat la varianta 5 a rațiilor experimentate, pentru că, comparativ cu matorul, a asigurat mărirea maximală a numărului de microorganisme în monocultură: a speciei *L.acidophilus* – cu 2,09%, *B.longum* – cu 6,40% și a *En.faecium* – cu 0,92%, dar de inhibare a procesul de dezvoltare a *E.coli* – cu 1,69%.

3. Cu asociația microbiană a acelorași specii de bacterii impactul pozitiv s-a evidențiat numai la variantele cu nr.5 și 6 ale rațiilor alimentare nou-elaborate, pentru că acestea au contribuit la inhibarea procesului de multiplicare și dezvoltare a escherihiilor, micșorându-se cu 1,69%, și la stimularea acestuia – la bifidobacterii, lactobacili și enterococi, mărindu-se, respectiv, cu: 0,85-2,49, 2,10-2,40 și 1,04-3,85%.

4. Analiza comparativă a procesului de dezvoltare a speciei *E.coli* în monocultură și asociație fundamentează concluzia că diminuarea lui în varianta asociativă cu 31,08 și 26,64% este condiționată de proprietățile prebiotice pronunțate ale variantelor 5 și 6 ale rațiilor alimentare experimentate, pentru că acestea au reflectat impact pozitiv exprimat prin menținerea la nivel optim a echilibrului ecologic dintre reprezentanții microbieni studiați (speciile genurilor *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* și *Escherichia*).

Referințe:

1. STRUTINSCHI, T., TIMOȘCO, M. Rolul factorului alimentar în menținerea microbiocenozei intestinale și sănătății organismului. În: *Buletinul AȘM*, 2015, nr.2, p.44-49.
2. TIMOȘCO, M., BOGDAN, V., VELCIU, A. Semnificația unor genuri de microorganisme ale familiei *Streptococcaceae* în activitatea vitală a macroorganismului. În: *Buletin de perinatologie*, 2013, nr.1(57), p.8-11.
3. TIMOȘCO, M., BOGDAN, V., FLOREA, N. Impactul unor agenți microbieni din familia *Streptococcaceae* în activitatea vitală a organismului uman și animal. În: *Curierul medical*, 2014, vol.57 (nr.1), p.73-77.
4. FOULQUIÉ MORENO, M.R., SARANTINOPOULOS, P., TSAKALIDOU, E., DE VUYST, L. The role and application of enterococci in food and health. In: *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, no.106(1), p.1-24.
5. STRUTINSCHI, T., TIMOȘCO, M. Impactul factorilor alimentari și microbieni în sănătatea sistemului digestiv. În: *Sănătate Publică și Management în Medicină*, 2013, nr.3 (48), p.232-233.
6. TIMOȘCO, M., FLOREA, N. Aprecierea rapidă a prezenței dereglărilor sănătății sistemului digestiv prin determinarea nivelului cantitativ al unor reprezentanți ai microflorei intestinale. În: *Sănătate Publică și Management în Medicină*, 2013, nr.3 (48), p.233-234.
7. TIMOȘCO, M., STRUTINSCHI, T., VELCIU, A., BOGDAN, V., SROCOV, V. Căi de menținere a microbiocenozei intestinale la nivel optim pentru sănătate. În: *Buletinul AȘM. Științele vieții*, 2014, nr.2, p.46-53.
8. VELCIU, A., TIMOȘCO, M. Starea sănătății și microbiocenozei intestinale la copii de vârstă timpurie postnatală în dependență de modul de alimentare. În: *Buletin de perinatologie*, 2013, nr.4(57).
9. VELCIU, A., TIMOȘCO, M. Nivelul numeric al reprezentanților microbieni și starea sănătății organismului. În: *Buletin de perinatologie*, 2014, nr.3(63), p.25-28.
10. MOUNTZOURIS, K.C., TSIRTSIKOS, P., KALAMARA, E. et al. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. In: *Poult. Sci.*, 2007, nr.86(2), p.309-317.
11. STRUTINSCHI, T., TIMOȘCO, M., VELCIU, A., BOGDAN, V., STROCOV, V. Impactul rațiilor alimentare cu diversă structură calorică în optimizarea nivelului cantitativ al unor reprezentanți ai bacteriocenozei intestinale. În: *Materialele Congresului VII al fiziologilor din Moldova*, 2012, p.349-355.
12. STRUTINSCHI, T., TIMOȘCO, M., VELCIU, A., BOGDAN, V., STROCOV, V. Influența rațiilor alimentare cu diversă structură calorică asupra unor reprezentanți ai microflorei intestinale condiționat patogene. În: *Sănătate Publică și Management în Medicină*, 2012, nr.5(44), p.138-140.
13. STRUTINSCHI, T., TIMOȘCO, M., VELCIU, A., BOGDAN, V. Explorarea posibilității detoxifierii metabolice a macroorganismului. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2013, nr.1(61), p.70-76.

14. STRUTINSCHI, T., TIMOȘCO, M., VELCIU, A., BOGDAN, V. Particularitățile acțiunii rațiilor alimentare cu proteine de diversă origine asupra unor reprezentanți ai bacteriocenozei intestinale. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Seria „Științe reale și ale naturii”*, 2013, nr.1(61), p.77-82.
15. VELCIU, A., TIMOȘCO, M., STRUTINSCHI, T. Presingul microorganismelor din unele genuri condiționat patogene asupra macroorganismului în dependență de influența factorului alimentar. În: *Buletin de perinatologie*, 2014, nr.3(63), p.35-38.
16. FLINT, H.J., DUNCAN, S.H., SCOTT, K.P., LOUIS, P. Interactions and competition within the microbial community of the human colon: links between diet and health. In: *Environ. Microbiol.*, 2007, nr.9(5), p.1101-1111.

Notă: *Articolul a fost realizat în cadrul Proiectului 15.817.04.01A „Alimentația în raport cu tipurile constituției. Impactul alimentației asupra sanogenității gameților masculini”, cu suportul financiar al CSSDT al AȘM.*

Prezentat la 10.02.2016

CARACTERISTICA STĂRII FUNCȚIONALE A GLANDELOR ENDOCRINE ÎN DIABETUL EXPERIMENTAL PE FONDUL ADMINISTRĂRII EXTRASELOR DIN PRODUSE APICOLE

Iulian PARA

Universitatea de Stat din Moldova

Diabetul este o boală cronică metabolică având drept cauză deficitul primar de insulină absolută sau relativă și se caracterizează prin perturbarea metabolismului predominant de carbohidrați, toleranță redusă la glucide, prezența glucozei în urină, fiind afectate și alte tipuri de metabolism lipidic și proteic.

Cuvinte-cheie: *diabet zaharat, metabolism glucidic, glucozurie, metabolism lipidic, metabolism proteic.*

FEATURE FUNCTIONAL STATUS ENDOCRINE GLANDS IN DIABETES MANAGEMENT FUND EXTRACTS FROM THE EXPERIMENTAL BEE PRODUCTS

Diabetes is a disease metabolic chronic what is due to the primary deficit absolute or relative insulin and is characterized by disturbing the predominant carbohydrate metabolism, reduced tolerance to carbohydrates, the presence of glucose in urine, along with impairment and other metabolisms: Lipid and protein.

Keywords: *diabetes, metabolic disease, carbohydrate metabolism, glucose in urine, metabolisms lipid, metabolism protein.*

Introducere

Glandele cu secreție internă (glanda tiroidă, suprarenalele, pancreasul) au un rol important în reglarea metabolismului glucidic, însă din cauza dereglărilor patologice ale acestor glande se dezvoltă în numeroase forme clinice diabetul zaharat.

La apariția și evoluția diabetului zaharat în glande cu secreție internă au loc schimbări legate de diferite dereglări funcționale.

La evoluția bolilor endocrine se observă un șir de particularități legate de evoluția clinică ce necesită un tratament medicamentos. Literatura de specialitate axată pe activitatea funcțională a glandei tiroide afectate de diabetul zaharat e foarte vastă. Majoritatea cercetătorilor au constatat disfuncția acestei glande cu secreție internă. S-a observat că la bolnavii cu diabet zaharat, mai ales în starea decompensativă și în timpul retinopatiei diabetice, funcția glandei tiroide se intensifică și se manifestă prin majorarea concentrației hormonilor T3-T4 în sânge. Dereglarea funcției glandei tiroide e mai evidentă la o formă gravă de diabet zaharat. În aceste cazuri, de rând cu majorarea nivelului bazal al STH în sânge, se observă și ridicarea concentrației lui în sânge ca răspuns la proba cu tiroliberină. La bolnavii cu diabet zaharat în perioada pubertară la decompensarea bolii se observă nu doar majorarea STH, dar și a nivelului de ACTH.

Rezultatele cercetărilor [1] demonstrează că funcția tireotropă la tiroidă la bolnavii cu diabet zaharat nu se modifică. Autorii acestei lucrări au evedențiat nivelul scăzut al hormonilor T3-T4 în sângele bolnavilor. Ei presupun că inhibarea funcției tireotrope a tiroidei se constată ca rezultat al micșorării secreției de insulină.

O parte din cercetători menționează despre menținerea normală a funcției gonadotrope a tiroidei și că doar la pacienții cu microangiopatie diabetică se observă micșorarea conținutului de prolactin în sânge [2].

Așadar, în timpul diabetului zaharat se dereglează activitatea funcțională a tiroidei, ceea ce se observă mai evident la formele grave de diabet, la decompensare (în timpul cetoacidozei) și în timpul leziunilor vaselor sangvine.

Acromegalia. Diabetul zaharat în timpul acromegaliei se constată în 5-65% de cazuri. Particularitățile deosebirii acestei forme de diabet zaharat sunt: caracterul trecător și episodic al hiperglicemiei, normalizarea metabolismului glucidic la majoritatea bolnavilor după tratare [3]. Diabetul zaharat în asociere cu acromelia se caracterizează întâi de toate prin insulinorezistență.

Diabetul nezaharat în corelare cu diabetul zaharat apare în primul rând din cauza dereglărilor organice ale sistemului nervos central.

În literatura de specialitate nu sunt strict determinate criteriile diabetului zaharat la animalele experimentale. De regulă, la 2-3 zile după injectarea diabetogenului se testează urina la glucozurie și se consideră că

animalele sunt diabetice dacă aceasta este prezentă. Uneori, dacă e posibil, pe parcurs se colectează sânge din vena codală și se determină glicemia, dar de cele mai multe ori diabetul zaharat este confirmat la sfârșitul experiențelor, când la animale se colectează sângele pentru diferite testări, inclusiv glicemia. În studiul de față ne-am propus să argumentăm prezența diabetului prin testarea mai multor indicii. Astfel, a fost adunat materialul și efectuate anumite testări ale lui pentru descrierea următorilor indici clinici și de laborator:

1. Dinamica zilnică a manifestărilor clinice la animalele experimentale
2. Pierderile de masă
3. Alimentația
4. Consumul de apă (polidipsia)
5. Eliminarea urinei (poliuria)
6. Analiza calitativă a urinei la glucoză (glucozuria)
7. Analiza calitativă a urinei la cetone (cetonuria)
8. Determinarea proteinuriei
9. Nivelurile glicemiei.

Analiza rezultatelor obținute pentru acești indici permite atestarea sau nu a diabetului zaharat experimental.

Manifestările clinice ale diabetului alloxanic. Injectarea diabetogenului are efecte diferite asupra diferitelor animale, provocând diabet de diversă intensitate sau neprovocându-l deloc.

Această sensibilitate diferită a animalelor la diabetogen este, probabil, o manifestare a eterogenității reactivității de specie, care se observă și în alte reacții, cum ar fi reacția de hipoxie, efort fizic. La injectarea peritoneală a alloxanului la unele animale am observat convulsii. Dacă introducerea diabetogenului este efectivă, simptomele clinice – polidipsia și poliuria – apar chiar după 24 de ore și animalele își schimbă comportamentul. Ele devin mai puțin active, urechile din roze devin palide, iar blana li se zbârlește. În experiențele noastre, în primele 3-5 zile au decedat aproximativ 25% din numărul de animale injectate cu alloxan în urma unui diabet acut sau a reacției toxice la alloxan cu dezvoltarea unui sindrom diabetico-uremic. Aceste animale au fost în perioada numită opace, somnolente, nu reacționau la atingere, nu mâncau și unele chiar nici nu beau. Procentul de animale decedate în această perioadă coincide în fond cu datele comunicate în literatură, care variază între 20 și 35%. Rezistență la alloxan au demonstrat aproximativ 10% din animalele injectate. În literatură acest indice este variabil și alcătuiește de la 8% la masculii șobolanilor albi până la 50% la femele [4,5].

Alimentația. E cunoscut că șobolanii cu diabet experimental, ca de altfel și pacienții cu diabet insulinopenic, demonstrează o hiperfagie extremă, mai ales dacă sunt menținuți pe o dietă predominant glucidică. Acest simptom apare însă aproximativ la două săptămâni de la injectarea diabetogenului, fiind precedat de o perioadă de hipofagie. Cercetările noastre în cauză au înregistrat o durată de 10 zile, fiind înregistrată anume această hipofagie, care s-a presupus că este o consecință a nefrotoxicității alloxanului. Alți autori consideră că aceasta este indusă de diabet, deoarece a fost demonstrat că injectarea dozelor foarte mari de diabetogen nu provoacă hipofagie dacă se administrează concomitent insulină. Hipofagia se manifestă numai dacă se oprește injectarea insulinei și se instalează hipoinsulinemia.

Scăderea masei corpului. La șobolanii cu diabet experimental insulinic, ca și în diabetul de tip 1 la om, se înregistrează pierderi mari în greutatea corpului, care au loc mai ales din cauza catabolismului exagerat al proteinelor. În literatură avem diferite date. Astfel, o scădere a greutateii corpului se atestă în primele 10 zile după injectarea diabetogenului, după ce are loc stabilizarea acestuia. În diabetul de durată mai lungă (62 zile) n-au fost înregistrate scăderi semnificative ale acestui indice în fazele de debut (7 zile) și nici mai târziu, animalele practic rămânând la aceeași greutate ca la început; în schimb, lotul martor și-a dublat greutatea. În diabetul evident de 3 săptămâni greutatea corpului la șobolani a scăzut în medie cu 2,4 g/zi, iar la animalele martori s-a înregistrat un adaos tot de 2,4 g/zi. În [1] autorii comunică că în diabetul latent scăderea în greutate se oprește peste 10-14 zile, iar apoi se înregistrează o creștere mică a acestui indice. Probabil, acest indice este în dependență directă de gravitatea bolii (nivelul hiperglicemiei).

Datele despre starea funcțională a organelor genitale la bărbați cu dereglarea glandei tiroide nu sunt numeroase. E cunoscut faptul că pentru menținerea stării normale active a gonadelor e necesară o concentrație normală în sânge a hormonilor glandei tiroide.

Stabilitatea funcționării sistemului reproductiv depinde de numeroși factori ai mediului intern și extern. Dereglările grave ale funcției acestui sistem sunt în corelație cu modificările homeostaziei hidraților de carbon, care stă la baza diabetului zaharat. Dereglările funcției active a sistemului reproductiv al organismului la

animalele de laborator cu diabet zaharat e în corelație nu doar cu modificările distructive ale gonadelor, dar și cu disfuncția sistemului hipotalamo-hipofizar. Datele literaturii de specialitate demonstrează că la masculi și la femele aceste dereglări pot fi de grade diferite. Până acum a rămas nerezolvată întrebarea: cât de mult depind dereglările provocate de diabetul zaharat de nivelul steroizilor sexuali și al insulinei în organism? Spre deosebire de masculi, pentru femele sunt caracteristice modificările ciclice ale sistemului reproductiv [4].

Deosebirile observate (în normă) în reglarea funcției gonadotrope a hipofizei la femele și masculi pot fi explicate astfel: masculii sunt mai sensibili la acțiunea hiperglicemică a alloxanului decât femelele. În afară de aceasta, se observă modificări neasemănătoare în organismul femelelor și al masculilor la un deficit de insulină. Rezultatele morfologice și fiziologice ale cercetărilor atestă că la femele modificările în hipofiză sunt mai puțin evidente decât la masculi. Dereglările proceselor ciclice în timpul formelor grave de diabet pot fi precedate de dereglările sistemului hipotalamo-hipofizo-gonad ce include atât structurile sistemului nervos central, cât și nivelul ovarelor [5].

Diabetul zaharat reprezintă o boală endocrină, condiționată în principal de secreția deficitară sau de folosirea periferică defectuoasă a insulinei.

În majoritatea țărilor europene, printre care R. Moldova, Franța, Danemarca, morbiditatea se situează, în mediul urban, între 1 și 2 cazuri la o mie de locuitori cu diabet zaharat; vârsta – în jurul la 45 de ani. În prezent, potrivit datelor recente ale autorilor ruși și americani, vârsta a urcat la 64-67 de ani. Totuși, deocamdată mortalitatea prin diabet rămâne la un nivel ridicat și are o tendință clară de creștere. Printre semnele caracteristice diabetului se înscriu: scăderea poftei de mâncare cu mărirea aportului alimentar, polifagia însoțită de polidipsie, adică de intensificarea setei și de ingestia crescută de lichide. Paralel cu polidipsia crește și volumul eliminărilor urinare. Printre semnele generale ale diabetului zaharat se mai notează și oboseala, uscături ale pielii, mâncărimi ale pielii și ale organelor genitale, cicatrizarea dificilă a rănilor, chiar și a celor minore; pentru formele mai grave – pierderea în greutate, astenie accentuată, pierderea poftei de mâncare, grețuri, vărsături, dureri abdominale, somnolență, care corespund agravării sindromului umoral și traduc starea de acidoză a organismului. Cauzele care produc diabetul zaharat sunt multiple și acționează într-o înlanțuire complexă. Însă, cauza principală care generează tulburările caracteristice diabetului zaharat este insuficiența insulinică. În apariția și dezvoltarea bolii pot participa acei factori patogeni, de natură foarte diferită, capabili să producă lezarea directă a aparatului insular pancreatic [6]. Printre aceștia se numără infecțiile virotice și bacteriene, tumorile, leziunile sclerotice ale arterelor pancreatice etc. Factorii de origine nervoasă și endocrină cu acțiune hiperglicemiantă pot determina, printr-o acțiune prelungită, o suprasolicitare a pancreasului endocrin, urmată de epuizarea sau lezarea degenerativă a celulelor B, așa cum se observă în diabetul hipofizar sau steroid. Indiferent însă de natura acestor factori și de intensitatea acțiunii lor diabetogene, boala apare în primul rând la persoanele la care există o fragilitate înăscută sau dobândită a aparatului insular pancreatic. În dezvoltarea diabetului zaharat o importanță deosebită revine factorilor ereditari. Numărul cazurilor de diabet familial variază, după statisticile diferiților autori, între 20 și 50% din totalul bolnavilor diabetici. De cele mai multe ori este evident că bolnavii respectivi moștenesc o predispoziție la diabet; boala apare însă după acțiunea altor factori cauzali, uneori la vârste înaintate. Dar chiar și în prezența unei eredități nefavorabile apariția bolii poate fi preîntâmpinată prin măsuri de ordin social, familial și individual, printre care se numără normarea muncii fizice, evitarea încordărilor neuropsihice, alimentația rațională, profilaxia și tratamentul adecvat al bolilor toxico-infecțioase.

Modele de diabet zaharat experimental sunt folosite pe larg în studiile biologice. Pentru experiment se folosesc șobolanii albi de laborator. Se cunosc mai multe substanțe cu efect diabetogen, cum ar fi N-metil, ditizonul. Cel mai des, însă, pentru a obține modele de diabet zaharat experimental se folosește alloxanul. Introducerea alloxanului în doze diabetice duce la mărirea zahărului în sânge peste cel mult 2-3 ore, transformându-se în hiperglicemie cu durata de 15-20 de ore. Dacă animalul nu moare în această stadiu, urmează hiperglicemia repetată care denotă dezvoltarea diabetului. În cazul diabetului alloxanic, în organele interne au loc o mulțime de modificări, care iau naștere în rezultatul schimbărilor unor funcții legate de insuficiența insulinei. La șobolanii cu diabet alloxanic cronic se observă atrofierea glandei tiroide [1,2].

Un deosebit interes prezintă studiul diabetului alloxanic și al factorilor care contribuie la normalizarea metabolismului glucidic. În rezultatul studiilor efectuate s-a stabilit că de la inițierea dezvoltării diabetului experimental se observă o modificare generală a indicilor hematologici. Administrarea melanotropinei pe fondul diabetului alloxanic duce la o majorare generală a acestor indici, ceea ce ne vorbește despre acțiunea

biostimulatoare a preparatului. În cadrul studierii reacției sistemului sangvin la acțiunea melanotropinei s-a constatat o creștere evidentă a numărului de leucocite. Probabil, destinația acestui preparat este stimularea hematopoezei, mai ales a leucopoezei, ceea ce joacă un rol important în imunitate. Administrarea melanotropinei pe fondul diabetului alloxanic influențează steroidogeneza prin creșterea funcției corticosuprarenalei.

În procesul dezvoltării diabetului zaharat crește activitatea funcției sistemului hipofizo-corticosuprarenal și sunt afectate relațiile de reglare feedback între corticosteron și corticotropină. Modificarea activității hormonilor axului hipofizo-corticosuprarenal în diabet la nivelul tisular se referă nu atât la schimbarea raporturilor de conținut al derivaților glucocorticoizilor, cât la schimbul concentrației de corticosteron. Activitatea funcției sistemului hipofizo-corticosuprarenal provocată de hiperglicemia insulino-dependentă accelerează și agravează dezvoltarea diabetului alloxanic [2,5].

Rolul produselor apiculturii pe parcursul multor secole, precum și în secolul XXI, este determinat nu doar de calitățile lor înalt binefăcătoare, dar și de utilizarea cu succes în profilaxia impactului ecologic și a încordării stresogenice înalte, care sunt cauzate de condițiile moderne de trai, ci, fără îndoială, și de necesitatea de a fi folosite de către om în alimentație în calitate de produse ecologic pure, cu eficacitate înaltă în sensul menținerii, întăririi, iar în caz de utilizare corectă – chiar și formării sănătății. Folosite încă din cele mai vechi timpuri și apreciate în întreaga lume pentru gustul lor deosebit, produsele apicole au totodată calități terapeutice observate încă mii de ani în urmă [6].

Referințe:

1. CRIVOI, A., BACALOV, Iu., LUPU, E., AHMED SABER ABU-ZETUN, KOROTKOV, A. Fitoterapia în dereglările metabolice. În: *Materialele Conferinței corpului didactico-științific „Bilanțul activității științifice a USM pe anii 1998/1999”*. Seria „Științe chimico-biologice”. Chișinău, 2002, p.83-84.
2. АКМАЕВ, И.Г., ВИХРЕВА, О.В., КОНОВАЛОВА, Л.К. О новом пути регуляции эндокринной функции поджелудочной железы. В: *Проблемы эндокринологии*, том 29, 1983, с.46-50.
3. CRIVOI, A., BACALOV, Iu., CHIRIȚA, E. ș.a. *Sistemul endocrin: suport de curs*. Chișinău: CEP USM, 2011, p.56.
4. MILCU, M., VAISLER, L., COSTINER, E. *Ficatul și hormonii*. București, 1967.
5. БАБИЧЕВ, В.Н., АДАМСКАЯ, Е.И., ПЕРЫШКОВ, Т.А. Анализ гипоталамо-гипофизарно-гонадальных взаимоотношений у самок крыс при экспериментально вызванном диабете. В: *Проблемы эндокринологии*. том 26, 1994, № 3, с.43-46.
6. MĂRJINEANU, A. *Interrelațiile pancreasul endocrin – gonade în diabetul experimental pe fondul administrării tincturii de propolis*: Teză de master. Chișinău: CEP USM, 2014.

Notă: Cercetările științifice au fost efectuate în cadrul Proiectului instituțional fundamental 15.817.05.02 F

Prezentat la 17.03.2016

CONȚINUTUL UNOR METALE GRELE ÎN POLENUL COLECTAT DE ALBINELE MELIFERE ȘI LEGĂTURA ACESTUIA CU FACTORII MEDIULUI AMBIANT

Valentina CEBOTARI, Olesia GLIGA, Ion BUZU

Institutul de Zoologie al AȘM

În lucrare sunt expuse rezultatele cercetării concentrațiilor de metale grele (MG): *Pb*, *Cd* și *Cu* în componentele mediului ambiant (sol, flori), prelevate din raza de zbor a albinelor, și în polen, prelevat din colectoarele atașate la stupi. A fost constatat că cel mai mare conținut de MG (cu excepția *Cu*) a fost înregistrat în polenul colectat din situl industrial, iar *Cu* – din situl agricol, cea mai redusă concentrație de MG fiind înregistrată în polenul colectat din situl forestier. Concentrațiile de MG în polenul cercetat nu a depășit limita maximă admisibilă stabilită în normele europene. Între concentrația de MG în componentele mediului și în polen există o corelație liniară, pozitivă destul de strânsă. Coeficienții de corelare Pearson (r_{xy}) au constituit: la *Pb*=0,96; la *Cd*=0,99 și la *Cu*=0,92. Prin utilizarea polenului în calitate de bioindicator, a fost elaborat un procedeu de evaluare a gradului de poluare a mediului ambiant cu MG, înregistrat de AGEPI ca invenție.

Cuvinte-cheie: metale grele, polen, flori, sol, procedeu, evaluare, calitatea mediului.

THE CONTENT OF SOME HEAVY METALS IN POLLEN COLLECTED BY HONEY BEES AND ITS RELATION WITH ENVIRONMENTAL FACTORS

In this paper are exposed results of research of heavy metal concentrations (HM): *Pb*, *Cd* and *Cu* in environmental components (soil, flowers), have been taken from the flying range of bees and the pollen have been taken from collectors attached to the hives. It was found, that the highest content of HM (except *Cu*) has been recorded in pollen collected from the industrial site, but *Cu*- from the agricultural site and, the lowest concentration of HM has been recorded in pollen collected from the forest site. The HM concentrations in investigated pollen has not exceeded the maximum allowable established by European standards. Between the concentration of heavy metals in environmental components and pollen there is a positive fairly close linear correlation. The Pearson correlation coefficient (r_{xy}) were: at the *Pb*=0,96; at the *Cd*=0,99 and at the *Cu*=0,92. By using the pollen as bio indicator, has been developed a process for assessing the environmental pollution with HM, registered by AGEPI as invention.

Keywords: heavy metals, pollen, flowers, soil, process, evaluation, environmental quality.

Introducere

Grupul metalelor grele (MG) include toate metalele cu densitatea mai mare de 5 g/cm³. Majoritatea metalelor au un dublu sens în mediul ambiant [1]. Unele elemente chimice (*Fe*, *Mn*, *Cu*, *Zn*, *Mo*, *Co*, *Cr*), numite biogene, sunt nutrienți esențiali în alimentația plantelor și animalelor, manifestând un caracter toxic doar atunci când concentrația lor în mediul ambiant depășește un anumit prag [2]. Alte elemente, precum *Pb*, *Cd*, *Hg*, sunt nocive pentru plante și animale, chiar în concentrații reduse, de aceea sunt numite metale toxice. Impactul nociv al hiperconcentrației metalelor grele asupra omului și animalelor se manifestă atunci când conținutul acestora depășește concentrația maximă admisibilă (CMA) sau limita maximă admisibilă (LMA) în biocenoză și se exprimă prin dereglarea echilibrului activității vitale, creșterea incidenței bolilor sistemului nervos, cardiovasculare și cancerogene, scăderea reproducției și productivității lor. Metalele grele sunt emise în aer, apă și în sol de sursele poluante antropogene și de fenomenele naturale geologo-climatice, fiind acumulate, ulterior, de flora și fauna ecosistemelor respective.

Totodată, metalele grele biogene din componentele mediului ambiant, conținându-se în concentrații sub nivelul maxim admisibil, au un rol benefic de catalizare și menținere constantă a multiplelor procese fiziologice ale plantelor, animalelor și ale omului. În acest caz, nu putem vorbi despre poluarea mediului, deoarece prezența acestor metale grele sub nivelul CMA sau LMA are un rol esențial pentru menținerea vieții. Cercetările noastre de utilizare a unor metale biogene (*Zn*, *Mo*, *Co*, *Bi*, *Cr*) în suplimentele nutritive pentru hrana albinelor au demonstrat că ele se găsesc în natură, de regulă, în hipoconcentrații, de aceea administrarea acestora în rația albinelor contribuie la creșterea productivității lor [3-7].

Metalele grele toxice reprezintă o categorie de poluanți stabili, care, spre deosebire de poluanții organici, nu sunt biodegradabili, au caracter puțin mobil în general, de aceea persistă în compartimentele de stocare (sol, sedimente) o perioadă lungă de timp [8-10]. Una dintre problemele principale este că metalele grele au

un potențial de bioacumulare și bioamplificare, care poate conduce la creșterea persistenței poluantului în ecosistem, cu riscuri de termen lung. Prezența concentrațiilor ridicate ale metalelor toxice în sistemele ecologice, în special în cele agricole, poate cauza implicații serioase asupra sănătății animale și umane. Conform clasificării UNEP, *Pb* și *Cd* fac parte din prima clasă de pericol, purtând un caracter ubicvist de răspândire în natură [11]. De menționat că afecțiunile fiziologice în organismele vii apar ca urmare a intoxicațiilor cu metale grele doar în cazul în care conținutul acestora în componentele mediului depășesc nivelul maxim admisibil, reglementat în mare parte de noamele UE. Un studiu efectuat în Republica Moldova [12] a depistat dependența directă între conținutul de *Cd* din atmosferă și frecvența mortalității din cauza patologiilor cardiovasculare. Poluarea spațiului de zbor al albinelor cu metale grele și pulbere ale acestora provoacă toxicoze cronice la albine și reduc efectivul acestora [13].

Nivelul de poluare a mediului ambiant cu metale grele poate fi determinat prin metode fizice, chimice și bioindicatoare. Mai recent, o atenție deosebită se acordă organismelor vii ca indicatori ai poluării mediului. Bioindicatorii poluării pot fi animali și vegetali. Dintre bioindicatorii animali, în ultimul timp se pune tot mai mult accentul pe conceptul de apimonitoring [14]. Adică, prin evaluarea stării de sănătate a familiilor de albine și a calității produselor acestora s-ar putea estima gradul de poluare a mediului ambiant în diferite zone: agricole, industriale, de agrement etc. Aproape toate sectoarele de mediu (solul, apa, florile) sunt vizitate de albina meliferă. În final, o gamă vastă de produse sunt aduse în stup (nectar, polen, propolis, apă) și, odată cu ele, sunt accesați și poluanții întâlniți, contaminând prin aceasta familia de albine și produsele ei [15]. Albinele absorb poluanții direct din apă și aer, sau indirect, din polenul și nectarul colectat. Pe această cale albinele devin o sursă periculoasă de poluare a produselor apicole [13,15,16]. Potrivit unor comunicări [17-19], alături de albina meliferă, unele produse apicole (polenul, propolisul, mierea) de asemenea pot servi drept material valoros în investigarea calității mediului. Totuși, există multe controverse privind identificarea markerilor perfecți, dintre albine și produsele lor, ca bioindicatori în monitorizarea mediului. Spre exemplu, A.Roman et al. [20] consideră propolisul util în depistarea impertinențelor de mediu, iar K.Fakhimzadex și M.Lodenus [21] consideră albinele buni indicatori ai poluării cu metale grele a mediului urban și industrial.

Însă, majoritatea cercetătorilor [21-23 și al.] consideră că, dintre produsele apicole, polenul este cel mai potrivit bioindicator al mediului privind poluarea cu metale grele.

Cele mai eficiente procedee de monitorizare ecologică a conținutului de metale grele în mediul ambiant sunt cele de analiză chimică a tuturor componentelor mediului (aer, sol, apă, plante, animale etc.) prin metoda spectrometriei de absorbție atomică, efectuate frecvent și sistematic în diferite perioade ale anului, precum și cele cu utilizarea sistemelor tehnice de monitorizare, care efectuează controlul tuturor componentelor în diapazonul larg al parametrilor ce includ: grupuri de senzori pentru controlul ecologic, punctele de control și dispecerat, pupitrul dispeceratului central, stația de comunicare cosmică, precum și complexul automobilelor de acțiune operativă cu grupurile corespunzătoare de senzori [24]. Sistemele metrologice sus-menționate de măsurare și culegere a informațiilor permit evaluarea situației ecologice a unor regiuni geografice întregi, sunt extrem de laborioase, multiperiodice, durabile în timp și deosebit de costisitoare, ceea ce complică (împiedică) utilizarea lor pe larg în practică.

Întru diminuarea laboriozității și costului metodelor de evaluare ecologică a mediului ambiant, cercetătorii și-au focusat atenția în direcția aplicării metodelor indirecte de apreciere, utilizând în calitate de bioindicatori albinele melifere și produsele lor. Esența acestor metode constă în determinarea concentrațiilor de metale grele în bioindicatori prin metodele chimice de laborator și în compararea acestora cu concentrațiile de fond ale mediului. Spre exemplu, este cunoscut procedeul de evaluare a poluării mediului ambiant [25], ce include determinarea prin metoda spectrometriei de absorbție atomică a conținutului de metale grele în miere și păstură prelevate pe parcursul sezonului activității de zbor a albinelor și prin compararea acestuia cu datele literaturii privind valorile de fond, caracterizat prin aceea că, în prealabil, se prelevă de multiple ori mostre de miere și păstură pentru determinarea nivelului concentrațiilor de fond și de bază ale metalelor grele, specifice pentru regiunea respectivă, se elaborează scara (clasele) nivelurilor poluării, datele fiecărui punct de control se compară cu scara elaborată și se evaluează starea ecologică a teritoriului cercetat privitor la poluarea regiunii cu metale grele. Dezavantajul acestui procedeu constă în faptul că mierea și păstura nu sunt cele mai bune produse bioindicatoare ale mediului, deoarece: pe parcursul depozitării și maturizării în alveolele fagurelui acestea sunt supuse unor procese biologice de fermentare, transformare, conservare, iar concentrația metalelor grele se modifică (denaturează) comparativ cu produsele predecesoare culese din natură; probele de miere și păstură se

prelevă de prea multe ori pentru determinarea concentrațiilor de fond și de bază ale metalelor grele, ceea ce este destul de costisitor; comparația conținutului de metale grele în produsele apicole cu datele din literatură nu reprezintă repere oficiale, iar scara nivelurilor concentrației de fond (slab poluat) și de bază (mediu poluat) nu este comparabilă cu normele UE [26-28] sau СанПиН [29].

Din aceste considerente, în prezenta lucrare a fost propus ca scop cercetarea concentrațiilor unor metale grele (*Pb*, *Cd*, *Cu*), frecvent întâlnite în componentele mediului ambiant, și elaborarea unui procedeu auster de evaluare a gradului de poluare a mediului prin intermediul polenului colectat de albinele melifere.

Material și metode

Lucrările de cercetare au fost desfășurate pe probele componentelor de mediu ambiant (sol, flori) și de produs apicol (polen), prelevate din raza de zbor productiv al albinelor din stupinele amplasate la cules în patru situri cu diferit impact antropic, denumite simbolic: situl forestier, situl agricol, situl transport auto și situl industrial. În fiecare din aceste situri au fost amplasate câte 12 familii de albine pentru cercetare.

În situl forestier, familiile de albine au fost amplasate în Sectorul de Pădure nr.21, Cantonul nr.9, al Întreprinderii Silvice Ghidighici, mun. Chișinău. În acest sit predominau terenurile forestiere cu astfel de arbori și arbuști meliferi, cum sunt: stejarul, carpănul, frasănu, teiul, salcâmul alb, cornul, precum și unele plante erbacee spontane (trifoiul alb, sulfina etc.). Surse de poluare și activități antropice majore în raza de 3 km în jurul acestei stupine nu au fost identificate.

În situl agricol, familiile de albine au fost amplasate la marginea localității Brăviceni, raionul Orhei, unde predominau terenurile agricole cu vegetația meliferă de primăvară, cum sunt pomii fructiferi din grădinile casnice ale sătenilor și livezile plantate, rapița de toamnă și un șir de plante erbacee spontane situate pe pajiștile naturale, la marginea drumurilor și câmpurilor agricole. Principalele activități antropice și surse de poluare în acest sit au fost: activitățile agricole de protecție a livezilor, viilor și culturilor anuale agricole împotriva bolilor și dăunătorilor, terenul cu o suprafață de aproximativ 4 ha, pe care a fost amplasat cândva depozitul de pesticide (evacuat cu 2,5 decenii în urmă), tehnica agricolă care prelucrează agroceenozele adiacente, traseul național auto Chișinău - Bălți și alte surse minore.

În situl transport auto, familiile de albine au fost amplasate la marginea mun. Chișinău la o distanță de 350 m de șoseaua națională Balcani. Baza meliferă în acest sit a fost sărăcăcioasă și compusă din pomi fragmentari și arbuști meliferi din parcurile „Valea Gâștelor” și „La Izvor”, biocenoze agricole la marginea orașului și ierburi spontane naturale. Acest sit este influențat intens de traficul auto de pe traseul național cu sute de unități de transport de diferite categorii. Astfel, în orele de vârf, pe acest drum circulă peste 25 de autovehicule pe minut, sau peste 1500 de autovehicule într-o oră. Fiind îngustă, șoseaua nu permite mișcarea rapidă a traficului auto, ceea ce provoacă degajări imense de lungă durată a gazelor de așapament. În acest sector al orașului se mai află 12 stații de alimentare cu carburanți, piața comercială auto, fabrica de asfalt „Edilitate”, întreprinderea industrială SA „Topaz”, Combinatul Auto SA nr.5 etc.

În situl industrial familiile de albine au fost amplasate în apropierea străzii Industriale a mun. Chișinău. Acest sit este dominat de terenurile intravilane (63,1%), cu vegetație meliferă fragmentată și săracă. Sursele majore de poluare în acest sit fiind: transportul auto orășnesc, peste 20 de stații de alimentare cu carburanți, gazele fumigene ce vin dinspre oraș de la un șir de întreprinderi industriale, cum sunt: fabrica de sticlă, fabrica de produse chimice de uz casnic „Agurdino”, fabrica de cărămidă „Macon”, fabricile de beton armat (FEC), centralele electro-termice (CET-I și CET-II) etc.

Recoltarea probelor de sol a fost efectuată cu ajutorul burghiului la o adâncime de 0-25 cm din 12 locuri diferite din raza de zbor a albinelor. Probele de flori au fost colectate în amestec (mixte) de la diferite plante melifere, aflate la diferite distanțe de la stupină în raza de zbor a albinelor. Probele de polen au fost prelevate cu ajutorul colectorului de polen de la 12 familii de albine amplasate în situl respectiv. Conținutul de metale grele în polen a fost cercetat în doi ani consecutiv (2012, 2013). Analizele chimice de decelare a metalelor grele în componentele mediului și în polen au fost efectuate în laboratorul acreditat „Geolab” al Institutului de Geologie și Seismologie al Academiei de Științe a Moldovei. Concentrațiile de metale grele (*Pb*, *Cd*, *Cu*) în probele componentelor mediului ambiant și în polen au fost determinate prin metoda spectrometriei de absorbție atomică cu atomizare termică a elementelor în atomizator de grafit (GFAAS), folosind utilajul Analist 800f, Perkin Elmer, conform metodelor standardelor ISO: SM SR EN 11047-2006, SM SR EN 14084-2006 și SM SR EN 14083-2006 [30-32].

Relațiile dintre conținutul metalelor grele în componentele mediului (sol, flori) și în polen, în profil pe diferite situri, au fost cercetate prin determinarea coeficienților de corelație liniară a lui Pirson (r_{xy}) în softul computerizat „STATISTICA – 6”. Datele obținute în rezultatul cercetărilor au fost prelucrate conform statisticii biometrice variaționale, certitudinea lor fiind apreciată după metodele lui Н.А. Плехинский [33].

Rezultate și discuții

Polenul este un produs vegetal de complexitate înaltă, a cărui compoziție variază în mod semnificativ în conformitate cu variabilele de mediu, cum ar fi: regiunea unde este produs, flora predominantă, preferința albinelor, caracteristicile biochimice ale solului și perioada anului [2]. Din punct de vedere macroscopic, acesta este compus din grăuncioare de polen botanic, pe care albinele îl colectează de pe antelele staminelor florii, apoi este umectat cu ajutorul secreției salivare și transformat în ghemotoace, care sunt transportate în stup [34]. Polenul este considerat o substanță „curată”, dar în cazul în care mediul este poluat, atunci MG pot fi prezente în compoziția lui, uneori în concentrații semnificative [35, 36]. Două dintre principalele surse de poluare care pot fi absorbite de polen sunt: aerul atmosferic – prin particule de praf în suspensie și solul – prin absorbție și translocare [37]. În ambele cazuri, poluanții pot fi de natură organică, precum și de natură minerală. În al doilea caz, prevalarea de metale grele în minerale se datorează faptului că unele plante melifere posedă proprietăți de fitoacumulare a metalelor grele contribuind la bioamplificarea acestora [38].

Albinele lucrătoare culeg polenul de la diferite plante melifere, din diferite locuri ale ariei de zbor a sitului; astfel, acesta conține diferite concentrații de metale în dependență de mediul în care a fost cules.

Conținutul de Pb în polen. Rezultatele analizelor de laborator au demonstrat că Pb este prezent în polen în toate probele cercetate, variind în dependență de sit, de la minim – 0,072 mg/kg în situl forestier, până la 1,440 mg/kg în situl industrial (Tab.1).

Tabelul 1

Conținutul de Pb în polen, mg/kg

Denumirea sitului experimental	Concentrația medie, $M \pm m$	Min - max	Diferența față de situl forestier		t_d	p
			d	%		
anul 2012						
Situl forestier	0,224 ± 0,031	0,093 - 0,412				
Situl agricol	0,267 ± 0,024	0,153 - 0,422	0,043	19,2	1,09	> 0,1
Situl transport auto	0,798 ± 0,061	0,493 - 1,110	0,574	256,2	8,42	< 0,001
Situl industrial	0,840 ± 0,085	0,472 - 1,440	0,616	275,0	6,84	< 0,001
anul 2013						
Situl forestier	0,176 ± 0,021	0,072 - 0,297				
Situl agricol	0,208 ± 0,020	0,094 - 0,305	0,032	18,2	1,11	> 0,1
Situl transport auto	0,717 ± 0,052	0,573 - 1,09	0,541	307,4	10,02	< 0,001
LMA, UE*	3,0					
LMA, MD	3,0					

Notă: *Regulamentul CE 1881/2006 [39]; HG nr.520 din 22.06.2010 [40]

Examinând datele din anul 2012, am constatat că cea mai mare concentrație de Pb a fost înregistrată în polenul colectat din siturile industriale (0,840±0,085 mg/kg) și transport auto (0,798±0,061 mg/kg), iar cea mai scăzută – în polenul colectat din siturile forestiere (0,224±0,031 mg/kg) și agricole (0,267±0,024 mg/kg). Concentrația de Pb în polenul colectat din siturile industriale și transport auto depășea nivelul în polenul colectat din situl forestier, respectiv, cu 0,616 și cu 0,574 mg/kg, sau de 3,75 și de 3,56 ori ($t_d = 6,84$ și $8,42$; $P < 0,001$).

O situație similară a fost constatată și în anul 2013, în care concentrația de Pb în polenul colectat din situl transport auto (0,717±0,052 mg/kg) a fost semnificativ mai mare, comparativ cu cea în polenul colectat din siturile forestiere (0,176±0,021 mg/kg) și agricole (0,208±0,020 mg/kg), respectiv, cu 0,541 și cu 0,509 mg/kg sau de 4,1 și de 3,4 ori ($t_d = 10,0$ și $9,1$; $P < 0,001$).

Variabilitatea concentrației de Pb colectat din diferite situri se explică, după noi, prin influența asupra mediului ambiant a diferitelor surse emițătoare de poluanți din aceste zone, cum sunt transportul auto, întreprinderile industriale emițătoare de gaze de diferită proveniență.

Rezultate asemănătoare au fost relatate și de savanții italieni M.Conti și F.Botre [23], care au studiat conținutul de *Pb* în polen în diferite zone, obținând în probele de polen concentrații de la 20,0 până la 159 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în siturile nepoluate și de la 115 până la 335 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în siturile poluate (influențate de industrie și de fluxul de transport auto).

Ținem să menționăm că concentrația de *Pb* în polenul colectat de noi în toate siturile cercetate nu depășește limitele maxime admisibile de standardele Uniunii Europene (Regulamentul CE nr.1881/2006, [39]), cele moldovenești (HG 520, [40]), precum și cele rusești (СанПиН 42-123-4089–86 [29]). Prin urmare, putem concluziona că mediul ambiant din siturile cercetate de noi nu au fost poluate cu metalul greu *Pb*, iar concentrațiile acestuia înregistrate în polen au fost mult sub nivelul maxim admisibil, neprezentând careva pericole de alertă.

Conținutul de *Cd* în polen. În ambii ani de cercetare în toate probele de polen colectate a fost depistată prezența metalului greu *Cd*, în diferită concentrație, variind, în dependență de sit, de la minim 0,007 mg/kg în situl forestier până la 0,125 mg/kg în situl industrial (Tab.2).

Tabelul 2

Conținutul de *Cd* în polen, mg/kg

Denumirea sitului experimental	Concentrația medie, $M \pm m$	Min - max	Diferența față de situl forestier		t_d	P
			d	%		
anul 2012						
Situl forestier	0,026 \pm 0,003	0,008 - 0,052				
Situl agricol	0,038 \pm 0,003	0,021 - 0,055	0,012	46,2	2,85	< 0,01
Situl transport auto	0,043 \pm 0,008	0,009 - 0,110	0,017	65,4	2,12	< 0,05
Situl industrial	0,061 \pm 0,010	0,006 - 0,125	0,035	134,6	3,50	< 0,001
anul 2013						
Situl forestier	0,018 \pm 0,003	0,007 - 0,037				
Situl agricol	0,027 \pm 0,002	0,016 - 0,105	0,009	50,0	2,50	< 0,01
Situl transport auto	0,036 \pm 0,006	0,010 - 0,083	0,018	100,0	2,68	< 0,01
LMA, UE*	1,0					
LMA, MD	1,0					

Notă: *Regulamentul CE 1881/2006 [39]; HG nr. 520 din 22.06.2010 [40]

În anul 2012 de studiu, concentrația de *Cd* în polenul colectat din siturile industrial (0,061 \pm 0,010 mg/kg) și transport auto (0,043 \pm 0,008 mg/kg) a fost semnificativ mai mare, comparativ cu cea din polenul colectat din situl forestier (0,026 \pm 0,003 mg/kg) cu 0,035 și cu 0,017 mg/kg sau de 2,35 și de 1,65 ori ($t_d = 3,5$ și 2,1 ori; $P < 0,001$ și $P < 0,05$).

Concentrația de *Cd* în polenul colectat din situl agricol (0,038 \pm 0,003 mg/kg) a ocupat o poziție intermediară între concentrațiile acestui metal în siturile forestier și transport auto și este semnificativ mai mare, comparativ cu cea din polenul colectat în situl forestier, cu 0,012 mg/kg sau 46,2% ($t_d = 2,85$; $P < 0,01$).

O situație similară a fost constatată și în anul 2013, în care concentrația de *Cd* în polenul colectat din situl transport auto (0,036 \pm 0,006 mg/kg) și situl agricol (0,027 \pm 0,002 mg/kg) a fost semnificativ mai mare, comparativ cu cea din situl forestier (0,018 \pm 0,003 mg/kg), respectiv cu 0,018 și cu 0,009 mg/kg sau 100,0% și 50,0% ($t_d = 2,68$ și 2,50; $P < 0,01$).

După noi, concentrația mai mare de *Cd* din polenul colectat din siturile industrial și transport auto se explică prin prezența în siturile respective a surselor emițătoare de *Cd*, cum sunt: vulcanizarea anvelopelor și gazele fumigene industriale. În situl agricol, emisia de *Cd* a fost provocată de pesticidele și îngrășămintele folosite în agricultură, de arderea deșeurilor necontrolate etc.

Asemenea rezultate au fost relatate în anul 2000, în mai multe regiuni ale Italiei, de către cercetătorii M.Conti și F.Botre [23], care au înregistrat concentrații de *Cd* în polen de la 15 până la 81,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în siturile nepoluate (zone izolate) și de la 15 până la 90,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în siturile poluate (în apropierea zonelor industriale).

În încheiere, putem constata că atât în anul 2012, cât și anul 2013 nu au fost depistate concentrații de *Cd* în polen peste limita maximă admisibilă stabilită de normele europene. Aceasta demonstrează că mediul ambiant din siturile cercetate de noi nu erau poluate cu metalul greu *Cd*.

Conținutul de Cu în polen. Dat fiind faptul că Cu este un metal biogen, prezența acestuia a fost constatată, după cum ne așteptam, în toate probele de polen analizate, variind, în concentrații mult mai înalte decât Pb și Cd, de la minim 5,63 mg/kg în situl forestier până la maximum 14,96 mg/kg în situl agricol (Tab.3).

Astfel, în anul 2012 concentrația de Cu în polenul colectat din situl agricol ($13,17 \pm 0,8$ mg/kg) a fost mai mare, comparativ cu cea în polenul colectat din siturile forestier ($7,97 \pm 0,42$ mg/kg) și transport auto ($10,75 \pm 0,42$ mg/kg), respectiv, cu 5,20 și cu 2,42 mg/kg, sau 65,0 și 22,5% ($t_d = 5,8$ și $2,7$; $P < 0,001$ și $P < 0,01$). Concentrația de Cu în polenul colectat din situl industrial ($11,93 \pm 0,58$ mg/kg) a fost, de asemenea, mai mare decât cea în polenul din situl forestier cu 3,96 mg/kg, sau 49,7% ($t_d = 5,53$; $P < 0,001$).

În anul 2013, concentrația de Cu în polenul colectat din situl agricol ($12,07 \pm 0,44$ mg/kg) a fost, de asemenea, semnificativ mai mare, comparativ cu concentrația în polenul colectat din situl forestier, cu 4,89 mg/kg, sau 68,1% ($t_d = 10,2$; $P < 0,001$).

Tabelul 3

Conținutul de Cu în polen, mg/kg

Denumirea sitului experimental	Concentrația medie, $M \pm m$	Min - max	Diferența față de situl forestier		t_d	P
			d	%		
anul 2012						
Situl forestier	$7,97 \pm 0,42$	5,63 - 10,63				
Situl agricol	$13,17 \pm 0,80$	8,66 - 16,55	5,20	65,2	5,75	< 0,001
Situl transport auto	$10,75 \pm 0,42$	8,43 - 13,86	2,78	34,9	4,68	< 0,001
Situl industrial	$11,93 \pm 0,58$	8,82 - 14,61	3,96	49,7	5,53	< 0,001
anul 2013						
Situl forestier	$7,18 \pm 0,20$	6,04 - 8,22				
Situl agricol	$12,07 \pm 0,44$	9,82 - 14,96	4,89	68,1	10,2	< 0,001
Situl transport auto	$11,29 \pm 0,41$	9,18 - 13,15	4,11	57,2	9,01	< 0,001
LMA, Сан ПИИ*	15					

Notă: *СанПиИ 42-123-4089-86 [29]. Normele UE și MD nu reglementează conținutul de Cu în polen.

La fel, o diferență semnificativă mare a fost înregistrată între concentrația de Cu în polenul colectat din situl transport auto ($11,29 \pm 0,41$ mg/kg) și cel din situl forestier ($7,18 \pm 0,20$ mg/kg), depășind în primul sit cu 4,11 mg/kg sau 57,2% ($t_d = 9,11$; $P < 0,001$).

Mai evident, conținutul metalelor studiate în polen poate fi vizualizat în Figura 1.

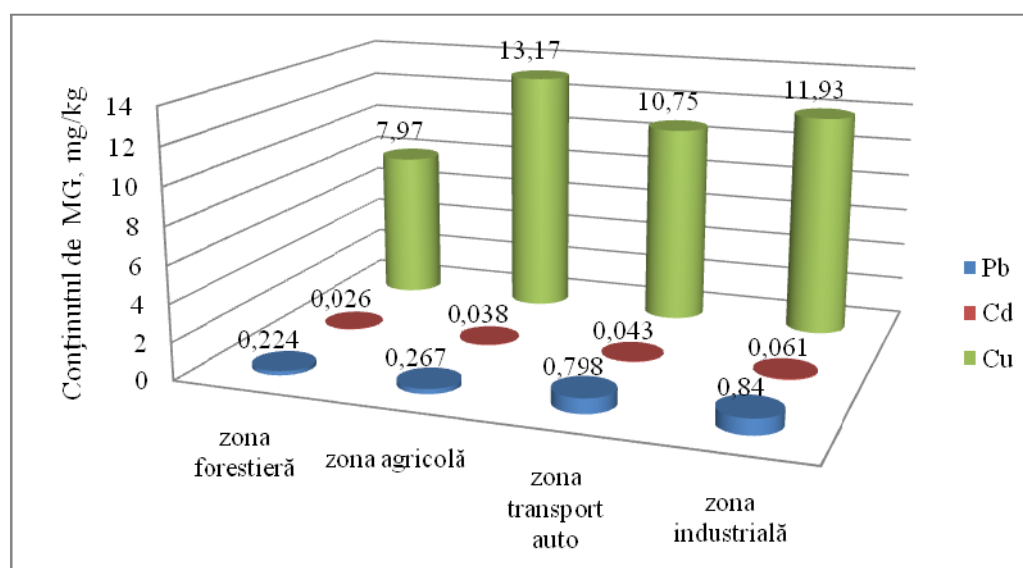


Fig.1. Conținutul mediu de Pb, Cd și Cu în polenul colectat din situri cu diferit impact antropic.

Din diagramă se vede că, dintre metalele cercetate, cea mai mare concentrație în polenul din toate siturile o are *Cu*, după care urmează *Pb* și apoi *Cd*. Concentrațiile mai ridicate de *Cu*, înregistrate în situl agricol în ambii ani de cercetare, pot fi explicate prin aplicarea sistematică de către cultivatorii de vii, livezi și legume a multiplelor tratamente cu preparate chimice cuprifforme, prin intermediul cărora a fost diseminat acest metal în componentele mediului ambiant, din care a ajuns și în polenul colectat de albine.

Rezultate asemănătoare au obținut și cercetătorii din Finlanda, K.Fakhimzadex și M.Lodenius [21], care au depistat concentrații de *Cu* în polen în limitele de 6,8–12 mg/kg în siturile nepoluate și de 7,8–19 mg/kg în siturile poluate (industrie, agricultură). Concentrații cu mult mai mari de *Cu* în polen, și anume: de 24,18±0,44 mg/kg au fost înregistrate de către A.Yahya et al. [19] în siturile agricole.

În condițiile Republicii Moldova, cercetări privind utilizarea albinei melifere și a produselor apicole în monitorizarea poluării mediului cu metale grele au fost efectuate doar sporadic de unii cercetători. Spre exemplu, I.Minceva [41] a determinat conținutul de *Pb* în flori și în miere, însă fără o analiză a corelațiilor acestora între ele.

La fel și cercetătorii N.Eremia et al. [42] au studiat conținutul de micro- și macroelemente în sol, frunzele plantelor melifere, albine și produsele lor, însă fără o analiză complexă și o comparație a valorilor acestor concentrații cu normele UE.

Generalizând rezultatele noastre privind conținutul de MG în polen, putem afirma că în ambii ani de cercetare cea mai mică concentrație de MG a fost înregistrată în polenul colectat din situl forestier și cea mai mare concentrație a acestor metale (cu excepția *Cu*) a fost constatată în polenul colectat din siturile industrial și transport auto. Rezultatele cercetării au demonstrat că conținutul de MG în polen variază în funcție de an și este în strânsă legătură cu specificul sitului în care a fost amplasată stupina.

Concentrații de MG ce depășesc limita maximă admisibilă stabilită de normele naționale și internaționale nu au fost înregistrate. Aceasta ne permite să afirmăm că mediul ambiant din siturile cercetate de noi nu a fost poluat cu metalele grele *Pb*, *Cd*, *Cu*.

Relația conținutului de MG în componentele mediului (sol, flori) și în polen

Trăsătura principală a metalelor grele este pătrunderea lor în mediul ambiant, migrarea și acumularea în lanțul trofic: sol–apă–flori–polen–miere–albine–ceară. Rezultatele cercetărilor demonstrează că odată cu creșterea concentrației de metale grele în sol crește și concentrația acestora în întreg lanțul trofic, inclusiv în polen (Tab.4).

Tabelul 4

Relația conținutului de MG în componentele mediului (sol, flori) și în polen,
($M \pm m$), mg/kg

Componente	Situl forestier	Situl agricol	Situl transport auto	Situl industrial	Norma CMA, LMA	
					mg/kg	Standard
<i>Pb</i>						
Sol	11,34±0,54	11,96±0,78	13,12±0,68	13,53±0,78	32,0	MD
Flori	0,117±0,025	0,211±0,021	0,228±0,039	0,252±0,029	0,3	UE
Polen	0,224±0,031	0,267±0,024	0,798±0,061	0,840±0,085	3,0	UE
<i>Cd</i>						
Sol	0,154±0,008	0,170±0,018	0,194±0,014	0,239±0,023	5,0	MD
Flori	0,021±0,005	0,029±0,005	0,040±0,014	0,057±0,011	0,2	UE
Polen	0,026±0,003	0,038±0,003	0,043±0,008	0,061±0,010	1,0	UE
<i>Cu</i>						
Sol	15,74±0,81	24,48±1,40	19,81±1,65	26,56±2,35	100	MD
Flori	7,85±0,70	10,97±1,14	9,99±0,58	12,02±0,77	10	СанПиН
Polen	7,97±0,42	13,17±0,80	10,75±0,42	11,93±0,58	15	СанПиН

Rezultatele cercetării demonstrează că acumularea *Pb* în flori este influențată evident de concentrația acestuia în sol. Odată cu creșterea concentrației de *Pb* în sol crește semnificativ concentrația acestui metal în flori și în polen. Din datele tabelului se vede că, odată cu creșterea concentrației de *Pb* în sol – de la 11,34±0,54 mg/kg în situl forestier până la 13,53±0,78 mg/kg în situl industrial, crește concomitent concen-

trația *Pb* în aceste situri în flori – de la 0,117±0,025 mg/kg până la 0,252±0,029 mg/kg și în polen – de la 0,224±0,031 mg/kg până la 0,840±0,085 mg/kg. Asemenea corelație se manifestă și între concentrația de *Pb* în flori și concentrația acestui metal în polen.

Din tabel se vede că odată cu creșterea conținutului de *Pb* în flori de la 0,117±0,025 mg/kg în situl forestier până la 0,252±0,029 mg/kg în situl industrial crește concomitent și conținutul de *Pb* în polen – de la 0,224±0,031 mg/kg până la 0,840±0,085 mg/kg. Prin urmare, analiza datelor sus-menționate demonstrează că între concentrația de *Pb* în componentele mediului (sol, flori) și concentrația acestui metal în componentele apicole (polen) există o corelație directă și pozitivă destul de strânsă.

Cercetările privind conținutul de *Cd* în sistemul menționat mai sus demonstrează că relația acestui metal cu componentele lanțului trofic este ca și în cazul plumbului.

Astfel, odată cu creșterea concentrației de *Cd* în sol, de la 0,154±0,008 mg/kg în situl forestier până la 0,170±0,018 mg/kg în situl agricol, la 0,194±0,014 mg/kg în situl transport auto și la 0,239±0,023 mg/kg în situl industrial, crește și conținutul acestui metal în flori: de la 0,021±0,005 mg/kg în situl forestier, la 0,029±0,005 mg/kg în situl agricol, la 0,040±0,014 mg/kg în situl transport auto și la 0,057±0,011 kg în situl industrial.

Cercetările privind analiza conținutului de *Cu* ne permite să relatăm că concentrația acestui metal în polen este în strânsă legătură cu conținutul acestuia în componentele mediului ambiant (sol, flori). Datele demonstrează că variabilitatea conținutului de *Cu* în sol provoacă o variabilitate adecvată a conținutului acestui metal în componentele apicole (polen). Am constatat că, odată cu creșterea conținutului de *Cu* în sol de la 15,74 ±0,81 mg/kg în situl forestier până la 24,48±1,40 mg/kg (crește cu 55,5%) în situl agricol, la 19,81±1,65 mg/kg (crește cu 25,8%) în situl transport auto și la 26,53±2,35 mg/kg (creștere cu 68,7%) în situl industrial, crește adecvat și conținutul acestui metal în flori – de la 7,85±0,70 mg/kg în situl forestier, până la 10,97±1,14 mg/kg (creștere cu 39,7%) în situl agricol, la 9,99±0,58 mg/kg (creștere cu 27,3%) în situl transport auto și la 12,02±0,77 mg/kg (creștere cu 53,1%) în situl industrial. În polen creșterea conținutului de *Cu*, comparativ cu situl forestier, a constituit, respectiv, 65,2% în situl agricol, 34,9% în situl transport auto și 49,7% în situl industrial.

Asemenea legitate cu ritmuri similare de creștere a conținutului de *Cu* în polenul din diferite situri a fost constatată și în funcție de conținutul acestui metal în flori.

Generalizând rezultatele cercetării relațiilor conținutului de metale grele (*Pb*, *Cd*, *Cu*) atât în componentele mediului, cât și în polen, am ajuns la concluzia că conținutul acestora este determinat în final, în mare parte, de concentrația metalelor în sol. Pentru confirmarea acestei concluzii au fost calculați coeficienții de corelație liniară a lui Pirson (r_{xy}) a conținutului de MG în sol și conținutul acestora în polen, cu determinarea criteriilor de certitudine (semnificație) a acestor coeficienți (Tab.5).

Tabelul 5

Coeficienții de corelare (r_{xy}) a conținutului de MG în sol și polen

Metalul greu	$r_{xy} \pm m_r$	t_r	P
<i>Pb</i>	0,96 ± 0,20	3,27	< 0,01
<i>Cd</i>	0,99 ± 0,10	9,90	< 0,001
<i>Cu</i>	0,92 ± 0,28	3,28	< 0,01

Datele obținute demonstrează că între concentrația metalelor cercetate (*Pb*, *Cd*, *Cu*) în relația sol-polen există o corelație pozitivă foarte strânsă (înalță). Coeficientul de corelație liniară a acestor componente corelative se încadrează în valorile de 0,92-0,99. Criteriul de certitudine a acestor corelații este de cele mai înalte praguri ale teoriei probabilității prognozelor fără eroare după Student ($t_r=3,28-9,90$; $P<0,01$ și $0,001$). În baza acestor rezultate, am concluzionat că, dintre produsele apicole analizate, polenul este cel mai potrivit bioindicator al mediului, privind poluarea cu metale grele. Dat fiind faptul că între concentrația de MG în componentele mediului (sol, flori) și conținutul acestora în polen au fost revelate corelații foarte strânse, putem concluda că anume polenul reprezintă amprenta mediului ambiant al sitului, deoarece acest produs apicol reflectă adecvat calitatea mediului.

Aceste cercetări ne-au permis să elaborăm un procedeu principal nou de evaluare a gradului de poluare a mediului ambiant cu MG prin utilizarea polenului în calitate de bioindicator la monitorizarea stării mediului

ambiant. Esența invenției constă în aceea că procedeul de evaluare a gradului de poluare a mediului ambiant include determinarea prin metoda spectrometriei de absorbție atomică a conținutului de metale grele în polenul proaspăt, prelevat o singură dată din colectorul de polen instalat la unul din stupi, în jurul căruia se evoluează mediul ambiant pe o rază de 2-4 km. Totodată, conținutul de metale grele în polen este comparat cu o scară de gradare a poluării mediului, elaborată prealabil ținându-se cont de depășirea concentrațiilor maximum admisibile (CMA) ale standardului UE, în următoarele categorii: nepoluat (conținutul de metale grele nu atinge CMA), slab poluat (conținutul de metale grele depășește CMA cu până la 20%), mijlociu poluat (conținutul de metale grele depășește CMA de la 20 până la 50%) și puternic poluat (conținutul de metale grele depășește CMA cu peste 50%). Procedeul de evaluare a gradului de poluare a mediului ambiant cu metale grele a fost înregistrat de AGEPI ca invenție depozitată prin nr. s 2015 0033 din 11.03.2015. Acest procedeu are o accesibilitate sporită de aplicare largă de către diferite persoane (fizice și juridice) cointeresate: ecologiști, apicultori, agricultori-cultivatori de produse agricole bio, asociații turistice, baze de odihnă și agrement, stațiuni sanatoriale etc.

Concluzii

1. Conținutul de MG în polen este în funcție de impactul antropic în diferite situri din raza de zbor a albinelor melifere și variază în medie: la conținutul de *Pb* – de la cel mai mic 0,176 mg/kg în situl forestier până la cel mai mare 0,840 mg/kg în situl industrial; la conținutul de *Cd* – de la cel mai mic 0,018 mg/kg în situl forestier până la cel mai mare 0,061 mg/kg în situl industrial; conținutul de *Cu* – de la cel mai mic 7,18 mg/kg în situl forestier până la cel mai mare 13,17 mg/kg în situl agricol.

2. Dintre toate siturile cercetate, cel mai mare conținut de MG (cu excepția *Cu*) a fost înregistrat în polenul colectat din situl industrial, iar *Cu* – în situl agricol, cea mai redusă concentrație de MG fiind înregistrată în polenul colectat din situl forestier.

3. Concentrațiile de MG în polen prelevat din toate siturile cercetate nu depășesc LMA stabilită în normele naționale (MD) și europene (UE), ceea ce confirmă faptul că mediul ambiant din aceste situri nu este poluat cu MG.

4. Acumularea MG în polen este influențată evident de concentrația acestora în sol și flori, deoarece între concentrația de MG în componentele mediului și concentrația acestui metal în polen există o corelație direct-liniară și pozitivă destul de strânsă. Coeficienții de corelare (r_{xy}) a conținutului de MG în sol și polen sunt foarte înalți și constituie: la *Pb* $r_{xy} = 0,96 \pm 0,20$, la *Cd* $r_{xy} = 0,99 \pm 0,10$ și la *Cu* $r_{xy} = 0,92 \pm 0,28$.

5. Polenul este cel mai potrivit bioindicator al mediului privind poluarea cu metale grele, deoarece acest produs apicol, comparativ cu alte produse, reflectă mai adecvat calitatea mediului.

6. Prin utilizarea polenului în calitate de bioindicator al mediului a fost elaborat un procedeu de evaluare a gradului de poluare a mediului ambiant cu MG, care a fost înregistrat de AGEPI ca invenție depozitată prin nr. s 2015 0033 din 11.03.2015.

Referințe:

- SMIDT, S. et al. Trace Metals and Radionuclides in Austrian Forest Ecosystems. In: *The Biosphere*, Dr. Natarajan Ishwaran, 2012, p.93-118.
- ALINE, S. et al. *Study of the Cu, Mn, Pb and Zn dynamics in soil, plants and bee pollen from the region of Teresina (PI)*, Brazil, 2012, p.881-889. www.scielo.br/aabc (Accesat: 12.06.2014). ISSN 1678-2690
- CEBOTARI, V., TODERAȘ, I., GULEA, A., BUZU, I. *The microelement molybdenum (Mo) in nutritional supplement for bees*. University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Iasi. Scientific papers. Animal Science. Ed. „Ion Ionescu de la Brad”. Iași, 2015, p.133-140. ISSN 2284-6964, ISSN-L 1454-7368
- CEBOTARI, V., BUZU, I., TODERAȘ, I., GULEA, A., POSTOLACHI, O., TODERICI, V., GLIGA, O. *Influence of some organic coordination compounds containing Co and Bi on development morpho-productive characters of the bee families*. University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest. Scientific papers. Series D. Animal Science. Ed. „CERES” Publ. House. Vol. LVIII. Bucharest, 2015, p.251-258. ISSN 2285-5750. CNCSIS B+
- TODERAȘ, I., RUDIC, V., GULEA, A., CEBOTARI, V., BUZU, I. *Influența remediilor organice bioactive de generație nouă asupra activității vitale a familiilor de albine Apis mellifera*. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Seria Științele Vieții*, 2014, nr.3 (324), p.4-15. ISSN 1857-064X, categoria B
- CEBOTARI, V., TODERAȘ, I., BUZU, I., RUDIC, V. *Use of chrome trace for vital activities functions stimulation of Apis mellifera bee colonies*. International Conference of University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest. Faculty of Animal Science. Scientific papers, Series D Animal Science, Volume LVI. România. Bucharest: Ceres, 2013, p.73-77. ISSN-L 2285-5750, CNCSIS B+

7. CEBOTARI, V., TODERAȘ, I., BUZU, I., RUDIC, V. *The role of „Apispir+Zn” biostimulator in increasing of productivity of Apis mellifera bee colonies.* University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Iasi. Scientific Papers. Series Animal Science. Vol. 59 (18). Iasi, 2013, p.103-107. CNCSIS B⁺, ISSN-L 1454-7368
8. ADRIANO, D. *Trace elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability and Risk of Metals.* Second edition, Springer, 2001. 867 p.
9. IORDACHE, V., ION, S., POHOAȚĂ, A. *Integrated modeling of metals biogeochemistry: potential and limits.* In: *Chemie der Erde*, 2009, no.69, p.125-169.
10. FORMICKI, Gh. et al. Metal Content in Honey, Propolis, Wax, and Bee Pollen and Implications for Metal Pollution Monitoring. In: *Pol. J. Environ. Stud.*, vol.22, 2013, no.1, p.99-106.
11. TĂRĂȚĂ, A. *Distribuirea substanțelor organohalogenate și a metalelor grele prioritare în solurile Republicii Moldova:* Autoreferat al tezei de doctor în științe biologice. Chișinău, 1998. 28 p.
12. ZUBCOV, E. *Metalele și viața. În: Mediul și sănătatea.* Chișinău, 2005, p.44-48.
13. PORRINI, C. et al. Use of honey bees as bioindicators of environmental pollution in Italy. In: *Honey bees: The Environmental Impact of Chemicals.* London, 2002, p.186-247.
14. ГРОБОВ, О.Ф. Пчелы индикаторы окружающей среды. В: *Пчеловодство*, 1989, № 12, с.2-5.
15. PORRINI, C. et al. Honey bee and bee products as monitor of the environmental contamination. In: *Apiacta*, 2003, 38, p.63-70.
16. РУСАКОВА, Т.М. и др. Исследование токсических элементов в продуктах пчеловодства. В: *Пчеловодство*, 2006, № 9, с.10-13.
17. BOGDANOV, S. Contaminants of bee products. In: *Apidologie*, Springer Verlag (Germany), 2006, 37 (1), p.1-18.
18. ROMAN, A. et al. Comparative study of selected toxic elements in propolis and honey. In: *Journal of Apicultural Science*, vol.55, 2011, no.2, p.97-106.
19. ЯНЬЯ, А. et al. Honey bees and their products as a bioindicator of environmental pollution with heavy metals pollution. In: *Mellifera*, Harum. 13-26:10-20, 2013, p.10-20.
20. ROMAN, A. et al. The propolis as a bioindicator of environmental heavy metals pollution. In: *Animal hygiene and sustainable livestock production.* Proceedings of the XVth International Congress of the International Society for Animal Hygiene, Vienna, Austria, 3-7 July 2011, vol.3, 2011, p.1151-1153.
21. FAKHIMZADEX, K. and LODENIUS, M. Honey, pollen and bee as indicators of metal pollution. In: *Acta Universitatis Carolinae Environmentalica*, 14, 2000, p.13-20.
22. КОРКИНА, В.И. *Пыльцевая обножка медоносных пчел как индикатор в апитомониторинге загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами.* Автореферат диссертации кандидата биологических наук. Новосибирск, 2009. 119 с.
23. CONTI, M., BOTRE, F. Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. In: *Environmental Monitoring and Assessment*, 2000, 69, p.267-282.
24. Патент изобретения RU 2145120, G08C 19/00 din 27.01.2000.
25. Патент изобретения RU 2428716, G01T1/169 din 10.09.2011.
26. Commission Regulation (EC) No. 834/2009 implementing Regulation (EC) No.716/2007 of the European Parliament and of the Council on Community statistic on the structure and activity of foreign affiliates, as regards the quality reports. JO al UE, L241, 2009, p.3-107.
27. Commission Regulation (EC) No. 271/2010 amending Regulation (CE) nr.889/2008 laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No. 834/2007, as regards the organic production logo of the European Union. JO al UE, L84, 2010, p.19-25.
28. Regulamentul (CE) nr.392/2013 al Comisiei de punere în aplicare a Regulamentului (CE) nr.889/2008 în ceea ce privește sistemul de control al producției ecologice. In: *JO al UE*, L118, 2013, p.1-10.
29. СанПиН 42-123-4089-86. *Предельно допустимые концентрации тяжелых металлов и мышьяка в продовольственном сырье и пищевых продуктах.* Москва, 1986. 45 с.
30. SM SR EN 11047-2006. *Calitatea solului. Determinarea cadmiului, cromului, cobaltului, cuprului, plumbului, manganului, nichelului și zincului din extracte în apă regală. Metode prin spectrometrie de absorbție atomică în flacără și cu atomizare electrotermică.* Standard Moldovean, Chișinău, 2006.
31. SM SR EN 14083-2006. *Produse alimentare. Determinarea microelementelor. Determinarea plumbului, cadmiului, cromului și molibdenului prin spectrometrie de absorbție atomică cu cuptor de grafit (GFAAS) după digestia sub presiune.* Standard Moldovean. Chișinău, 2006.
32. SM SR EN 14084-2006. *Produse alimentare. Determinarea microelementelor. Determinarea plumbului, cadmiului, zincului, cuprului și fierului prin spectrometrie de absorbție atomică (SAA) după digestie cu microunde.* Standard Moldovean. Chișinău, 2006.
33. ПЛОХИНСКИЙ, Н.А. *Руководство по биометрии для зоотехников.* Москва: «Колос», 1989. 256 с.

34. Colța, T. Calitatea produselor apicole. În: *Manualul Cursantului*. Ediția I. Ploiești: „LVS Crepuscul”, 2012, p.248-278.
35. CAMPOS, M. et al. Pollen composition and standardisation of analytical methods. In: *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 2008, 47(2), p.156-163.
36. RASHED, M., SOLTAN, Me. Major and trace elements in different types of Egyptian mono-floral and non-floral bee honeys. In: *J. Food Com. Anal.*, 2004, no.17, p.725-735.
37. WARD, N. *Trace elements. Environmental analytical chemistry*, 2nd ed., Australia, Blackwell Science, 2000, p.360-392.
38. AJASA, A. et al. Heavy trace metals and macronutrients status in herbal plants of Nigéria. In: *Food Chem.*, 2004, 85, p.67-71.
39. Regulamentul (CE) nr.1881/2006 al Comisiei din 19 decembrie 2006 de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare. In: *JO L 364*, 2006, p.5.
40. Hotărârea Guvernului Republicii Moldova cu privire la aprobarea regulamentului sanitar privind contaminanții din produsele alimentare, nr.520 din 22.06.2010. În: *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 2004, nr.83-87, art.431.
41. МИНЧЕВА, И. Содержание тяжелых металлов (Pb) в меде. В: *Anale Științifice ale Universității de Stat din Moldova*. Seria „Lucrări Studențești”. Chișinău, 2000, p.104-106.
42. EREMIA, N., DABIJA, T., DODON, I. Micro- and Macroelements Content in Soil, Plants Nectaro-Pollenifer Leaves, Pollen and Bees Body. In: *Animal Science and Biotechnologies*, 43 (2), Cluj Napoca, 2010, p.180-182.

Notă: Cercetările științifice au fost efectuate în cadrul Proiectului instituțional fundamental 15.817.02.12F „Diversitatea, structura și funcționarea complexelor faunistice naturale și antropizate în contextul fortificării strategiei securității naționale a Republicii Moldova”, cu contribuția bugetului de stat.

Prezentat la 17.02.2016

РЕПРОДУКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ САМОК *GASTEROSTEUS ACULEATUS**LINNAEUS, 1758* СРЕДНЕГО ДНЕСТРА

Нина ФУЛГА, Ион ТОДЕРАШ, Дмитрий БУЛАТ,
Денис БУЛАТ, Надежда РАЙЛЯН

Институт зоологии АН Молдовы

В условиях Среднего Днестра самки трехиглой колюшки выметывают три порции икры. Овуляция четвертой генерации яйцеклеток текущего сезона размножения не происходит из-за отсутствия условий для завершения накопления в них трофических веществ. Перед выметом очередной генерации яйцеклеток величина гонадосоматического индекса достоверно уменьшается ($P \geq 0,95$), что свидетельствует об уменьшении относительной массы яичников и количества желтковых ооцитов, формирующих вторую и третью генерации яйцеклеток данного сезона размножения. Величина абсолютной плодовитости самок достоверно возрастает при увеличении длины и массы тела рыбы ($P \geq 0,95$), тогда как значения относительной плодовитости достоверно уменьшаются с увеличением возраста производителей ($P \geq 0,99$).

Ключевые слова: яйцеклетка, гонадосоматический индекс, плодовитость, стадия зрелости гонад.

POTENȚIALUL REPRODUCTIV AL FEMELELOR SPECIEI *GASTEROSTEUS ACULEATUS**LINNAEUS, 1758* DIN SECTORUL NISTRULUI MEDIAL

În condițiile Nistrului medial femelele mature de *ghidrin* depun în sezonul reproductiv trei porții de icre. A patra generație de oocite nu reușește să ovuleze ca rezultat al imposibilității de a acumula substanțe de rezervă în procesul creșterii trofoplasmatică. Pe parcursul depunerii fiecărei porții de icre valoarea indicelui gonadosomatic (IGS) scade semnificativ ($P \geq 0,95$), ceea ce indică la micșorarea în dinamică a greutatei relative a ovarelor, inclusiv a ovocitelor vitelogene ce formează a doua și a treia generație de icre în sezonul reproductiv. Valoarea prolificității absolute crește semnificativ odată cu majorarea lungimii și greutatei corporale ($P \geq 0,95$), pe când valoarea prolificității relative scade odată cu înaintarea în vârstă a reproducătorilor ($P \geq 0,99$).

Cuvinte-cheie: ovule, indice gonadosomatic, prolificitate, stadiu de dezvoltare a ovarelor.

REPRODUCTIVE CAPACITE OF *GASTEROSTEUS ACULEATUS LINNAEUS, 1758* FEMALES FROM MIDDLE NISTRU

In the context of middle Dniester the three-spined stickleback female spawn three portions of eggs. The ovulation of the fourth generation of eggs in the current breeding season does not occur due to the lack of conditions for the completion of trophic substances accumulation. Before sweeping the next generation oocytes the value of gonadosomatic index is significantly decreasing ($P \geq 0.95$), which indicates a decrease in the relative weight of the ovaries and in the number of yolk oocytes, forming the second and third generation of the eggs of the given breeding season. The value of absolute fecundity of females significantly increases with the length and weight of the fish's body ($P \geq 0.95$), while the value of the relative fertility significantly decreases with increasing of age of producers ($P \geq 0.99$).

Keywords: oocyte, gonadosomatic index, fertility, gonad age of maturity.

Введение

Трехиглая колюшка (*Gasterosteus aculeatus*) характеризуется широким ареалом распространения в прибрежных морских и пресных водах северного полушария бассейнов Атлантического, Северного Ледовитого и Тихого океанов. В Европе этот вид обитает в водоемах Белого моря, Кольского полуострова, Исландии, а также в Белом, Средиземном и Черном морях. Вдоль Тихоокеанского побережья встречается от Берингова пролива до Кореи, Курильских и Японских островов, а также в Новой Зеландии, на Американском побережье – от Аляски до Южной Калифорнии [1, с.45].

Колюшка является короткоциклическим видом с многопорционным нерестом [2, с.115; 3, с.339]. Обычно самки откладывают несколько порций икры [4, с.176], однако у особей из Белого моря наблюдается только одна генерация созревших икринок в течение нерестового сезона [5, с.275]. Как показал Wootton R.J. [6, с.828], самки в экспериментальных условиях могут нереститься до 15 и более раз в сезон.

Воспроизводству рыб и влиянию разнообразных факторов среды на различные звенья репродуктивного процесса уделяется достаточно много внимания. Но в ихтиологической литературе сведения

об особенностях гаметогенеза инвазивного вида, которым является *Gasterosteus aculeatus*, ограничены. Имеются некоторые данные о развитии половых клеток этого вида в работах Зюганова [7, с.45], Мосягина [8, с.4], а также полученные в процессе экспериментального исследования созревания *Gasterosteus aculeatus* в период зимовки [9, с.1-6]. Одним из важнейших признаков, характеризующих воспроизводительную способность популяции, является величина плодовитости, которая изменяется по мере роста рыб и зависит от их обеспеченности пищей. Литературные сведения касаются рыб Белого моря [10, с.275; 11, с.463; 12, с.24], а также речной и проходной колюшки из рек Дальнего Востока [13, с.212,216].

Целью нашего исследования являлось выявление характера развития половых клеток, определение количества порций откладываемой икры, а также величины абсолютной и относительной плодовитости за весь период годового репродуктивного цикла у самок *Gasterosteus aculeatus* из Среднего Днестра.

Материал и методика

Сбор ихтиологического материала проводился в течение 2014-2015 годов, с мая по июль, в среднем участке реки Днестр. Лов рыбы осуществляли мальковой волокушей на глубинах до 2 метров. В период нерестового сезона все 160 отловленных самок были подвергнуты общему биологическому анализу с определением линейно-весовых показателей, возраста и коэффициента упитанности по Кларк [14, с.17,68]. Гонадосоматический индекс (ГСИ) вычисляли по отношению веса гонад к весу вспоротых рыб [15, с.81]. Для определения абсолютной плодовитости (АП) у самок, идущих на нерестилища, из яичника отбирали навеску массой от 0,10 до 0,50 г и подсчитывали в ней количество икринок, затем полученное число умножали на массу яичников. Относительную плодовитость определяли отношением количества икринок на 1 г общей массы тела рыбы. Гонадосоматический индекс вычисляли как процентное отношение массы гонад к массе тушки.

Для гистологических исследований пробы гонад фиксировали в 4% формалине с последующей обработкой по общепринятой методике [16, с.119-188]. Срезы толщиной 7 мкм. окрашивали по методу Маллори [17, с.200]. Стадии зрелости гонад определяли по Мейену с уточнениями [18, с.5-9], а степень развития яичников – по классификации [19, с.63-120]. Измерение диаметра яйцеклеток, завершивших вителлогенез, и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопа Axio Imager A2. Полученные данные обработаны статистически с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel-2007 и STATISTICA 6,0 for Windows.

Результаты исследований и их обсуждение

Возрастной состав самок в нерестовой части популяции *Gasterosteus aculeatus* был представлен рыбами от 2-х до 4-годовалого возраста. Значительную часть от общего вылова составили 3-х и 4-годовалые особи. Длина самок в выборке варьировала от 4,2 до 6,5 см, а масса тела – от 1,7 до 6,0 г. Средние значения длины и массы тела самок нерестовой части популяции представлены для двух возрастных групп (табл.1).

Таблица 1

Биологическая характеристика самок *Gasterosteus aculeatus* среднего участка Днестра

Возраст, годы	Длина тела, см	Масса тела, гр	АП шт.	ОП шт\гр
3	4,98±0,13	2,52±0,30	590±32	234±9
4	5,84±0,16	3,96±0,57	738±17	186±6

Гистологический анализ гонад у самок *Gasterosteus aculeatus* указывает на высокую асинхронность в развитии ооцитов, что обуславливает широкий диапазон числа откладываемых порций икры. Самки в Среднем Днестре в течение нерестового сезона вымётывают три генерации яйцеклеток. У беломорской колюшки в яичниках содержится только одна размерная группа ооцитов [20, с.24; 21, с.175]. В реках Курильских островов в гонадах колюшки выделяют от одной до трех генераций половых клеток [22, с.176]. В экспериментальной работе Wootton R. J. [23, с.830] показал, что на количество нерестов в сезон существенное влияние оказывает кормовая база водоема. Вследствие недостаточной обеспеченности кормом в преднерестовый период, колюшки в реке Ухтолок (п-ов Камчатка) вымётывают только первую генерацию икры, несмотря на порционное икротомление самок в данном водоеме [24, с.217].

Первое икрометание у рыб в Среднем Днестре происходит в мае, при температуре воды $9,2^{\circ}\text{C}$. В те же календарные сроки начинается нерестовый сезон у *Gasterosteus aculeatus* в Финском заливе [25, с.4]. В начале второй декады мая в Днестре попадаются как самки, отметавшие икру, так и особи, гонады которых находятся в преднерестовом состоянии. В зависимости от степени зрелости яичников гонадосоматический индекс принимает разные значения (табл.2). У одних самок яичники содержат ооциты, старшая генерация которых завершили вителлогенез и переходят в фазу созревания. Их размеры, в среднем, достигают $1106 \pm 17,44$ мкм. Гонады этих самок соответствуют IV-V стадии зрелости. На данном этапе развития ооцитов в их цитоплазме происходит слияние жировых капель и крупных гранул желтка в однородную массу. Когда вода в Днестре достигает нерестовых температур (в данном случае во второй декаде мая), происходит завершение процесса созревания ооцитов, которые содержат единую жировую каплю и однородный желток (рис.1). Гонадосоматический индекс принимает максимальное значение (табл.1). Коэффициент упитанности рыб в мае составляет, в среднем, $1,20 \pm 0,15$.

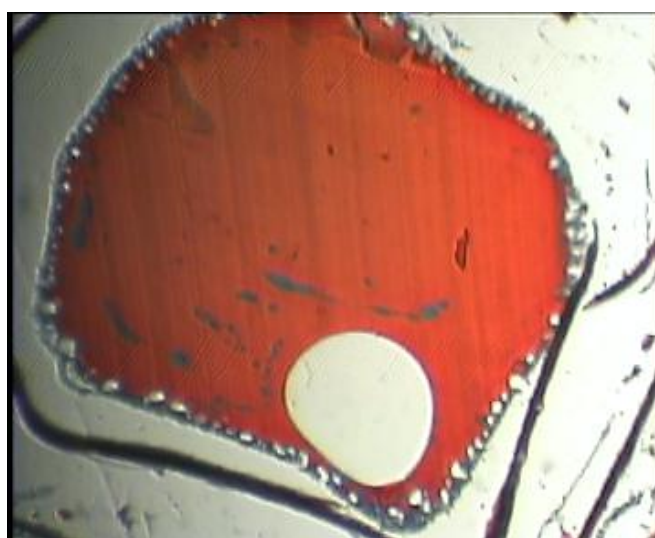


Рис.1. Ооцит в фазе созревания.

У другой группы самок в этот период уже произошел вымет первой генерации яйцеклеток. Их яичники переходят в VI-IV₂ стадию зрелости и содержат фолликулярные оболочки, невыметанные желтковые ооциты, а также половые клетки на разных фазах прото- и трофоплазматического роста. После нереста гонады содержат желтковые ооциты, старшая генерация которых находится в фазе интенсивного вителлогенеза. Средний размер их составляет $723 \pm 12,3$ мкм. Основная масса клеток второй генерации представлена ооцитами в фазах вакуолизации цитоплазмы. Вследствие этого величина гонадосоматического индекса значительно снижается (табл.2).

Таблица 2

Состояние гонад у половозрелых самок трехиглой колюшки в период репродуктивного цикла

Календарные сроки	Стадии зрелости	ГСИ%	Фазы развития ооцитов
Май II декада	IV-V VI-IV ₂	$41,5 \pm 2,40$ $26,45 \pm 0,68$	Переход ооцитов первой генерации в фазу созревания. Освободившиеся фолликулярные оболочки. Вителлогенез ооцитов второй генерации
Июнь II декада	IV ₂ -V VI-IV ₃	$29,48 \pm 1,06$ $20,36 \pm 1,28$	Переход ооцитов второй генерации в фазу созревания. Освободившиеся фолликулярные оболочки. Вителлогенез ооцитов третьей генерации.
Июль I декада	IV ₃ -V VI-IV ₄	$22,05 \pm 0,93$ $16,41 \pm 1,32$	Переход ооцитов второй генерации в фазу созревания. Вителлогенез ооцитов третьей генерации. Освободившиеся фолликулярные оболочки. Тотальная резорбция четвертой генерации яйцеклеток

На основании экспериментальной работы, С.Б. Подушка [26, с.3] выявил характерную особенность ооцитов, завершивших вакуолизацию, и указал на неоднородность вакуолей по их химической природе. Перед началом вителлогенеза вакуоли образуют два слоя: внутренний, прилегающий к ядру, представляет собой жировые включения, и наружный, содержащий полисахариды. Образование обоих типов вакуолей происходит одновременно. Полностью вакуолизованные яйцеклетки у колюшки из Днестра имеют в диаметре $452 \pm 12,2$ мкм.

Во второй декаде июня в контрольных уловах попадаются самки, отметавшие вторую порцию икры, и особи, в гонадах которых содержатся яйцеклетки периода созревания. Второе икрометание колюшки в Днестре отмечено при температуре воды 12°C . После вымета второй генерации яйцеклеток, яичники переходят в VI-IV₃ стадию зрелости. Растянутый нерест определяется не только неравномерностью созревания гонад, но и порционным икрометанием.

Данные, приведенные в таблице 2, показывают более низкое значение ГСИ перед выметом второй генерации яйцеклеток. Величина этого показателя у рыб с гонадами на IV₂-V стадии зрелости достоверно ниже ($P \geq 0,95$), чем у особей перед первым икрометанием. Коэффициент упитанности рыб в июне несколько ниже, чем в мае, и составляет, в среднем, $1,17 \pm 0,11$.

Вымет третьей генерации яйцеклеток начинается в первой декаде июля. При повышении температуры воды в Днестре до 15°C созревание ооцитов происходит в течение короткого промежутка времени за счет активизации накопления в них желтка. В результате третий за сезон нерест происходит через 18 дней после вымета икры второй генерации. В своих работах В.В. Зюганов [27, с.46] и С.Б. Подушка [28, с.4] отметили зависимость скорости созревания яйцеклеток колюшки от температуры воды и продолжительности светового дня. О прошедшем нересте свидетельствуют спавшиеся фолликулярные оболочки среди дегенерирующих ооцитов четвертой генерации. Признаками деструктивных изменений являются: набухание собственной оболочки ооцита, разрушение гранул желтка и слияние их содержимого в гомогенную массу, смещение и вакуолизация ядра (рис.2). Причиной нарушений в развитии половых клеток четвертой генерации может служить отсутствие гидрологических условий, необходимых для завершения процессов вителлогенеза и созревания яйцеклеток. Коэффициент упитанности рыб в июле снижается до $1,02 \pm 0,09$, но его величина не имеет достоверных различий ($P \leq 0,95$) по отношению к предыдущим значениям этого показателя в мае и июне.

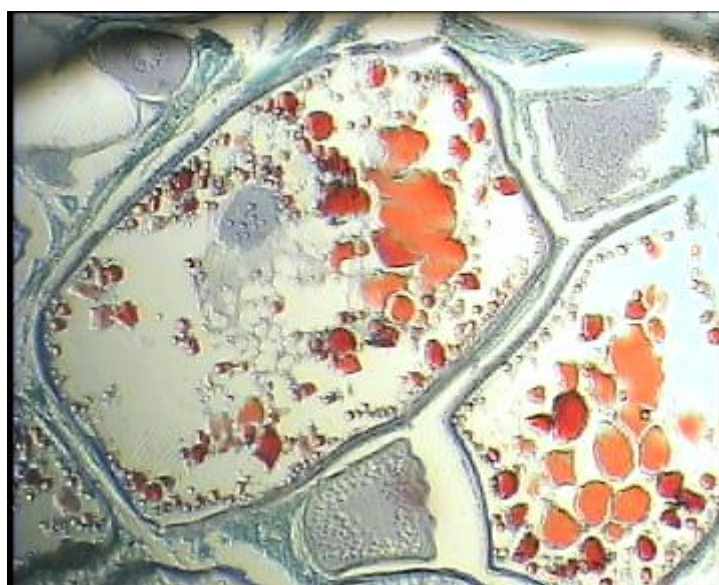


Рис.2. Дегенеративные изменения в ооцитах IV генерации.

В течение летних месяцев в гонадах колюшки нами выявлены резорбирующиеся вителлогенные ооциты у всех трех генераций (рис.3). Процесс резорбции проходит параллельно с развитием яйцеклеток, формирующих очередную порцию икры.

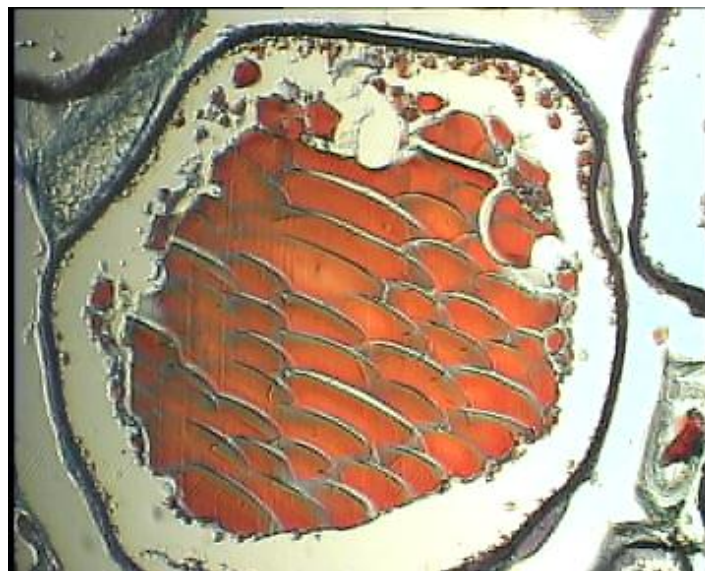


Рис.3. Желтковый ооцит в процессе резорбции.

Перед выметом третьей генерации ооцитов гонадосоматический индекс достоверно ниже ($P \geq 0,95$) в сравнении с таковым перед овуляцией первой и второй генераций яйцеклеток (табл.2). Это свидетельствует об уменьшении относительной массы яичников и количества желтковых ооцитов, формирующих вторую и третью генерацию яйцеклеток данного сезона размножения. Снижение числа половых клеток, завершивших трофоплазматический рост в последующих генерациях, установлено и у других инвазивных видов рыб [29, с.35].

После каждого очередного икротетания, на VI-IV₂, VI-IV₃ и VI-IV₄ стадиях зрелости гонад, наблюдается снижение величин ГСИ (табл.2). Это связано с тем, что в яичниках остаются, в основном, ооциты в фазах вакуолизации цитоплазмы и небольшое количество яйцеклеток в фазе интенсивного вителлогенеза.

Таким образом, в течение нерестового сезона (май-июль) динамика гонадосоматического индекса отражает три пика, указывая на формирование и овуляцию трех генераций яйцеклеток в предстоящий нерестовый сезон, а вителлогенные ооциты четвертой генерации подвергаются тотальной резорбции.

Средняя АП у четырехгодовалых самок достоверно выше, чем у трехгодовалых особей ($P \geq 0,95$) (табл.1). Известно, что плодовитость рыб закономерно возрастает с увеличением линейно-весовых показателей [30, с.73]. У колюшки из рек Курильских островов, при созревании трех генерации ооцитов, имеющей более высокие значения длины и массы тела, этот показатель выше и в среднем составляет 700-900 икринок [31, с.176]. Средняя ОП достоверно выше у трехгодовалых самок по сравнению с более крупными четырехгодовалыми особями ($P \geq 0,99$) (табл.1). В литературе имеются аналогичные сведения и для трехиглой колюшки из Кандалакшского залива Белого моря [32, с.22].

Выводы

1. В Среднем Днестре обитает трехиглая колюшка с асинхронным развитием ооцитов и трехкратным икротетанием. Овуляция четвертой генерации яйцеклеток текущего сезона размножения не происходит из-за отсутствия условий для завершения накопления в них трофических веществ, что является следствием их тотальной резорбции.
2. При повышении температуры воды в реке в июле до 15⁰С в ооцитах активизируются процессы желткообразования, что способствует их созреванию в течение короткого промежутка времени. В результате вымет яйцеклеток третьей генерации происходит через 18 дней после завершения самками икротетания второй генерации.
3. Перед выметом очередной генерации яйцеклеток величина гонадосоматического индекса достоверно уменьшается ($P \geq 0,95$), что свидетельствует об уменьшении относительной массы яичников и количества желтковых ооцитов, формирующих вторую и третью генерацию яйцеклеток данного сезона размножения.

4. Величина абсолютной плодовитости трехиглой колюшки достоверно возрастает при увеличении длины и массы тела рыбы ($P \geq 0,95$), тогда как значения относительной плодовитости достоверно уменьшаются с увеличением возраста производителей ($P \geq 0,99$).

Литература:

1. ЗЮГАНОВ, В.В. *Семейство колюшковых (Gasterostiedae) мировой фауны*. Ленинград: Наука, 1991. 261 с.
2. SOKOLOWSKA, E., KULCZYKOWSKA, E. Annual reproductive cycle in two free living populations of three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.): patterns of ovarian and testicular development. In: *Oceanologia*, 2006, vol. 48, no.1, p.103-124.
3. WOOTTON, R.J. The inter-spawning interval of the female three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. In: *J. Zool.*, 1974, vol. 172, p.331-342.
4. ПИЧУГИН, М.Ю., СИДОРОВ, Л.В., ГРИЦЕНКО, О.Ф. Биологические и морфологические особенности трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* Курильских островов. В: *Вопр. ихтиол.*, 2003, т. 43, № 2, с.169-177.
5. КУЗНЕЦОВ, В.В. *Белое море и биологические особенности его флоры и фауны*. Ленинград: Наука, 1960. 322 с.
6. WOOTTON, R.J. Effect of food limitation during the breeding season on the size, body components and egg production of female sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). In: *J. An. Ecol.*, 1977, vol. 46, no.3, p.823-834.
7. ЗЮГАНОВ, В.В. Указ. соч.
8. МОСЯГИНА, М.В., ОТСТАВНАЯ, Е.Г., ИВАНОВА, Т.С. Об особенностях оогенеза трехиглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus* L.) Белого моря. В: *Тезисы докладов IX научной сессии морской биологической станции Санкт-Петербургского государственного университета*, 2008, с.4.
9. ПОДУШКА, С.Б. Некоторые особенности созревания в экспериментальных условиях самок трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L в период зимовки. В: *Вестник Ленингр. ун-та. Серия Биология*. 11 с. (Деп. в ВИНТИ, 1976, № 3444-76).
10. КУЗНЕЦОВ, В.В. Указ. соч.
11. МУХОМЕДИЯРОВ, Ф.Б. Трехиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus* Кандалакшского залива Белого моря. В: *Вопр. ихтиол.*, 1966, т.6, вып.3 (40), с.454-467.
12. ЕРШОВ, П.Н. О плодовитости трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 Кандалакшского залива Белого моря. В: *Вестник СПбГУ*, 2008, сер.3, вып.4, с.19-25.
13. ПИЧУГИН, М.Ю., ПАВЛОВ, Д.С., САВВАЙТОВА, К.А. Жизненный цикл и структура популяций трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* (сем. Gasterosteidae) в реках северо-западной Камчатки (на примере реки Ухтолок). В: *Вопр. ихтиол.*, 2008, т. 48, № 2, с.211-220.
14. ПРАВДИН, И.Ф. *Руководство по изучению рыб*. Москва, 1966. 376 с.
15. ВИЛЬСКИС, Р.С. (Ответственный редактор) *Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах их ареалов*. Ч.II. Вильнюс: Мокслас, 1976, с.5-133.
16. ЕЛЕСЕЕВ, В.Г. (Под редакцией). *Основы гистологии и гистологической техники*. Москва: Медицина, 1967, 268 с.
17. РОСКИН, Г.И., ЛИВЕНСОН, Л.Б. *Микроскопическая техника*. Москва: Советская наука, 1957. 478 с.
18. САКУН, О.Ф., БУЦКАЯ, Н.Ф. *Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб*. Москва: Наука, 1963. 17 с.
19. КАЗАНСКИЙ, Б.Н. Особенности функции яичников у рыб с порционным икрометанием. В: *Труды лаборатории основ рыбоводства*. Т.2. Ленинград, 1949, с.64-121.
20. ЕРШОВ, П.Н. Указ. соч.
21. КУЗНЕЦОВ, В.В. Указ. соч.
22. ПИЧУГИН, М.Ю., СИДОРОВ, Л.В., ГРИЦЕНКО, О.Ф. Указ. соч.
23. WOOTTON, R.J. Op. cit.
24. ПИЧУГИН, М.Ю., СИДОРОВ, Л.В., ГРИЦЕНКО, О.Ф. Указ. соч.
25. ПОДУШКА, С.Б. Указ. соч.
26. ПОДУШКА С.Б. Указ. соч.
27. ЗЮГАНОВ, В.В. Указ. соч.
28. ПОДУШКА, С.Б. Указ. соч.
29. ТРАВКИНА, Г.Л. Особенности оогенеза и динамики развития ооцитов у ротана-головешки (*Percottus glenii* Dub.) В: *Труды Биол. НИИ СПбГУ*, 1997, вып. 44, с.29-38.
30. НИКОЛЬСКИЙ, Г.В. *Теория динамики стада рыб*. Москва: Наука, 1965. 378 с.
31. ПИЧУГИН, М.Ю., СИДОРОВ, Л.В., ГРИЦЕНКО, О.Ф. Указ. соч.
32. ЕРШОВ, П.Н. Указ. соч.

Работа выполнена по фундаментальному проекту Института зоологии 15.817.02.12F

Prezentat la 14.04.2016

ORDER PLEURONECTIFORMES IN GIANH ESTUARY FROM VIETNAM

*Ho Anh TUAN**Vinh University, Nghe An province, Vietnam*

Analysis and identification of 34 specimens of Order Pleuronectiformes in Gianh estuary from Vietnam. We have classified 11 species belong to 8 genera, 4 families. In which, 10 species: *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel, 1846); *Pseudorhombus cinnamoneus* (Temminck & Schlegel, 1846); *Pseudorhombus malayanus* Bleeker, 1865; *Engyproson longipelvis* Amaoka, 1969; *Achiroides melanorhynchus* (Bleeker, 1850); *Aseraggodes xenicus* (Matsubara & Ochiai, 1963); *Heteromycteris japonicus* (Temminck & Schlegel, 1846); *Cynoglossus cynoglossus* (Hamilton, 1822); *Cynoglossus lingua* Hamilton, 1822; *Cynoglossus puncticeps* (Richardson, 1846) were recorded for the first time distribution in Gianh estuary.

Keywords: *Paralichthyidae, Bothidae, Soleidae, Cynoglossidae, Gianh estuary, Classification, Vietnam ichthyofauna.*

ORDINUL PLEURONECTIFORMES ÎN ESTUARUL GIANH DIN VIETNAM

Articolul este axat pe analiza și identificarea a 34 specimene ale ordinului Pleuronectiformes în estuarul Gianh din Vietnam. Noi am clasificat 11 specii aparținând la 8 genuri, 4 familii. Dintre acestea, 10 specii: *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel, 1846); *Pseudorhombus cinnamoneus* (Temminck & Schlegel, 1846); *Pseudorhombus malayanus* Bleeker, 1865; *Engyproson longipelvis* Amaoka, 1969; *Achiroides melanorhynchus* (Bleeker, 1850); *Aseraggodes xenicus* (Matsubara & Ochiai, 1963); *Heteromycteris japonicus* (Temminck & Schlegel, 1846); *Cynoglossus cynoglossus* (Hamilton, 1822); *Cynoglossus lingua* Hamilton, 1822; *Cynoglossus puncticeps* (Richardson, 1846) sunt înregistrate pentru prima dată în estuarul Gianh.

Cuvinte-cheie: *Paralichthyidae, Bothidae, Soleidae, Cynoglossidae, Estuar Gianh, Clasificare, ihtiofauna Vietnamului.*

Introduction

The most obvious characteristic of the flatfish is its asymmetry, with both eyes lying on the same side of the head in the adult fish. In some families, the eyes are usually on the right side of the body, and in others, they are usually on the left. The primitive spiny turbot include equal numbers of right- and left-sided individuals, and are generally less asymmetrical than the other families. Other distinguishing features of the order are the presence of protrusible eyes, another adaptation to living on the seabed, and the extension of the dorsal fin onto the head. The surface of the fish facing away from the sea floor is pigmented, often serving to camouflage the fish, but sometimes with striking coloured patterns. Some flatfishes are also able to change their pigmentation to match the background, in a manner similar to a chameleon. The side of the body without the eyes, facing the seabed, is usually colourless or very pale. The flounders and spiny turbot eat smaller fish, and have well-developed teeth. They sometimes seek prey in the midwater, away from the bottom, and show fewer extreme adaptations than other families. The soles, by contrast, are almost exclusively bottom-dwellers, and feed on invertebrates. They show a more extreme asymmetry, and may lack teeth on one side of the jaw.

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 were 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.

We use the following materials to Identification species: D.A. Hensley, K.Amaoka (2001); Johnson T.F. Chen, Herman T.C. Weng (1965); Keiichi Matsuura, Seishi Kimura, Ukkrit Satapoomin (2003, 2005, 2009); Mai Dinh Yen et al (1978, 1992); A.G.K. Menon (1977); Nguyen Van Hao (2005); Rainboth J. Walter (1996); Tetsji Nakabo (2002); Tran Dac Dinh et al. (2013); T.A. Munroe (2001); K.Yokogawa, H.Endo, H.Sakaji (2008) [1-16].

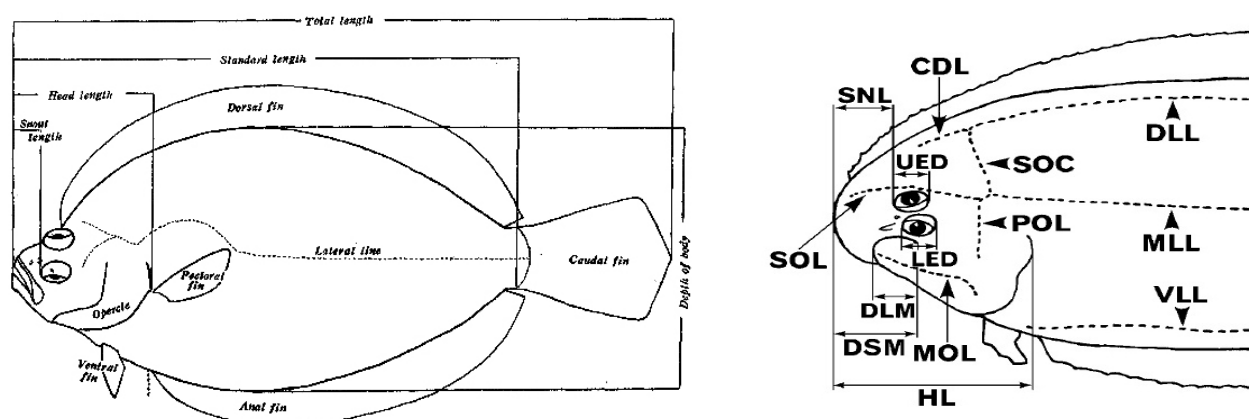


Figure 1. Diagram of a typical flatfish with terms used in the measurements by Johnson T. F. Chen, Herman T. C. Weng (1965) and Koji Yokogawa et al. (2008)

Notes: DLL: Dorsolateral line; MLL: Midlateral line; VLL: Ventrolateral line; CDL: Cephalodorsal line; SOL: Supraorbital line; MOL: Mandibulo-opercular line; SOC: Supraorbital commissure; POL: Preopercular line; HL: Lateral head length; SNL: Snout length; UED: Upper eye diameter; LED: Lower eye diameter; DSM: distance from tip of fleshy snout to angle of mouth; DLM: distance from tip of lower jaw to angle of mouth.

Results and discussion

1. Family Paralichthyidae

Diagnostic characters: Body ovate. Head large, 3 to 4.4 times in standard length. Two nostrils on each side of head, the anterior nostril with a flap posteriorly. Eyes separated by a bony ridge. Mouth rather large, teeth uniserial in both jaws. Gill rakers palmate, of moderate length or short, with posterior serrations. Caudal fin double truncate; pectoral fins not elongate, middle 6 to 9 rays branched on eyed side, but all rays unbranched on blind side; pelvic fins short-based, subequal and subsymmetrical in position. Scales cycloid or ctenoid on both sides; lateral line equally developed on both sides, with a distinct curve above pectoral fins and a supratemporal branch, running upward to anterior part of dorsal fin. Four plates of caudal skeleton with deep clefts along distal margins [2].

1.1. *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel, 1846)

Synonyms. *Hippoglossus olivaceus* Temminck & Schlegel, 1846.

Material examined. (1 specimens)

Short description (Figure 2)

Meristics. Dorsal = 46; Pectoral = 13; Pelvic = 6; Anal = 37; Caudal = 19; Cephalodorsal line = 10; Scales of DLL to MLL = 31; Scales of MLL to VLL = 33; Lateral line = 83.

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = (54.09); Dorsal fin length = (12.95); Anal fin length = (14.18); Lateral head length = (31.90).

Proportions as % Lateral head length (HL): Snout length = (22.9); Upper eye diameter = (24.4); Lower eye diameter = (21.7); Interorbital width = (3.8); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = (34.3); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = (30.7)

1.2. *Pseudorhombus cinnamoneus* (Temminck & Schlegel, 1846)

Synonyms. *Rhombus cinnamoneus* Temminck & Schlegel, 1846.

Material examined. (4 specimens)

Short description (Figure 3)

Meristics. Dorsal = 78 - 89; Pectoral = 12 - 13; Anal = 60 - 69; Caudal = 19; Lateral line = 75 - 84.

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = 49.50 (47.91 - 50.28); Dorsal fin length = 10.95 (9.84 - 11.85); Anal fin length = 11.13 (10.45 - 12.15); Caudal fin length = 26.98 (26.72 - 27.18); Lateral head length = 30.95 (29.80 - 32.54).

Proportions as % Lateral head length (HL): Snout length = 23.26 (22.08 - 25.25); Upper eye diameter = 22.80 (22.04 - 23.48); Lower eye diameter = 21.76 (21.09 - 22.91); Interorbital width = 4.86 (3.91 - 7.28); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = 36.84 (35.55 - 37.44) = Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = 35.22 (33.57 - 36.94)

1.3. *Pseudorhombus malayanus* Bleeker, 1865**Material examined.** (2 specimens)**Short description** (Figure 4)

Meristics. Dorsal = 73 - 74; Pectoral = 11 - 12; Pelvic = 6; Anal = 57 - 59; Caudal = 17; Cephalodorsal line = 12; Mandibulo-opercular line = 18 - 20; Scales of DLL to MLL = 28; Scales of MLL to VLL = 30; Lateral line = 75 - 79.

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = 48.59 (48.50 - 48.69); Dorsal fin length = 12.95 (11.74 - 14.16); Anal fin length = 12.45 (12.17 - 12.73); Caudal fin length = 25.89 (24.97 - 26.80); Lateral head length = 31.37 (30.76 - 31.98).

Proportions as % Lateral head length (HL): Snout length = 21.44 (21.02 - 21.85); Upper eye diameter = 20.91 (20.28 - 21.55); Lower eye diameter = 23.86 (23.01 - 24.70); Interorbital width = 5.24 (4.47 - 6.01); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = 34.04 (32.89 - 35.19); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = 30.58 (30.07 - 31.09).

2. Family Bothidae

Diagnostic characters: Body shape variable, deep to elongate, compressed. Margin of preopercle distinct, not covered by skin and scales; males of some species show various combinations of sexually dimorphic characters on head such as wider interorbital areas and rostral and/or orbital spines with eyes on left side of head, reversals rare; some species with tentacles on the eyes. Dorsal-fin origin above or ahead of anterior margin of upper eye; no fin spines; urinary papilla on eyed side; caudal fin not attached to dorsal and anal fins; in some species certain fin rays are elongate in the males; pectoral fin of blind side present but shorter than pectoral fin on eyed side; pelvic fins present, pelvic fin of eyed side on midventral line with origin anterior to origin of pelvic fin of blind side; pelvic fin of blind side above midventral line. Lateral line of eyed side with high arch over pectoral fin; lateral line absent below lower eye. Five series of intermuscular bones present [1].

2.1. *Engyproson longipelvis* Amaoka, 1969**Material examined.** (3 specimens)**Short description** (Figure 5)**Meristics.** Dorsal = 84 - 85; Pectoral = 9 - 10; Pelvic = 6; Anal = 64 - 66; Caudal = 18

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = 59.09 (57.78 - 61.05); Dorsal fin length = 15.04 (13.59 - 15.97); Anal fin length = 12.60 (12.21 - 13.14); Caudal fin length = 25.61 (24.36 - 27.07); Lateral head length = 25.76 (25.13 - 26.17).

Proportions as % HL: Snout length = 23.90 (23.64 - 24.30); Upper eye diameter = 33.22 (32.05 - 33.83); Lower eye diameter = 33.42 (32.26 - 34.35); Interorbital width = 25.79 (25.46 - 26.21); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = 32.41 (31.68 - 33.05); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = 28.43 (27.36 - 29.26).

3. Family Soleidae

Diagnostic characters: Oval or somewhat elongate and strongly compressed flatfishes with eyes on right side of body. Preopercle without free margin, embedded in skin. Mouth small and asymmetrical, terminal or slightly inferior; snout sometimes hook-shaped; teeth small, villiform, better developed on blind-side jaws. No spines in fins; dorsal fin extending far forward on head; dorsal and anal fins completely separate from, adherent to, or fused with caudal fin; pectoral fins sometimes absent, when present, right usually longer than left; pelvic fins sometimes asymmetrical, either free or joined to anal fin. Scales moderately large, cycloid or ctenoid, sometimes modified into skin flaps fringed with sensory filaments. Lateral line single and straight on body sometimes branched on head [13].

3.1. *Achiroides melanorhynchus* (Bleeker, 1850)

Synonyms. *Achiroides melanorhynchus* (Bleeker, 1850); *Synaptura achira* Duncker, 1904; *Plagusia melanorhynchus* Bleeker, 1850; *Eurypleura melanorhyncha* (Bleeker, 1850); *Synaptura melanorhyncha* (Bleeker, 1850)

Material examined. (5 specimens)**Short description** (Figure 6)

Meristics. Dorsal = 74 - 78; Pectoral = 12; Pelvic = 6; Anal = 58 - 59; Caudal = 17 - 18; Scales of DLL to MLL = 21; Scales of MLL to VLL = 29; Lateral line = 91.

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = 51.41 (49.16 - 52.63); Dorsal fin length = 12.84 (11.37 - 14.64); Anal fin length = 13.26 (11.80 - 15.20); Caudal fin length = 20.37 (18.67 - 21.74); Lateral head length = 25.40 (24.04 - 27.24).

Proportions as % HL: Snout length = 25.37 (23.91 - 26.90); Upper eye diameter = 19.23 (18.89 - 19.58); Lower eye diameter = 25.27 (24.19 - 26.85); Interorbital width = 11.64 (10.14 - 12.80); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = 33.34 (31.33 - 34.91); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = 31.63 (29.77 - 33.48).

3.2. *Aseraggodes xenicus* (Matsubara & Ochiai, 1963)

Synonyms. *Parachirus xenicus* Matsubara & Ochiai, 1963; *Aseraggodes smithi* Woods, 1966.

Material examined. (1 specimens)

Short description (Figure 7)

Meristics. Dorsal = 61; Pelvic = 6; Anal = 39; Caudal = 17; Scales of DLL to MLL = 23; Scales of MLL to VLL = 26; Lateral line = 64.

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = (43.99); Dorsal fin length = (14.65); Anal fin length = (14.88); Caudal fin length = (30.77); Lateral head length = (20.79).

Proportions as % HL: Snout length = (41.02); Upper eye diameter = (29.74); Lower eye diameter = (30.54); Interorbital width = (16.77); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = (41.42); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = (35.23).

3.3. *Heteromycteris japonicus* (Temminck & Schlegel, 1846)

Synonyms. *Achirus japonicus* Temminck & Schlegel, 1846; *Heteromycteris japonica* (Temminck & Schlegel, 1846).

Material examined. (2 specimens)

Short description (Figure 8)

Meristics. Dorsal = 93; Pelvic = 5; Anal = 63 - 64; Caudal = 19; Scales of DLL to MLL = 25; Scales of MLL to VLL = 33; Scales in longitudinal series beside VLL = 105.

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = 36.67 (36.14 - 37.19); Dorsal fin length = 8.70 (8.29 - 9.12); Anal fin length = 8.41 (7.97 - 8.86); Caudal fin length = 21.76 (20.94 - 22.59); Lateral head length = 25.24 (24.32 - 26.15).

Proportions as % HL: Snout length = 35.53 (34.86 - 36.19); Upper eye diameter = 15.83 (15.43 - 16.24); Lower eye diameter = 12.89 (12.64 - 13.14); Interorbital width = 9.37 (8.59 - 10.16); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = 67.11 (66.40 - 67.82); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = 42.65 (42.03 - 43.26).

3.4. *Solea ovata* Richardson, 1846

Synonyms. *Microbuglossus ovatus* (Richardson, 1846); *Solea humilis* Cantor, 1849.

Material examined. (10 specimens)

Short description (Figure 9)

Meristics. Dorsal = 61 - 69; Pectoral = 7 - 8; Pelvic = 5 - 6; Anal = 44 - 51; Caudal = 18.

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = 51.5 (49.2 - 53.3); Dorsal fin length = 11.6 (10.2 - 12.6); Anal fin length = 11.9 (10.1 - 13.8); Caudal fin length = 23.5 (21.0 - 25.8); Lateral head length = 24.4 (22.4 - 26.1).

Proportions as % HL: Snout length = 31.3 (29.8 - 32.6); Upper eye diameter = 27.2 (24.9 - 28.4); Lower eye diameter = 30.8 (28.7 - 32.7); Interorbital width = 11.1 (9.4 - 14.5); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = 35.7 (33.1 - 37.8); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = 26.3 (24.8 - 28.2).

4. Family Cynoglossidae

Diagnostic characters: Lance or tongue-shaped flatfishes with eyes on left side of body; body highly compressed and tapering to a point posterior. The eyes small and usually close together. Mouth small, subterminal, asymmetrical; reaching posterior to the point between verticals at anterior and posterior margins of lower eye or slightly posterior to lower eye; jaws moderately curved on eyed side and notably on blind side; teeth minute and usually only on blind-side jaws; lips fringed with labial papillae in Paraplagusia. Rostral hook usually present below mouth. Posterior margin of preopercle strongly attached to opercle, without free margin and covered with skin and scales. No spiny rays in dorsal, anal, and pelvic fins; dorsal fin reaching far forward onto head; dorsal and anal fins confluent with caudal fin; pectoral fins absent; usually only right pelvic fin present. Scales small, ctenoid or cycloid (smooth). The lateral lines variable [7, 14].

4.1. *Cynoglossus cynoglossus* (Hamilton, 1822)

Synonyms. *Achirus cynoglossus* Hamilton, 1822; *Plagusia oxyrhynchus* Bleeker, 1851; *Cynoglossus hamiltonii* Günther, 1862; *Cynoglossus buchmanii* Day, 1870; *Cynoglossus deltae* Jenkins, 1910.

Material examined. (2 specimens)

Short description (Figure 10)

Meristics. Dorsal = 93 - 98; Pelvic = 4; Anal = 66 - 69; Caudal = 24; Cephalodorsal line = 18; Mandibulo-opercular line = 25 - 27; Supraorbital line = 12 -13; Preopercular line = 9 -11; Dorsolateral line = 128 - 129; Midlateral line = 92 - 116; Scales of DLL to MLL = 17; Scales of MLL to VLL = 22 - 25; Scales in longitudinal series beside DLL = 98 - 121; Scales in longitudinal series beside VLL = 99 - 105

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = 30.95 (30.08 - 31.81); Dorsal fin length = 8.04 (6.95 - 9.13); Anal fin length = 8.48 (7.48 - 9.48); Caudal fin length = 14.08 (13.85 - 14.31); Lateral head length = 20.82 (20.58 - 21.05).

Proportions as % HL: Snout length = 30.06 (29.09 - 31.02); Upper eye diameter = 17.12 (16.72 - 17.52); Lower eye diameter = 16.04 (15.33 - 16.75); Interorbital width = 3.44 (3.39 - 3.50); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = 22.26 (22.21 - 22.31); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = 17.93 (17.58 - 18.29).

4.2. *Cynoglossus lingua* Hamilton, 1822

Synonyms. *Areliia lingua* (Hamilton, 1822); *Pleuronectes potous* Cuvier, 1829; *Plagusia macrorhynchus* Bleeker, 1851; *Cynoglossus acinaces* Jenkins, 1910.

Material examined. (3 specimens)

Short description (Figure 11)

Meristics. Dorsal = 126 - 138; Anal = 97 - 114; Caudal = 10; MLL = 90 - 101; SOL = 11 -12.

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = 30.49 (29.68 - 31.77); Dorsal fin length = 10.04 (9.89 - 10.26); Anal fin length = 8.99 (8.60 - 9.57); Caudal fin length = 11.20 (10.33 - 11.65); Lateral head length = 20.95 (20.27 - 21.45).

Proportions as % HL: Snout length = 29.57 (28.03 - 30.74); Upper eye diameter = 11.17 (10.67 - 11.81); Lower eye diameter = 13.83 (13.34 - 14.52); Interorbital width = 4.91 (4.37 - 5.21); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = 25.03 (24.25 - 25.58); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = 20.78 (18.91 - 22.07).

4.3. *Cynoglossus puncticeps* (Richardson, 1846)

Synonyms. *Plagusia puncticeps* Richardson, 1846; *Plagusia brachyrhynchus* Bleeker, 1851; *Cynoglossus brevis* Günther, 1862; *Cynoglossus puncticeps immaculata* Pellegrin & Chevey, 1940.

Material examined. (1 specimens)

Short description (Figure 12)

Meristics. Dorsal = 91; Pelvic = 4; Anal = 76; Caudal = 12; Cephalodorsal line = 12; Mandibulo-opercular line = 21; Supraorbital line = 10; Preopercular line = 14; Dorsolateral line = 98; Ventrolateral line = 16; Scales of DLL to MLL = 19.

Morphometric. Proportions as % standard length (SL): Body depth = (32.82); Dorsal fin length = (7.80); Anal fin length = (7.86); Caudal fin length = (12.65); Lateral head length = (20.46).

Proportions as % HL: Snout length = (31.9); Upper eye diameter = (15.3); Lower eye diameter = (15.2); Interorbital width = (4.9); Distance from tip of fleshy snout to angle of mouth = (26.5); Distance from tip of lower jaw to angle of mouth = (20.8).

Conclusion

The analysis and identification of 34 specimens of Order Pleuronectiformes in Gianh estuary from Vietnam. We have classified 11 species belong to 8 genera, 4 families. In which, 10 species: *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel, 1846); *Pseudorhombus cinnamoneus* (Temminck & Schlegel, 1846); *Pseudorhombus malayanus* Bleeker, 1865; *Engyproson longipelvis* Amaoka, 1969; *Achiroides melanorhynchus* (Bleeker, 1850); *Aseraggodes xenicus* (Matsubara & Ochiai, 1963); *Heteromycteris japonicus* (Temminck & Schlegel, 1846); *Cynoglossus cynoglossus* (Hamilton, 1822); *Cynoglossus lingua* Hamilton, 1822; *Cynoglossus puncticeps* (Richardson, 1846) were recorded for the first time distribution in Gianh estuary.



Figure 2. *Paralichthys olivaceus*



Figure 3. *Pseudorhombus cinnamoneus*



Figure 4. *Pseudorhombus malayanus*



Figure 5. *Engyproson longipelvis*



Figure 6. *Achiroides melanorhynchus*



Figure 7. *Aseraggodes xenicus*



Figure 8. *Heteromycteris japonicus*



Figure 9. *Solea ovata*



Figure 10. *Cynoglossus cynoglossus*



Figure 11. *Cynoglossus lingua*



Figure 12. *Cynoglossus puncticeps*

Reperences:

1. HENSLEY, D.A., AMAOKA, K. FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. Bothidae. Rome. 2001. Vol.6, p.3799-3814.
2. AMAOKA, K., HENSLEY D.A. FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. Paralichthyidae. Rome. 2001. Vol.6, p.3842-3862.
3. Johnson T. F. Chen, Herman T. C. Weng. A review of the flatfishes of Taiwan. Tokai University. Vol.7. No.2. 1965, 30 p.
4. Keiichi Matsuura, Seishi Kimura. Fishes of Libong Island West coast of Southern Thailand. Ocean Reseach Institute, University of Tokyo. 2005, p.78.
5. Mai Dinh Yen. Identification of freshwater fishes of northern Vietnam. Science & Technics Publishing House, Ha Noi. 1978. 339 p. (In Vietnamese).
6. Mai Dinh Yen et al. Identification of freshwater fishes of southern Viet Nam. Science & Technics Publishing House. 1992. (In Vietnamese).
7. Menon A. G. K. A Systematic Monograph of the Tongue Soles of the Genus *Cynoglossus* Hamilton - Buchanan (Pisces: Cynoglossidae). Smithsonian Cotribution to zoology. Smithsonian institution press. City of Washington. 1977, no.238. 140 p.
8. Nguyen Van Hao. Freshwater fishes of Vietnam. Agriculture Publishing House Hanoi. 2005. Vol.3. (In Vietnamese).
9. Rainboth J. Walter. Fishes of the Cambodian Mekong. University of Wisconsin Oshkosh. U.S.A. 1996. 265 p.
10. Seishi Kimura, Keiichi Matsuura. Fishes of Bitung Northern Tip of Sulawesi, Indonesia. The University of Tokyo. Printed in Japan. 2003, p.244.
11. Seishi Kimura, Ukkrit Satapoomin, Keiichi Matsuura. Fishes of Andaman Sea West coast of Southern Thailand. The National Muesum of Nature and Science, Tokyo. 2009, p.346.
12. Tetsji Nakabo. Fishes of Japan. Printed in Japan. 2002. 1749 p.
13. MUNROE, T.A. FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. Soleidae. Rome. 2001. Vol.6, p.3878-3889.
14. MUNROE, T.A. FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. Cynoglossidae. Rome. 2001. Vol.6, p.3890-3901.
15. Tran Dac Dinh, Shibukawa Koichi, Nguyen Thanh Phuong, Ha Phuoc Hung, Tran Xuan Loi, Mai Van Hieu, Utsugi Kenzo. Fishes of the Mekong Delta, Vietnam. Can Tho University Publishing House. 2013. 174 p.
16. YOKOGAWA, K., ENDO, H., SAKAJI, H. *Cynoglossus ochiaii*, a new tongue sole from Japan (Pleuronectiformes: Cynoglossidae). Bull. Natl. Mus. Nat. Sci. Ser. A. Supl. 2008. 2. p.115-127.

Prezentat la 03.02.2016

**GLOBULINELE DE REZERVĂ 7S DIN SEMINȚE CA ALERGENI.
IMUNOREACTIVITATEA ÎNCRUCIȘATĂ ÎNTRE
GLOBULINELE DE REZERVĂ 7S ȘI 11S**

Ala CHERDIVARĂ, Angela RUDAKOV, Andrei ȘUTOV

Universitatea de Stat din Moldova

Printre proteinele de rezervă din semințe globulina 7S din arahide, Ara h1, prezintă cea mai înaltă alergenicitate. În secvență aminoacidică a Ara h1 au fost identificați numeroși determinanți antigenici (epitopii IgE). A fost demonstrată prezența unor potențiali epitopi IgE în regiunile structural echivalente de secvențe omoloage ale 7S globulinelor din alte plante (în special, din soia). S-a stabilit existența probabilă a imunoreactivității încrucișate între Ara h1 și subunitățile Gly m G5 ale globulinei 11S din soia.

Cuvinte-cheie: globuline de rezervă din semințe, alergeni, epitopi IgE, arahide, soia.

SEED STORAGE 7S GLOBULINS AS ALLERGENS.

CROSS IMMUNOREACTIVITY BETWEEN STORAGE 7S AND 11S GLOBULINS

Among seed storage proteins, the peanut 7S globulin Ara h1 exhibits a highest allergenicity. Multiple antigen determinants (IgE epitopes) have been identified inside the Ara h1 amino acid sequence. The presence of potential IgE epitopes inside structurally equivalent homologous sequence regions of 7S globulins from other plants (mainly from soybeans) was shown. Probable existence of a cross-immunoreactivity between Ara h1 and the subunits of soybean 11S globulin Gly m G5 was demonstrated.

Keywords: seed storage globulins, allergens, IgE epitopes, peanut, soybeans.

Introducere

Conform datelor prezentate în SDAP (Structural Database of Allergenic Proteins) [1], o gamă relativ largă de globuline de rezervă 7S din semințe, utilizate în produsele alimentare, sunt alergeni (Tab.1).

Tabelul 1

Subunitățile alergenilor 7S

Alergenul	Numărul de accesare	Specia	
Ara h1* [2]	P43238	<i>Arachis hypogaea</i>	Ara
Ara h1	P43237		
Gly m α	18536	<i>Glycine max</i>	Gly
Gly m α'	Q9FZP9		
Gly m β	256427		
Len c 1.0101* [10]	29539109	<i>Lens culinaris</i>	Len
Len c 1.0102	29539111		
Vig r 2.0101	Q198W3	<i>Vigna radiata</i>	Vig
Vig r 2.0201	B1NPN8		
Lup an 1.0101	169950562	<i>Lupinus angustifolius</i>	Lup
Jug r 2	6580762	<i>Juglans regia</i>	Jug
Jug n 2	31321844	<i>Juglans niger</i>	
Cor a 11	19338639	<i>Corylus avellana</i>	Cor
Ses i 3	13183177	<i>Sesamum indicum</i>	Ses
Pis v 3.0101	133711973	<i>Pistacia vera</i>	Pis
Ana o 1.0101	21914823	<i>Anacardium occidentale</i>	Ana
Ana o 1.0102	21666498		

*Notă:**- subunitățile în secvențele cărora au fost identificați determinanții antigen (epitopii IgE). În coloana din dreapta sunt indicate denumirile abreviate ale alergenilor utilizați în Figura 3.

Printre globulinele 7S cea mai înaltă alergenicitate manifestă alergenul 7S din arahide, Ara h1 [2,3]. Subunitățile Ara h1 aparțin globulinelor 7S de tipul convicilinelor, ale căror secvențe conțin prelungirea N-terminală variabilă. O parte din această prelungire în molecula matură a Ara h1 este eliminată în timpul procesingului proteolitic posttranslațional [4].

Structura terțiară a subunităților Ara h1 (pdb|3s7e [5] și pdb|3smh [6]), tipică pentru familia globulinelor 7S, este formată din domeniile N- și C-terminale structural echivalente, ale căror secvențe sunt omoloage. În molecula oligomeră a Ara h1 subunitățile sunt combinate în trimeri.

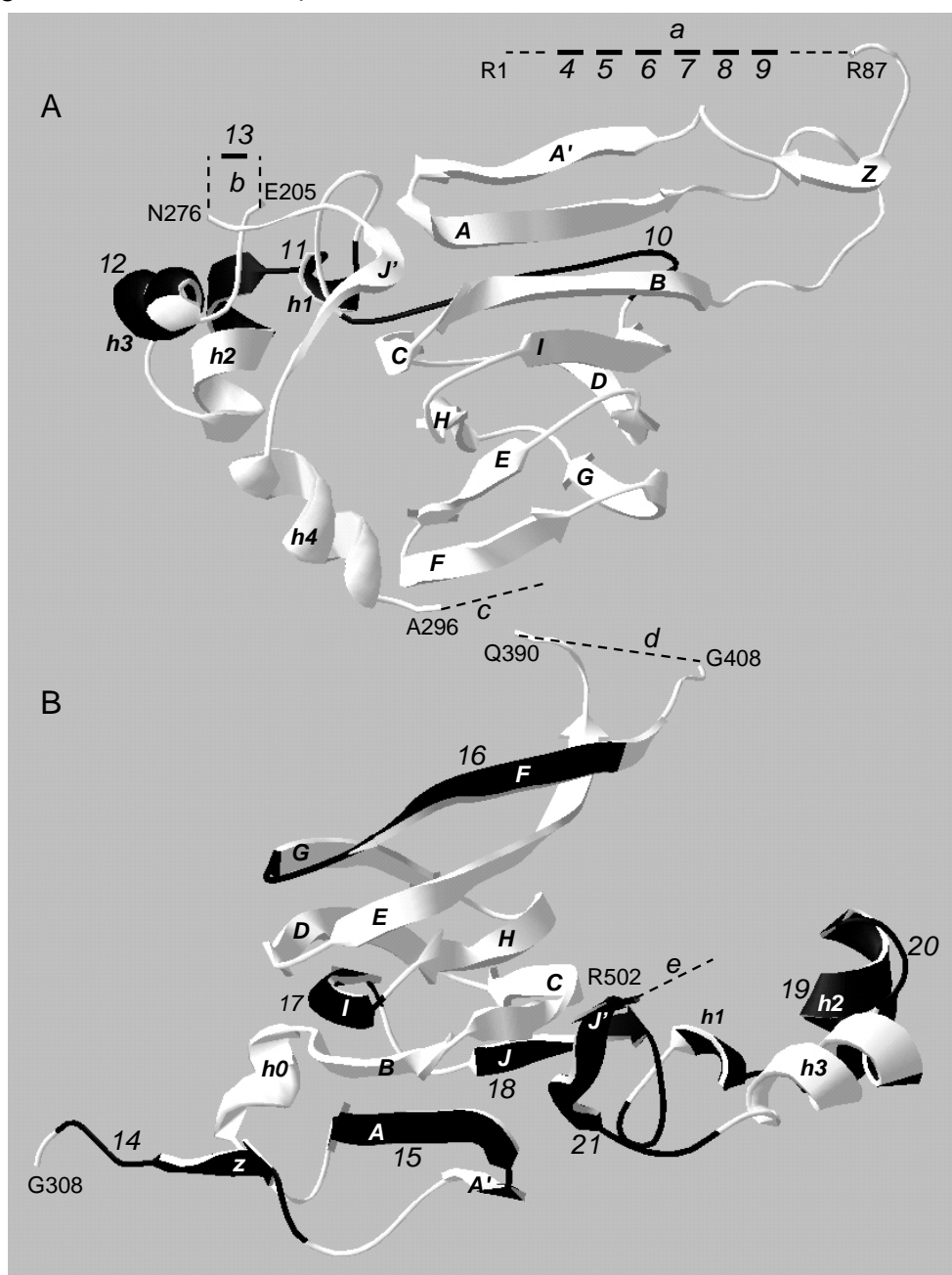


Fig.1. Diagrama panglică a structurii terțiare a domeniilor N- (A) și C-terminale (B) ale alergenului 7S, Ara h1 (pdb|3s7e) *Arachis hypogaea*. Baza structurii domeniilor Ara h1 și a altor globuline 7S (de asemenea, a globulinelor 11S) o constituie β -barrel cu β -strendurile anitiparelele BCDEFGHI, unit cu un grup de α -helixuri h1-h3 și suplimentat cu β -strendurile A', A și J, J' și α -helixul h0. β -strendul Z suplimentar stabilizează interacțiunile între domenii. În structura domeniului N-terminal al globulinelor 7S este prezent α -helixul h4. Liniile punctate indică poziția regiunilor alungite nestructurate a-e în secvența Ara h1. Zonele negre ale diagramelor corespund epitopilor IgE 4-21, prezenți în molecula matură a Ara h1 [2].

În subunitățile Ara h1 au fost identificați numeroși determinanți antigenici (epitope IgE) [2], prezenți preponderent în secvențele prelungirii N-terminale a moleculei mature (epitopii 4-9) și ale domeniului C-terminal (Fig.1,2).

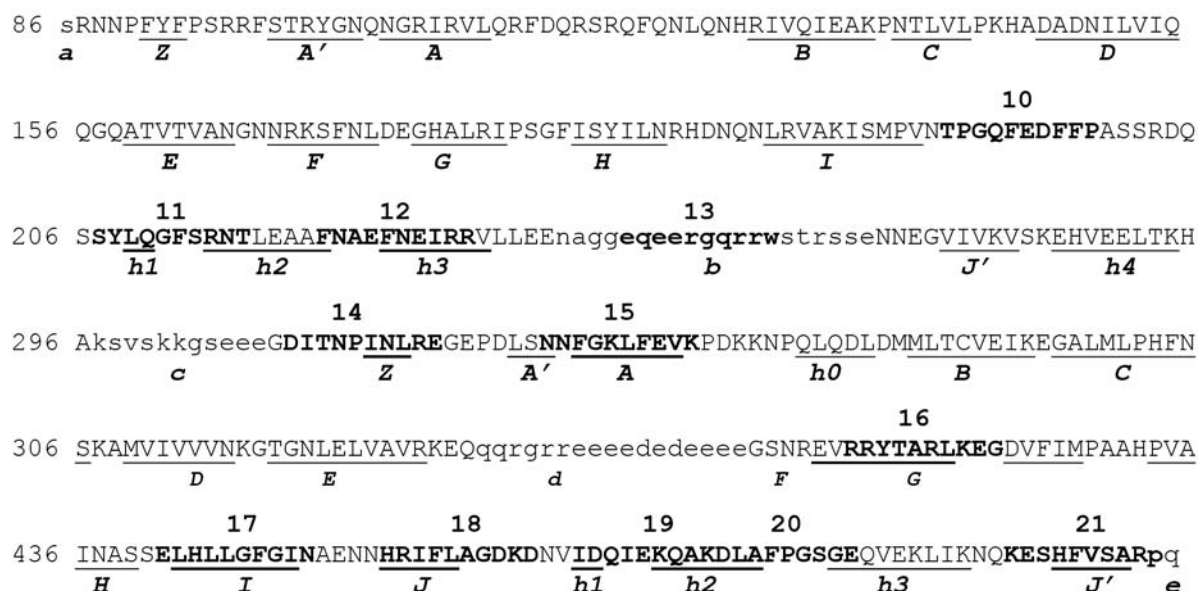


Fig.2. Secvența de aminoacizi ai subunității alergenului 7S, Ara h1. Epitopii IgE, 10-21, sunt indicați cu bold. Structurile secundare sunt subliniate. Literele mici arată poziția porțiunilor a - e nestructurate în cristalele 3s7e.

În această lucrare, pe baza comparării secvențelor Ara h1 și altor alergeni 7S, se estimează alergenicitatea potențială a ultimelor. Se arată probabilitatea de imunoreactivitate încrucișată între 7S și 11S alergeni, care reprezintă familiile de globuline de rezervă tipice din semințe.

Metode de cercetare

Pentru analiză am folosit următoarele programe: SDAP – pentru a căuta și caracteriza alergeni 7S și 11S, ClustalW2 – pentru alinierea secvențelor de aminoacizi și TREECON [7] – pentru analiza lor filogenetică. Alinierea structurală a secvențelor alergenilor 7S și 11S a fost efectuată în baza rezultatelor prezentate în [8]. Programul DeepView/Swiss-Pdb Viewer a fost utilizat pentru a analiza structurile terțiare ale proteinelor și construirea diagramelor panglică.

Rezultate și discuții

Epitopi IgE potențiali în secvențele alergenilor 7S. Probabilitatea prezenței epitopilor IgE, similari celor identificați în Ara h1, în secvențele alergenilor 7S din alte plante poate fi apreciată cantitativ cu ajutorul indicelui PD ((Property-Based Peptide Similarity Index for Two Sequences) [9]. Odată cu creșterea diferențelor între porțiunile secvențelor comparate ale Ara h1 și ale altor proteine, valoarea indicelui PD crește de la zero (secvențele sunt identice) până la valoarea maximă egală cu 10, mai sus de care prezența epitopilor IgE corespunzători în proteina cercetată este puțin probabilă [9].

Conform acestei evaluări, epitopii 4-9 (prelungirea variabilă N-terminală) și 13-14 (Fig.1,2) sunt specifici numai pentru Ara h1. Secvențele tuturor celorlalți epitopi ai Ara h1 sunt omoloage și structural echivalente cu epitopii potențiali (PD de la 1,91 până la 6,07), descoperiți în alți alergeni 7S. În plus, epitopii 16-20 ai Ara h1 coincid la alinierea structurală cu o porțiune largă a domeniului C-terminal al alergenului 7S din linte Len c 1.0101, unde au fost identificate patru secvențe suprapuse ale epitopilor IgE [10].

La utilizarea în calitate de matrice a fiecăruia dintre epitopii Ara h1, cele mai mici valori ale indicelui PD au fost obținute preponderent pentru alergeni 7S din patru specii de plante – soia, linte, lupin și mazăre furajeră. Același grup de plante cu cea mai mare alergenicitate potențială este detectată prin compararea valorilor medii ale indicelui PD, obținute pentru alergeni 7S din nouă specii de plante (Fig.3 A). În cele din urmă, același grup de alergeni 7S formează un cluster comun cu Ara h1, la o analiză filogenetică a secvențelor

complete ale domeniilor alergenilor 7S (Fig.3). Astfel, imunoreactivitatea încrucișată între alergenii 7S din arahide și alte plante (în special, soia), apropiați după structura primară, este foarte probabilă (Tab.2, epitopii *a/a'* și *c/c'*).

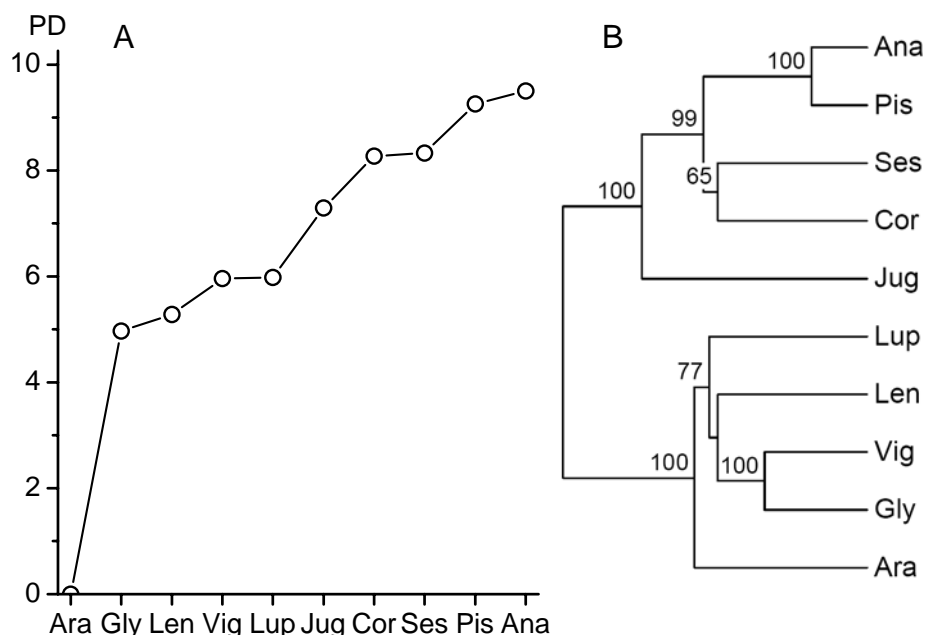


Fig.3. Valorile medii ale indicelui PD, obținute prin compararea secvențelor regiunilor omoloage ale epitopilor 10-12 și 15-21 ai Ara h1 și alergenilor 7S ai altor plante (A), și analiza filogenetică a secvențelor domeniilor (418 poziții de aliniere) alergenilor 7S (B). Numerele de sus ale ramurilor dendrogramei corespund suportului statistic al clusterelor (% din 1000 replicații).

Imunoreactivitate încrucișată între alergenii 7S și 11S din arahide și soia. Secvențele aminoacide ale globulinelor 7S și 11S, care derivă dintr-un precursor comun bacterian constituit din două domenii [11], sunt omoloage și structural echivalente [12]. De aceea, sursa similitudinii între secvența epitopului *a* din Ara h1 și un potențial epitop *b* din alergenul 11S din soia, Gly m G5 (Tab.2), este evidentă: ei aparțin regiunilor omoloage, conservative în structura primară a globulinelor 7S și 11S. Întors, similaritatea secvenței epitopului *c* din Ara h1 și un potențial epitop *d* din alergenul 11S din soia, Gly m G5, care aparțin regiunilor conservative, dar unor elemente diferite ale structurilor primare și terțiare ale alergenilor 7S și 11S, poate fi numai accidentală.

Tabelul 2

Unii dintre epitopii IgE ai alergenilor 7S și 11S din soia și arahide

Alergen	Epitop IgE	PD	2D
7S, Ara h1	<i>a</i> SYLQ <u>G</u> FSRNT	0,00	N, h1-h2
7S, Gly m α	<i>a'</i> SYLQ <u>G</u> FSRNI*	1,91	
11S, Gly m G5	<i>b</i> SVLS <u>G</u> FSKHF*	6,85	
11S, Gly m G1	<i>b'</i> GGSILSGFTLEFLEHAFSV	>10	
7S, Ara h1	<i>c</i> KDLA <u>F</u> PGSGE	0,00	C, h2-h3
7S, Gly m α	<i>c'</i> QELAF <u>F</u> PGSAQ*	4,71	
11S, Gly m G5	<i>d</i> IGFA <u>F</u> PGCPE*	8,91	N, E-F
11S, Gly m G2	<i>d'</i> QQGNGIFGMIFPGCPS	>10	

Notă: Resturile de aminoacizi, substituția cărora duce la pierderea capacității de legare a epitopului cu IgE, sunt subliniate. Asteriscul indică secvența epitopilor potențiali. Secvențele epitopilor IgE reali: *a* și *c*, respectiv epitopii 11 și 20 din Ara h1 [2]; *b'*, epitopul 1 din Gly m G1 [13]; *d'*, epitopul 3 din Gly m G2 [14]. În coloana din dreapta este indicată poziția epitopilor în structura domeniului N- sau C-terminal.

Concluzii

Doi factori pledează în favoarea imunoreactivității încrucișate propuse între alergenii 7S și 11S din arahide și soia.

În primul rând, resturile aminoacide, esențiale pentru legarea epitopilor *a* și *c* din Ara h1 cu IgE (Tab.2), respectiv, sunt prezente și în secvențele epitopilor potențiali *b* și *d* din alergenul 11S, Gly m G5.

În al doilea rând, secvențele epitopilor potențiali *b* și *d* din alergenul 11S, Gly m G5, coincide parțial cu epitopii reali *b'* și *d'* identificați în alergenii 11S, Gly m G1 și Gly m G2, corespunzător. Un interes deosebit prezintă analiza directă într-o singură serie de experimente a imunoreactivității încrucișate între alergenul 7S din arahide, Ara h1 (cel mai puternic alergen dintre globulinele de rezervă din semințe) și alergenii 11S din soia.

Referințe:

1. IVANCIUK, O., SCHEIN, C.H., BRAUN, W. SDAP: database and computational tools for allergenic proteins. In: *Nucleic Acid Res.*, 2003, 31, p.359-362.
2. SHIN, D.S., COMPADRE, C.M., MALEKI, S.J., KOPPER, R.A., SAMPSON H., HUANG, S.K., BURKS, A.W. and BANNON G.A. Biochemical and structural analysis of the IgE binding sites on Ara h 1, an abundant and highly allergenic peanut protein. In: *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, p.13753-13759.
3. PELE, M. Peanut allergens. In: *Romanian Biotechnol. Lett.*, 2010, 15, p.5204-5212.
4. WICHERS, H.J., de BEYER, T., SAVELKOU, F.J., van AMERONGEN, A. The major peanut allergen Ara h1 and its cleaved-off N-terminal peptide; possible implications for peanut allergen detection. In: *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52, p.4903-4907.
5. CHRUSZCZ, M., MALEKI, S.J., MAJOREK, K.A., DEMAS, M., BUBLIN, M., SOLBERG, R., HURLBURT, B.K., RUAN, S., MATTISOHN, C.P., BREITENRDER, H., MINOR, W. Structural and immunologic characterization of Ara h 1, a major peanut allergen. In: *J. Biol. Chem.*, 2011, 286, p.39318-39327.
6. CABANOS, C., URABE, H., TANDAHO-SILVAS, M.R., UTSUMI, S., MIKAMI, B., MARUYAMA, N. Crystal structure of the major peanut allergen Ara h 1. In: *Mol. Immunol.*, 2011, 49, p.115-123.
7. VAN de PEER, Y. & De WACHTER, R. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. In: *Comput. Appl. Biosci.*, 1994, 10, p.569-570.
8. ADACHI, M., TAKENAKA, Y., GIDAMIS, A. B., MIKAMI, B., and UTSUMI, S. Crystal structure of soybean proglycinin A1aB1b homotrimer. In: *J. Mol. Biol.*, 2001, 305, p.291-305.
9. IVANCIUK, O., MIDORO-HORIUTI, T., SCHEIN, C.H., XIE, L., HILLMAN, G.R., GOLDBLUM, R.M. and BRAUN, W. The property distance index PD predicts peptides that cross-react with IgE antibodies. In: *Mol. Immunol.*, 2009, 46, p.873-883.
10. VEREDA, A., ANDREAE, D.A., LIN, J., SHREFFLER, W.G., IBANEZ, M.D., CUESTA-HERRANZ J., BARDINA L. and SAMPSON, H.A. Identification of IgE sequential epitopes of lentil (Len c 1) by means of peptide microarray immunoassay. In: *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010, 126, p.596-601.
11. RUDAKOVA, A.S., CHERDIVARA, A.M., WILSON, K.A., SHUTOV, A.D. Seed storage globulins: origin and evolution of primary and higher order structures. In: *Biochemistry (Moscow)*, 2015, 80, p.1354-1361.
12. SHUTOV, A.D. and WILSON, K.A. Seed storage globulins: their descent from bacterial ancestors and mechanisms of degradation. In: *Globulins: Biochemistry, Production and Role in Immunity* (Milford, S.D., ed.). New York: Nova Science Publishers, 2014, p.71-104.
13. BEARDSLEE, T.A., ZEECE, M.G., SARATH, G. and MARKWELL, J.P. Soybean glycinin G1 acidic chain shares IgE epitopes with peanut allergen Ara h 3. In: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2000, 123, p.299-307.
14. HELM, R.M., COCKRELL, G., CONNAUGHTON, C., SAMPSON, H.A., BANNON G.A., BEILINSON, V., NIELSEN N.C. and BURKS A.W. A soybean G2 glycinin allergen. 2. Epitope mapping and three-dimensional modeling. In: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2000, 123, p.213-219.

Prezentat la 25.03.2016

VIABILITY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *STREPTOMYCES* STRAINS FROM NCNM AFTER LYOPHILIZATION

Oleg CHISELIȚA, Svetlana BURȚEVA, Maxim BÎRSA,
Valentina BULIMAGA*, Anastasia VASILICIUC

*Institute of Microbiology and Biotechnology,
Academy of Science of Moldova
State University of Moldova

The article deals with the aspects related to lyophilization of streptomycetes strains, preserved in the National Collection of Nonpathogenic Microorganisms (NCNM). Was determined that lyophilization do not significantly modify the antimicrobial activity of streptomycetes. Maximum viability of strains of genus *Streptomyces* (83,2-90,2%) is ensured after lyophilization at initial titer by 9-11 \log_{10} UFC ml⁻¹ in protective medium (gelatin 2,5% + glucose 7,5%) by rehydration with distillate water.

Keywords: *Streptomyces, lyophilization, cryoprotectants, viability, antimicrobial activity.*

VIABILITATEA ȘI ACTIVITATEA ANTIMICROBIANĂ A TULPINELOR DE *STREPTOMYCES* DIN CNMN DUPĂ LIOFILIZARE

Acest articol prezintă aspecte legate de liofilizarea tulpinilor de streptomicete, depozitate în Colecția Națională de Microorganisme Neopatogene (CNMN). A fost stabilit că liofilizarea nu modifică esențial activitatea antimicrobiană a streptomicetelor. Viabilitatea maximă a tulpinilor genului *Streptomyces* (83,2-90,2%) este asigurată după liofilizarea la titrul inițial 9-11 \log_{10} UFC ml⁻¹ în mediu protectiv (gelatină 2,5% + glucosă 7,5%) și la rehidratarea cu apă distilată.

Cuvinte-cheie: *Streptomyces, liofilizare, crioprotectori, viabilitate, activitate antimicrobiană.*

Introduction

Streptomycetes are widely distributed in nature: in the air, water reservoirs, in various animal and vegetable residues, but many of them are in the soil [1-5]. Representatives of the largest group among the actinomycetes are streptomycetes. Recent years, they are considered not only as producers of antibiotics of different chemical nature, but also of other bioactive substances as enzymes, vitamins, amino acids, lipids, vaccines against human and animal infectious diseases, various drugs of controlling insects and rodents, substances with a phytohormonal activity, which influence the growth and development of plants, stimulate seed germination, increase crop yields [6-11]. In modern medicine are used more than a hundred medicines drugs created by using soil actinomycetes [12,13].

The great importance in the detection of new strains – producers of biologically active substances has preserving their viability, biological activity and properties of valuable properties that is essential from the initial study to their use in the production of different biological products.

There are many methods of preservation of microorganisms related to short (up to several years): storage in soil, periodic subculturing, under a layer of paraffin oil, in distilled water, in dry form on substrates of different nature et al. [14-17], but the most comfortable and effective from the point of view of the majority microbiologists, is cryopreservation in liquid nitrogen and lyophilization, that allows to store microorganisms in a viable state more than 30 years and reduce the risk of various contaminants and genetic mutations to a minimum [18-24]. Effective conservation with unmodified genomes and populations is a problem, especially considering physiological diversity of microorganisms, as well as the fact that the ability to survive in certain conditions is not only connected with the genus and species of the microorganism, but often with his race [25,26]. It is believed that from all of the groups of microorganisms, the bacterial forms better supports lyophilization [17,27,28].

Preservation of the viability and other properties of actinomycetes species is very important for their practical use, because these members of the microbial world a high level of genetic instability [29,30].

The problem of long-term "conservation" of microorganisms is associated (paired) to the solution of some problems such as the selection of optimum media and conditions to protect microbial cells from damage that occur at low temperatures and subsequent storage. Success of the lyophilization also depends on the quality of used cells, on conditions in which they are viable and were grown [28,31].

Usually, the cultures supposed at long preservation in lyophilized condition or by other methods, are tested for survival and preservation properties, in particular, antimicrobial properties, pigmentation, biomass productivity and its amino acid composition [30,32,33].

In addition, the determination of direct correlation of viability of conserved culture and biological activity many authors believe as an important moment for long-term storage of strains – producers of biologically active substances [7,33,34].

In general, the practice of preservation by freezing developed a number of methods, corresponding to the cell immersion mechanisms in anabiotic state that have been identified (and continue to be identified) in the study of the formation and germination of dormant microorganism cells. The cells before the lyophilization were suspended in protective medium solutions. American Type Culture Collection succeeded in long-term storage of various bacteria by using as cryoprotectants of 20% skimmed milk, 12% solution of sucrose, 10% solution of dextran, 10% solution of glycerol and others [35,36].

In microbiology, sucrose-gelatin protective medium (sucrose 10% + gelatin 1%) and its various modifications that are suitable for bacteria and for actinomycetes is used for many years for the lyophilization [31]. The authors are unanimous in the opinion that it is best to preserve the ability of microorganisms to synthesize biologically active substances of different chemical nature, providing the freeze-drying of spores in sucrose-gelatin medium [18,37,38]. However, due to the huge variety of naturally occurring microorganisms, one cryoprotectant in practice is insufficient. Therefore, for preservation of new strains should at first to study the effect of various types of cryoprotectants and select a suitable for the type of microorganisms, as well as conditions for their subsequent storage. For example, the medium comprising skimmed milk supplemented with sucrose, sodium glutamate, polyvinylpyrrolidone, peptone, medium Gause or regulated medium CP-15 containing soybean flour, corn steep liquor, molasses, potato starch, inorganic salts and with addition of 1% carbamide are used in the lyophilization of strain *Streptomyces aureofaciens* [39].

Other protective media, including, for example, peptone (0,1-10%), sucrose (10%), glucose (5-15%), lactose (10%), trehalose (10%), skimmed milk (10-20%), sodium glutamate (5%), casein hydrolysate and other many materials successfully are used for the preservation of the genera *Bacillus*, *Pantoea*, *Serratia*, *Erwinia*, *Lactobacillus*, *Acetobacter*, *Streptococcus* and others [17,26,28,31].

Since it is believed that carbohydrates have less pronounced cryoprotective properties than glycerol or dimethyl sulfoxide, they are recommended to be used in combination with other protectors. As a protective media successfully are used the culture media containing peptone, tryptone, yeast extract.

Using of the special media with cryoprotectants for preservation allows to reduce the number of cryodestructed cells and to increase the number of living, structurally and functionally intact cells. Most of the hypotheses of the protective action of traditional cryoprotectants are based on the properties to reduce the amount of ice, change the size and structure of crystals and decreasing of the freezing point of the solution [26,40].

Viability of the microorganisms after lyophilization depends on storage conditions and particularly conditions of rehydration [41,42]. Typically, researchers have used sterile distilled and tap water for rehydration [29, 43-45]. Rehydrated media containing skimmed milk, sucrose, saline solutions, sodium glutamate, peptone extract or water, solutions containing peptone, yeast extract, and manganese sulfate, various substances with antioxidant activity, can be used also [14,46].

Thus, based on the above, the research goal is to assess the viability of different streptomycetes on protective and rehydration media and antimicrobial activity after lyophilization.

Materials and methods

As **objects** of our studies were served nine strains of actinomycetes of the genus *Streptomyces* kept in the National Collection of Microorganisms Nonpathogenic (NCNM). The strains were grown under aerobic in static conditions, in glass tubes on Czapek agarized medium with glucose and oatmeal agarized medium, incubation time - 7-14 days, at $t^{\circ}= 27^{\circ}\text{C}$ [29,47,48].

Lyophilization. Cultures in stationary phase were suspended in protective media and frozen at $t^{\circ}= -50^{\circ}\text{C}$, drying of frozen mass is achieved at $-88 \dots -94^{\circ}\text{C}$ of condenser and vacuum - 5-8 Pa.

Cryoprotective media (CrM): Skimmed milk (SM); Skimmed milk + glucose 7% (SM+G7%); Gelatin 1,0% + sucrose 10,0% (Gel1%+S10%); Gelatin 2,5% + sucrose 7,5 % (Gel2,5%+Z7,5%); Gelatin 2,5% + glucose 7,5 % (Gel2,5%+G7,5%) [18,29,46].

After lyophilization strains have been generated with the different rehydration media at room temperature for 1 hour.

Rehydration media (RhM):

Czapek (Cz): Glucose – 20,0 g/l; NaNO₃ – 2,0 g/l; K₂HPO₄ – 1,0 g/l; MgSO₄*7H₂O – 0,5 g/l; KCl – 0,5 g/l; FeSO₄*7H₂O – 0,01 g/l; pH = 7,0-7,3.

Dulaney (DI): Glucose – 20,0 g/l; (NH₄)₂HPO₄ – 7,5 g/l; NaCl – 5,0 g/l; K₂HPO₄ – 2,0 g/l; MgSO₄*7H₂O – 1,0 g/l; CaCl₂ – 0,4 g/l; ZnSO₄*7H₂O – 0,01 g/l; FeSO₄*7H₂O – 0,01 g/l; pH = 7,0.

Distillate water (DW) [46,49].

Viability determination. The content of a vial after lyophilization was suspended in 1,0 ml of rehydration medium. The viability of the strains before and after lyophilization was determined using the method of successive dilutions, suspensions were inoculated on the agarized medium, the units forming colony (UFC) count after 7-14 days of incubation at 27°C [29, 49]. Number of viable cells was expressed in \log_{10} of UFC in 1,0 ml of suspension.

The bacterial survival ratio (BSR) is reported as the ratio of the \log of the number of bacterial cells present in the suspension after lyophilization (AL) to the \log number of viable cells before lyophilization (BL) multiplied by 100, i.e., $BSR = (\log AL / \log BL) \times 100$ [50]. Averages and standard deviations were calculated from at least three independent lyophilization analyses.

The antimicrobial activity of strains before and after lyophilization on protective medium Gel1%+S10% [37] was determined by the Egorov's method, applying to the agar blocks [7]. As the test cultures were used three strains of bacteria: *Corynebacterium michiganense* 10₂, *Agrobacterium tumefaciens* 8628, *Erwinia carotovora* 8982 and 7 strains of phytopathogenes fungi: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium funiculosum*, *Thielaviopsis basicola*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*, causing various plant diseases.

Experimental data were subjected to statistical processing by program Office Excel 2010.

Results and discussions

In National Collection of Nonpathogenic Microorganisms (NCNM) more than 500 strains of microorganisms with biotechnological importance, including the actinomycetes of genus *Streptomyces* are persevered. The strain *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02 and its variants, obtained by γ -ray and UV, *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-03 and *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-04 and the species *massasporeus* – *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-07 and *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-08 are producers of bioactive substances: phytohormones (auxin, gibberellins), briefs and immunoactive amino acids, lipids containing highly unsaturated fatty acids. Abovementioned strains and strain *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01, isolated from soils of Moldova and its natural variants *S. levoris* var. k-1 and *S. levoris* var. 4 possess high antimicrobial activity against a broad spectrum of phytopathogenic fungi and bacteria, which can cause various diseases in crop plants and *Apis mellifera*.

Actually, the main activities in the field of preservation of cultures of microorganisms are directed on the task of preserving the maximum number of viable and intact cells with the original genome and phenotypic characteristics that are important for their identification and their use in scientific research and biotechnological processes. Different species display different degree of freeze-drying survival, Gram-negative bacteria often showing lower survival than Gram-positive bacteria [45]. In addition to species, freeze-drying tolerance also depends on freeze-drying medium and rehydration conditions [42].

Thus, strains of actinomycetes were lyophilized by using different protection media and regenerated with different media for rehydration, 2 of 3 – Cz and DI, with different minerals in its composition (Table 1, Fig.1). In the result of our study was established, that all species of actinomycetes survive after the lyophilization process, but their viability is different and depends largely on used media of protection and rehydration.

If we analyze the viability of the species *S. canosus* average viability depending on used protection and rehydration media, we highlight two media: Gel 2,5% + S 7,5% + Cz and Gel 2,5% + G 7,5% + DW, where strains of this species exhibit maximum viability after lyophilization - 82,1 and respectively, 86,9% (Fig.1).

Table 1

Viability of strains *Streptomyces canosus* CNMN-Ac-02, Ac-03 and Ac-04, after lyophilization on different protective and regeneration media with different rehydration media

Strain					<i>S. canosus</i> CNMN-Ac-02		<i>S. canosus</i> CNMN-Ac-03		<i>S. canosus</i> CNMN-Ac-04	
					Titer \log_{10} UFC ml^{-1}	BSR %	Titer \log_{10} UFC ml^{-1}	BSR %	Titer \log_{10} UFC ml^{-1}	BSR %
BL					7,4±0,03	100	10,1±0,1	100	7,4±0,03	100
AL	CM	SM	RM	DW	5,6±0,3	76,0±4,3	8,0±0,1	79,4±1,9	8,3±0,04	76,4±0,3
				Cz	6,1±0,2	82,1±2,7	8,1±0,8	79,8±7,5	8,7±0,1	79,4±1,2
				DI	5,8±0,03	78,3±0,5	8,2±0,2	81,1±2,2	7,7±0,7	70,4±6,5
		SM+ G.7%		DW	6,1±0,1	82,2±2,1	8,1±0,06	79,8±1,5	7,3±0,06	67,0±0,4
				Cz	6,4±0,04	85,7±0,9	8,5±0,1	84,0±1,6	7,7±0,1	70,2±1,2
				DI	6,4±0,02	86,3±0,6	8,3±0,1	82,1±1,6	8,3±0,8	75,7±7,4
	Gel.1% + S.10%	DW	6,6±0,1	88,4±0,9	7,5±0,1	73,7±1,8	8,9±0,02	81,5±0,4		
		Cz	6,8±0,03	91,0±0,7	7,3±0,1	72,0±1,3	8,9±0,6	81,3±4,6		
		DI	6,5±0,06	86,9±1,1	7,3±0,2	71,9±1,7	8,9±0,03	81,7±0,9		
	Gel.2,5% + S.7,5%	DW	6,0±0,08	80,8±1,1	7,6±0,6	75,0±6,6	8,2±0,7	75,0±6,5		
		Cz	6,1±0,1	82,4±1,4	8,2±0,1	80,6±2,2	9,1±0,1	83,3±0,7		
		DI	6,2±0,1	83,1±2,3	8,0±0,2	78,8±2,2	8,9±0,02	81,2±0,4		
BL					8,7±0,5	100	11,1±0,6	100	11,1±0,8	100
AL	CM	Gel.2,5% + G.7,5%	RM	DW	7,8±0,6	90,3±2,0	9,0±0,8	81,3±2,3	9,9±0,7	89,2±0,2

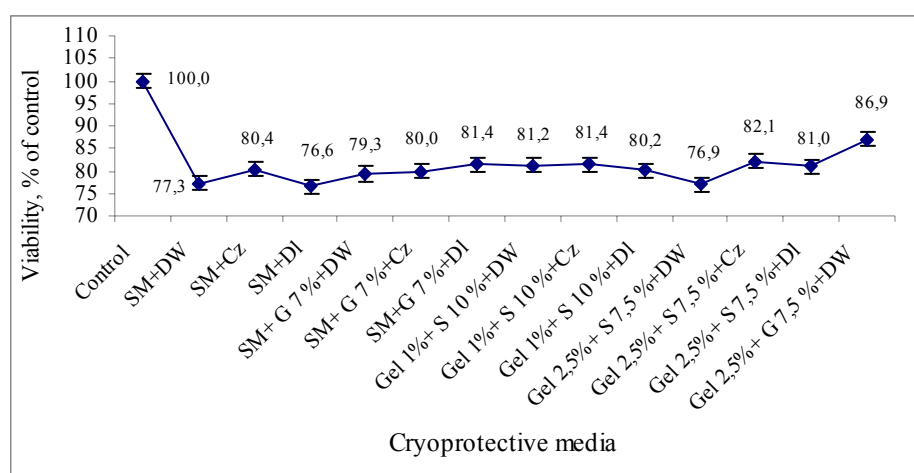


Fig.1. Average viability of species *Streptomyces canosus* (3 strains) before and after lyophilization, in dependence of used protective and rehydration media.

Maximum viability after lyophilization the strains of *Streptomyces canosus* manifest on protective media containing sucrose or glucose and gelatin in various proportions. Significant influence on the viability of these strains had also the used rehydration medium, DW and Cz were the optimal.

The initial strain of *Streptomyces levoris*, as well as its natural variants, showed obvious morbidity on protective media with SM and gelatin-sucrose in comparison with the gelatin-glucose, indifferent of the used rehydration medium. Thus, protective media SM, SM + G 7%, Gel 1% + S 10% and Gel 2,5% + S 7,5%, titer strains after lyophilization significantly decreased on average by 4,5 \log UFC ml^{-1} , compared with 1-1,1 \log UFC ml^{-1} on medium Gel 2,5% + G 7,5%. This has conditioned significantly lower viability of strains

of this species on the respective protective media, which reached values of only 65-71%, compared with 89,8 to 90,7% registered on medium Gel 2,5% + G 7,5%. Significant morbidity probably is due to initially very high titer of 13,5-13,8 \log UFC ml^{-1} [44] and not to the composition of a protective medium (Table 2).

As in case of *S.canosus* species, the species *Streptomyces levoris*, the same two protective media ensure maximum viability of the species, but the effectiveness of medium Gel 2,5% + G 7,5% + DW is superior. This protective medium provides a viability of the species average about 90%, which is with 20,5 to 24,7% more compared with the others (Fig. 2). Thus, the major influence on the viability of strains of *Streptomyces levoris* after lyophilization were established: initially cell titer - at 10-11 \log UFC ml^{-1} and the medium Gel 2,5% + G 7,5%, rehydration with DW. The highest species viability was of about 90%.

Table 2

Viability of strains *Streptomyces levoris* CNMN-Ac-01, k-1 and 4, after lyophilization on different protective and regeneration media with different rehydration media

Strain					<i>S. levoris</i> CNMN-Ac-01		<i>S. levoris</i> k-1		<i>S. levoris</i> var. 4	
					Titer \log UFC ml^{-1}	BSR %	Titer \log UFC ml^{-1}	BSR %	Titer \log UFC ml^{-1}	BSR %
BL					13,5±0,1	100	13,8±0,1	100	13,8±0,1	100
AL	CM	SM	RM	DW	8,8±0,8	65,3±6,1	9,0±0,2	65,4±1,6	9,1±0,2	65,9±1,0
				Cz	9,3±0,05	69,1±0,6	9,3±0,05	67,1±0,2	9,3±0,06	67,3±0,3
				DI	9,3±0,7	68,7±4,9	9,4±0,06	68,3±0,6	9,0±0,7	64,9±4,9
		SM+ G. 7 %		DW	8,8±0,8	65,0±5,9	9,1±0,2	65,8±1,0	9,2±0,1	66,6±0,6
				Cz	9,2±0,2	68,4±1,3	9,3±0,05	67,6±0,3	9,4±0,1	67,7±1,0
				DI	9,2±0,6	68,4±4,7	9,4±0,09	68,0±0,6	9,4±0,1	68,2±1,0
	Gel. 1 % + S. 10 %	DW	8,7±0,8	64,7±5,9	9,3±0,09	67,6±0,5	8,7±0,7	62,6±4,8		
		Cz	9,4±0,1	69,5±0,8	9,2±0,2	66,8±1,2	9,3±0,06	67,2±0,6		
		DI	9,5±0,05	70,7±0,2	9,4±0,1	67,8±0,6	9,5±0,05	68,9±0,4		
	Gel. 2,5% + S. 7,5 %	DW	9,0±0,1	66,6±1,0	9,3±0,09	67,7±0,4	8,9±0,9	64,1±0,6		
		Cz	9,2±0,2	68,0±1,5	9,2±0,2	66,8±1,2	9,3±0,1	67,5±0,6		
		DI	9,6±0,04	71,1±0,1	9,5±0,02	68,6±0,2	9,6±0,01	69,4±0,1		
BL					11,0±0,6	100	11,0±0,7	100	11,0±0,7	100
AL	CM	Gel. 2,5% + G. 7,5 %	RM	DW	9,9±0,7	89,8±1,2	10,0±0,7	90,7±0,8	9,9±0,7	90,1±1,6

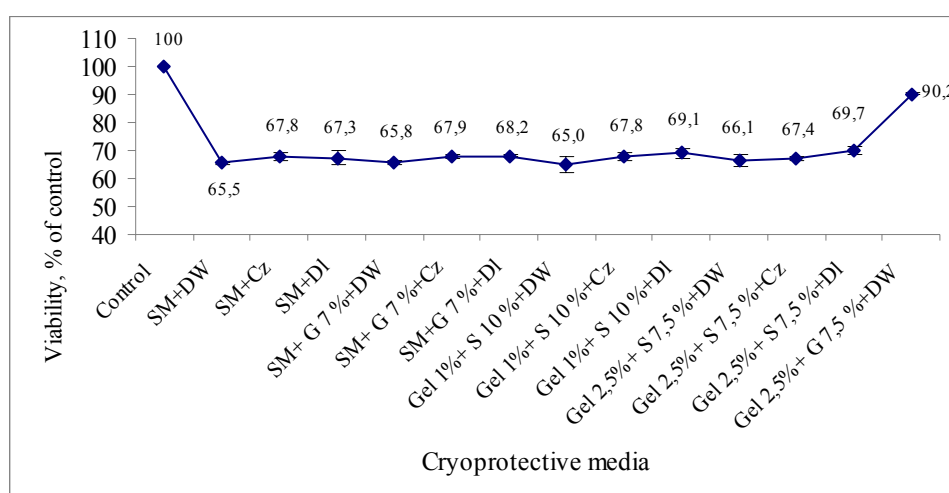


Fig.2. Average viability of species *Streptomyces levoris* (3 strains) before and after lyophilization, in dependence of protective and rehydration media used.

From the studied strains of *S. massasporeus*, the lowest viability had *S. massasporeus* CNMN-Ac-06: 69,3 to 75,7%, corresponding to titer of 7,5 and 6,8 log UFC ml⁻¹, respectively. Despite of higher titer registered after lyophilization on all used protective and rehydration media, a maximal viability of this strain, 75,7%, was recorded on the medium Gel 2,5% + G 7,5% rehydrated with DW with lowest titer – 6,8 log UFC ml⁻¹ (Table 3).

Table 3

Viability of strains *Streptomyces massasporeus* CNMN-Ac-06, Ac-07 and Ac-08, after lyophilization on different protective and regeneration media with different rehydration media

Strain					<i>S. massasporeus</i> CNMN-Ac-06		<i>S. massasporeus</i> CNMN-Ac-07		<i>S. massasporeus</i> CNMN-Ac-08	
					Titer logUFC ml ⁻¹	BSR %	Titer logUFC ml ⁻¹	BSR %	Titer logUFC ml ⁻¹	BSR %
BL					10,8±0,1	100	10,8±0,1	100	10,8±0,1	100
AL	CM	SM	RM	DW	7,5±0,05	70,1±0,7	8,4±0,07	77,8±0,6	8,5±0,04	78,6±0,4
				Cz	8,0±0,04	73,9±0,7	7,9±0,4	73,4±3,1	8,6±0,07	79,8±0,6
				DI	8,0±0,1	74,4±1,4	8,7±0,03	80,7±0,5	8,4±0,05	77,9±0,4
		SM+ G. 7 %		DW	7,8±0,04	72,9±0,2	8,4±0,07	77,9±0,6	8,5±0,07	78,8±0,8
				Cz	7,9±0,04	73,2±0,2	8,7±0,02	80,2±0,1	8,6±0,05	79,9±0,4
				DI	8,0±0,1	74,3±1,2	8,6±0,5	79,9±0,7	8,8±0,02	81,1±0,3
	Gel. 1 % + S. 10 %	DW	7,9±0,03	73,4±0,1	8,7±0,05	80,4±0,4	8,4±0,1	77,5±0,9		
		Cz	7,9±0,04	73,2±0,4	8,7±0,02	81,0±0,1	8,9±0,01	82,2±0,3		
		DI	8,1±0,02	75,2±0,3	8,8±0,01	81,2±0,2	8,8±0,03	81,1±0,4		
	Gel. 2,5% + S. 7,5 %	DW	7,5±0,2	69,3±1,2	8,6±0,06	79,9±0,7	8,6±0,1	79,3±1,5		
		Cz	8,1±0,04	75,1±0,7	8,7±0,04	80,9±0,3	8,7±0,06	80,3±0,7		
		DI	7,9±0,04	73,4±0,6	8,8±0,01	81,1±0,2	8,8±0,02	81,4±0,2		
BL					8,9±0,7	100	10,4±0,7	100	8,2±0,7	100
AL	CM	Gel. 2,5% + G. 7,5 %	RM	DW	6,8±0,6	75,7±1,4	9,4±0,6	90,8±0,4	6,8±0,7	83,1±2,0

Analysis of the results showed that natural variants of *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, *S. massasporeus* CNMN-Ac-07 and *S. massasporeus* CNMN-Ac-08, unlike of the initial strain, had a higher degree of viability: about 73,4 to 90,8% and from 77,5 to 83,1%, detected maximum values for protection medium Gel 2,5% + G 7,5 % and DW, as rehydration medium.

Maximum values of viability of strains *S. massasporeus* CNMN-Ac-07 reactivated on Dulaney and *S. massasporeus* CNMN-Ac-08 reactivated on medium Czapek were obtained for the same protective medium – Gel 1% + S 10%: 81,2% and 82,2% respectively (Table 3).

Analysis of the results presented in Table 3 allowed evaluation of several protective and rehydration media for lyophilization of species *S. massasporeus*, which are composed of gelatin and sucrose or glucose in different proportions, which average viability of the species ranges between 78,6 and 83,2%. The media Gel 1% + S 10% + DI and Gel 2,5% + G 7,5% + DW, recorded maximum results 79,2 and 83,2%, respectively (Fig. 3).

Thus, the protective media containing gelatin and sucrose or glucose in various concentrations are effective for lyophilization of actinomycetes, and the results confirm the data of literature on the effectiveness undeniable of media protection on maintaining the viability of strains, a major role awarded to the composition of medium and the initial cell density.

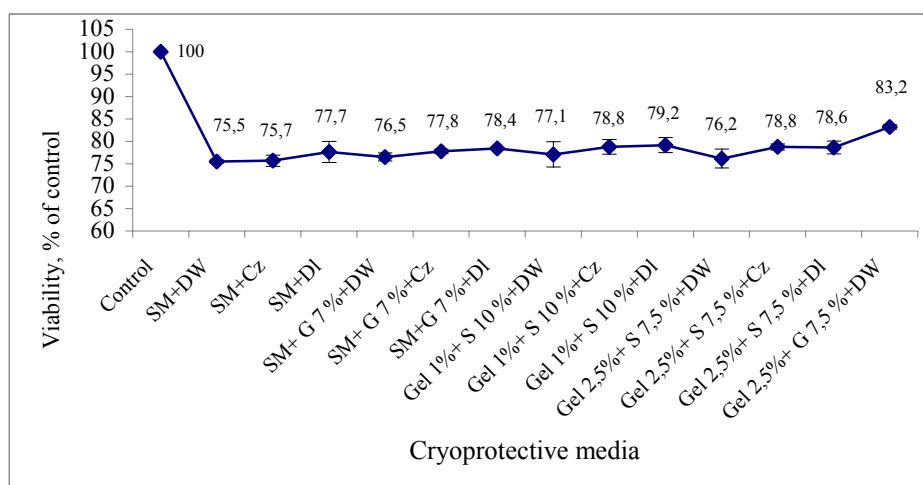


Fig.3. Average viability of species *Streptomyces massaporeus* (3 strains) before and after lyophilization, in dependence of the used protective and rehydration media.

The results of the evaluation of antimicrobial activity of streptomycetes before and after lyophilization (Tables 4 and 5), highlight that the strain *S. massaporeus* CNMN-Ac-06 and its variants attest the maximum antimicrobial activity compared to the other studied cultures. These strains all showed antagonism against test-strains phytopathogenic bacteria and against to 5 of 7 phytopathogenic fungi. The highest retention areas have been registered against pathogens of fusariose – *Fusarium oxysporum* (24,0 mm after lyophilization), tomato bacterial wilt – *Corynebacterium michiganense* 10₂ (24,0 mm after lyophilization) and rottenness rot and soft of vegetables – *Erwinia carotovora* 8982 (20,0 mm after lyophilization). It has also been reported antimicrobial activity against *Aspergillus niger*, *Penicillium funiculosum* and *Botrytis cinerea*, the growth of which has not been retained by other strains of streptomycetes (Table 4 and 5).

The strain *S. levoris* CNMN-Ac-01 and their variants were less active against *Agrobacterium tumefaciens* 8628, demonstrating no antagonist relations. This strain has pronounced antifungal activity against *Fusarium oxysporum*, which causes fusaria wilting of the plant (retention zone diameter increasing from 19,0 to 30,0 mm) and to *Thielaviopsis basicola*, which causes black rot of plants (Ø retaining area growth – 20,0- 27,0 mm).

Analyzing of the antimicrobial activity of *S. canosus* CNMN-Ac-04, allows to conclude that this strain is more active, compared with *S. canosus* CNMN-Ac-02 and *S. canosus* CNMN-Ac-03 (Ø 28,0-30,0 mm), retaining growth of *Corynebacterium michiganense* and showing also a pronounced antibiotic activity against *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Fusarium oxysporum*.

An increasing of antimicrobial activity against *Agrobacterium tumefaciens* 8628 (9,37 and 3,57%, respectively) was fixed after lyophilization (AL) of *S. canosus* CNMN-Ac-04 and *S. massaporeus* CNMN-Ac-07, while to *Corynebacterium michiganense* 10₂ - 6,25%. Meanwhile, antimicrobial activity against *Erwinia carotovora* 8982 at *S. massaporeus* CNMN-Ac-06 and at *S. levoris* var. 4 decreased after lyophilization by 23,1% and 5,0%, respectively.

Table 4

The antibacterial properties of streptomycetes before and after lyophilization

Strains	Diameter of the growth inhibition zone, mm					
	<i>Corynebacterium michiganense</i> 10 ₂		<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 8628		<i>Erwinia carotovora</i> 8982	
	BL	AL	BL	AL	BL	AL
<i>S. canosus</i> CNMN-Ac-02	–	–	–	–	10,0±1,3	10,0±0
<i>S. canosus</i> CNMN-Ac-03	–	–	–	–	13,0±0,7	12,5±0
<i>S. canosus</i> CNMN-Ac-04	28,0±1,1	28,5±0,7	16,0±0,7	17,5±1,7	18,0±0,9	17,0±0
<i>S. levoris</i> CNMN-Ac-01	20,0±0,7	20,0±0	–	–	18,0±1,3	18,0±1,3
<i>S. levoris</i> var. K-1	20,5±0,9	20,0±1,1	–	–	20,5±1,3	20,0±1,1
<i>S. levoris</i> var. 4	20,5±1,3	20,0±1,1	–	–	20,0±1,1	19,0±1,1

<i>S. massasporeus</i> CNMN-Ac-06	24,0±0	24,0±1,1	15,0±0,7	15,0±0,9	26,0±0	20,0±0
<i>S. massasporeus</i> CNMN-Ac-07	16,0±0	17,0±0	14,0±0	14,5±0	24,0±0	23,5±0
<i>S. massasporeus</i> CNMN-Ac-08	17,0±0	16,5±0,7	11,0±1,1	11,0±0	16,0±0	16,0±1,1

An increasing of antifungal activity against *Fusarium oxysporum* was established only after lyophilization (AF) of *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 – 14.6%, while the activity of *S. massasporeus* CNMN-Ac-08 against *Alternaria alternata* and *Penicillium funiculosum* was decreased by 12,5 and 14,3%, respectively, at *S. canosus* CNMN-Ac-04 – *Fusarium oxysporum* - with 11,25%, at *S. levoris* var. K-1 against *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata* – with 5.0 and 9.1%, respectively. Thus, experimental results confirm that streptomycetes possess antimicrobial activity against various bacteria and fungi [38] and emphasizes the possibility of keeping of streptomycetes antimicrobial activity after lyophilization, in proportions of 80-90% from baseline [51].

The results of this research will contribute significantly to streamlining regulation of technological lyophilization of strains of microorganisms of the genus *Streptomyces* kept in NCNM.

Table 5

Antifungal properties of streptomycetes before and after lyophilization

Test-strain	Diameter of the growth inhibition zone, mm					
	<i>S. canosus</i> CNMN-Ac-02		<i>S. canosus</i> CNMN-Ac-03		<i>S. canosus</i> CNMN-Ac-04	
	BL	AL	BL	AL	BL	AL
<i>A. niger</i>	9,0±0	9,0±0	14,0±1,1	14,0±1,1	16,0±0,9	16,0±0,9
<i>A. flavus</i>	–	–	–	–	–	–
<i>P. funiculosum</i>	–	–	–	–	–	–
<i>T. basicola</i>	–	–	–	–	12,0±1,1	12,0±0
<i>F. oxysporum</i>	–	–	12,0±0	12,0±0	18,0±1,3	16,0±0,7
<i>A. alternata</i>	–	–	–	–	–	–
<i>B. cinerea</i>	–	–	–	–	–	–
	<i>S. levoris</i> CNMN-Ac-01		<i>S. levoris</i> k-1		<i>S. levoris</i> var. 4	
	BL	AL	BL	AL	BL	AL
<i>A. niger</i>	13,0±0,7	13,0±0,9	14,0±0	14,0±1,3	14,0±0,7	14,0±0
<i>A. flavus</i>	20,0±1,1	20,5±1,3	18,0±0	18,0±1,3	14,0±0,7	14,0±0
<i>P. funiculosum</i>	–	–	–	–	–	–
<i>T. basicola</i>	27,0±1,7	27,5±0,9	20,0±0	20,0±0	11,0±1,1	11,0±0
<i>F. oxysporum</i>	30,0±0	30,0±0	20,0±0	19,0±0	20,0±0	19,5±0,7
<i>A. alternata</i>	11,0±0	10,5±0,9	11,0±0	10,0±0	12,0±1,1	11,5±0,9
<i>B. cinerea</i>	–	–	–	–	–	–
	<i>S. massasporeus</i> CNMN-Ac-06		<i>S. massasporeus</i> CNMN-Ac-07		<i>S. massasporeus</i> CNMN-Ac-08	
	BL	AL	BL	AL	BL	AL
<i>A. niger</i>	14,0±0	14,0±1,7	15,0±0,9	14,5±0	–	–
<i>A. flavus</i>	18,0±0	18,0±0	–	–	–	–
<i>P. funiculosum</i>	12,0±0,9	12,0±0	10,0±0,7	9,5±0,9	12,0±0	10,5±0,9
<i>T. basicola</i>	24,0±0,9	20,5±0	10,0±1,1	10,0±0	9,5±0,9	9,0±0
<i>F. oxysporum</i>	20,0±0	24,0±1,1	17,0±1,1	17,0±0	10,0±0	9,5±0
<i>A. alternata</i>	10,0±0	–	12,0±1,3	12,0±0	14,0±0	12,0±0
<i>B. cinerea</i>	14,0±1,1	14,0±1,7	10,0±0	9,0±0	10,0±0	10,0±0

Conclusions

So research results allow concluding the following:

1. Given in attention the sensitivity of different strains of the same species of streptomycetes at lyophilization, significant impact of protective media and initially titer on their viability were established, selecting the optimum parameters for lyophilization, requiring individual approach at the level of species or strain.

2. Lyophilization of streptomycetes strains on effective protective media containing gelatin and sucrose or glucose in different concentrations ensures a maximum viability after lyophilization registered for most strains. The optimal factors were: protective medium gelatin 2,5% + glucose 7,5%, rehydration with distilled water and the initial cell density of 9-11 \log UFC ml⁻¹.

3. Lyophilization change insignificantly antimicrobial properties of studied streptomycetes strains, coupled with high activity.

References:

1. DOLOTKELDIEVA, T., TOTUBAEVA, N. Biodiversity of *Streptomyces* of high-mountainous ecosystems of Kyrgyzstan and its biotechnological potential. In: *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2006, vol.89(3-4), p.325-328.
2. GRIGOREAN, L.N., BATAEVA, Yu.V. Issledovaniya streptomitsvetov v pochvennykh aecosistemah aridnoy zony. V: *Materialy vsrossiyskogo simpoziuma s mezhdunarodnym uchastiem «Sovremennye problemy fiziologii, aecologii i biotekhnologii mikroorganizmov»*. Moskva, 2014, s.68. (Ru).
3. JANSO, E.J., CARTER, T.G. Biosynthetic potential of phylogenetically unique endophytic actinomycetes from tropical plants. In: *Applied and environmental microbiology*, 2010, July, p.4377-4386.
4. KRASIL'NIKOV, N.A. *Luchistye griby*. M., 1970. 535 p. (Ru).
5. MERZAEVA, O.V. *Aktinomitsety prikornevoy zony zlakov i klevera*: Avtoreferat na soiskanie uchionoy stepeni kanddata biologicheskikh nauk. Moskva, 2007. 24 s. (Ru).
6. BERDY, J. Bioactive microbial metabolites. In: *J. Antibiotics*, 2005, vol.58, p.1-26.
7. EGOROV, N.S. *Osnovy uchenia ob antibiotikach. Opredelenie antibioticheskoy aktivnosti mikroorganizmov*. Moskva: Nauka, 2004. 155 s. (Ru).
8. HOPWOOD, D. *Streptomyces in nature and medicine*. The Antibiotic Makers. New York: Oxford University Press, 2007. 250 p.
9. MERZAEVA, O.V. Kolonizatsiya aktinomitsetami razlichnykh rodov prikornevoy zony rasteniy. V: O.V. Merzaeva, I.G. Shirokich. *Microbiologiya*, 2006, vol.75, №2, s.271-276. (Ru).
10. PALMER, T., HUTCHINGS, M. Protein Secretion in *Streptomyces*. In: *Streptomyces: Molecular Biology and Biotechnology*, 2011, vol.4, p.87-104.
11. RUDIC, V., POPOVA, N., CRIVOVA, A., BOORTSEVA, S., RASTIMESHINA I. Biosynthesis of lipoxigenase, lipids and fatty acid composition of Actinomycetes and Yeast. In: *Romanian Biotechnological Letters*, 2002, vol.7, p.711-716.
12. MOSIN, V.A., KRUGLEAK E.B., BEREZKINA N.E., NOVIK, T.S., DRINEAEV, V.A. Shtammy aktinomitseta *Streptomyces avermitilis* CCM 4697 – produtsent avermictinov. Patent 2156301, Rossiya, MPK⁷, C12P 17/18, C12P 17/08, № 98110940/13, Zaeavleno 09.06.98. Opublikovanno. 20.09.00, Biuliten №26. (Ru).
13. SERGEEVA, A.G. Aktinomitsety kak produtsenty biologicheskii aktivnykh veshstev. Doklad Regional'noy Nauchnoy Konferentsii «Diagnostika, prognozirovaniye techeniya i lecheniya kardio-respiratornykh narusheniy v pul'monologii». V: A.G. Sergeeva, N.G. Kimova. *Biuliten' fiziologii i patologii dyhanija. Blagoveshensk*, 2006, №22, p.88-90. (Ru).
14. FILIPPOVA, S.N. Mnogoletnee hranenie kolektsionnykh kul'tur aktinobakterii. V: S.N. Filippova, N.A. Surguchiova, V.F. Gal'chenko. *Microbiologiya*, 2012, vol.81, №5, p.682-690. (Ru).
15. ORLOVA, R.S. Prodolzhitel'nost' zhizni i fiziologo-biohimicheskaya aktivnost' aktinomitsetov. V: *Trudy Instituta Microbiologii i Virusologii AN Kazahskoy SSR «Technologiya poluchenija produktov microsinteza»*, 1988, vol.34, p.147-154. (Ru).
16. POHILENKO, V.D., A.M. Baranov, K.V. Detushev. Metody dlitel'nogo hranenia kolektsionnykh kul'tur mikroorganizmov i tendentsii razvitiya. Izvestiya vyshchikh uchebnykh zavedeniy. V: V.D. Pohilenko, A.M. Baranov, K.V. Detushev. *Povolzhskiy region. Meditsinskie nauki. Obzor literatury*, 2009, vol.12, №4, p.99-121. (Ru).
17. SIDEAKINA, T.M. *Konservatsiya mikroorganizmov*. Puschino: ONTI NCBI, 1985. 63 p. (Ru).
18. GOLOVACH, T.N. Vliyanie kriokonservatsii i liofilizatsii na sintez ekzopolisaharida i jiznesposobnost' *Xantomonas campestris* pv. *campestris* IMB B-7001. V: T.N. Golovach, L.I. Groma. *Microbiologichnyi zhurnal*. 2013, vol.75, №1, p.14-20. (Ru).

19. GURINA, T.M. Standartizatsiya protsessa crioconservirovaniya v collectsiyach i bankach promyshlennyyh shtammov mikroorganizmov. V: T.M. Gurina, I.P. Vysekantsev, O.M. Babinets. *Microbiologichnyi zhurnal*, 2013, vol.75, №5, p.33-39. (Ru).
20. KAMENSKIY, T.N. Osobennosti crioconservatsii alkanotrofnyyh actinobacterii roda *Rhodococcus*. V: T.N. Kamenskiy, E.A. Kalashnikova, I.B. Iwshina. *Vestnik Permskogo Universiteta. Biologiya. Microbiologiya*, 2010, vol.1, №1, p.15-20. (Ru).
21. KUPLETSKAYA, M.B. Zhiznesposobnost' liofilizirovannykh mikroorganizmov posle 50 let chraneniya. In: M.B. Kupletskaya, A.I. Netrusov. *Microbiologiya*, 2011, vol.80, №6, p.842-846. (Ru).
22. MORGAN, C.A., HERMAN, N., WHITE, P.A., VESEY, G. Preservation of microorganisms by drying: A review. In: *Journal of Microbiological Methods*, 2006, vol.66, №2, p.183-193.
23. ROTHROCK, M.J., VANOTTI, M.B., SZOGI, A.A., GONZALES, M.C.G., FUJI, T. Long-term preservation of anammox bacteria. In: *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, vol.92, p.147-157.
24. TSUTSAEVA, A.A. Opyt dolgosrochnogo chraneniya promyshlennyyh shtammov mikroorganizmov. V: A.A. Tsutsaeva, A.E. Anan'ina, L.M. Balyberdina, L.V. Stepaniuk, N.V. Pavlenko. *Microbiologiya*, 2008, vol.77, №5, p.696-700. (Ru).
25. PORTER, J. N. Cultural conditions for antibiotic-producing microorganisms. In: *Methods in enzymology*. N.Y.: Acad. Press, 1975, vol.43: Antibiotics, p.3-23.
26. SMITH, D. ONIONS, A.H.S. *The preservation and maintenance of living fungi*. Kew (Richmond); Surrey (England): Commonwealth Mycol. Inst. Publ., 1983. 51 p.
27. DONEV, T. *Methods for Conservation of Industrial Microorganisms*. Sofia, 2001. 93 p.
28. UZUNOVA-DONEVA, T., DONEV, T. Anabiosis and conservation of microorganisms. In: *Journal of culture collections*. 2004; 2005, vol.4, p.17-28.
29. FILIPPOVA, S.N. Optimizatsiya zashitnykh sred dlya chraneniya actinomycetov v zhidkom azote. V: S.N. Filippova, N.A. Surguchiova, V.D. Kuznetsov, G.I. Ael'-Registan, V.F. Gal'chenko. V: *Microbiologiya*, 2007, vol.76, №4, p.573-576. (Ru).
30. TADDEI, A., TREMARIAS, M.M., CAPRILES de, C.H. Viability studies on actinomycetes. In: *Mycopatologia*. 1999, vol.143, p.161-164.
31. BLANKOV, B.I., KLEBANOV, V.L. *Primenenie liofilizatsii v microbiologii*. Moskva: Medgiz, 1961. 282 p. (Ru).
32. POSTOLACHI, O., BURTEVA, S., POSTOLATI, G. Modificarea spectrului aminoacid în biomasa streptomycetelor păstrate timp îndelungat. In: *Transaction on metrology and analytical methods of research*. ASM, Institute of Chemistry. Chișinău, 2010, p.231-237.
33. RIFAAT, H. Viability study of some locally isolated streptomycetes. In: *Journal of culture collections*, 2008-2009, vol.6, p.38-41.
34. IVANITSA, V.O. Rozrobka metodiv zbaeraezhenniya colectsii praktichno korysnich cul'tur mikroorganizmiv Odaes'kogo Universitetu. V: V.O. Ivanitsa, O.L. Rachimova, G.A. Kozhanova, T.V. Gudzenko i dr. *Tezisy Dokladov Nauchnoy Konferencii Microbni Biotehnologii*, Odesa. 2006, p.8. (Ua).
35. GHERNA, R. *Hranenie mikroorganizmov / Pod red. F. Gerhardta I dr.* Moskva: Mir, 1983, p.512-534. (Ru).
36. LAPAGE, S.P., SHELTON, J.E., MITCHELL, T.G., MCKENZIE, A.R. *Culture collections and the preservation of bacteria. Methods in Microbiology*. L.: Academic Press, 1970, vol.3A, p.135-228.
37. RUGAL', A.A. Vlianie saharov na degidratatsiu biopolimernyykh molekul v protsesse crioconservatsii. A.A. Rugal', V.N. Barvinchenko, N.P. Galagan, I.V. Siora, V.V. Turov. V: *Problemy kriobiologii*, 2007, vol.17, №4, p.374-384. (Ru).
38. SEMENOV, S.M. Sravnitel'naya otsenka nekotorykh sred suspendirovaniya pri liofilizatsii actinomycetov. V: *Antibiotiki*, 1973, vol.18, №11, p.1026-1028. (Ru).
39. TSUTSAEVA, A.A. Vlianie usloviy hraneniya na svoystva crikonservirovannoy i liofilizirovannoy kultury *Streptomyces fradiae* 25Ab12. V: A.A. Tsutsaeva, A.E. Anan'ina. *Problemy kriobiologii*, 2001, №1, p.52-59. (Ru).
40. MEYER, E.D., SINCLAIR, N.A., NAGY, B. Comparison of the survival and metabolic activity of psychrophilic and mesophilic yeasts subjected to freeze-thaw stress. In: *Applied Microbiology*, 1975, June, vol.29, №6, p.739-744.
41. ABADIAS, M., BENABARRE, A., TEIXIDÓ, N., USALL, J., VIÑAS, I. Effect of freeze drying and protectants on viability of the biocontrol yeast *Candida sake*. In: *International Journal Food Microbiology*, 2001, vol.65, №3, p.173-182.
42. COSTA, E., USALL, J., TEIXIDO, N., GARCIA, N., VINAS, I. Effect of protective agents, rehydration media and initial cell concentration on viability of *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 subjected to freeze-drying. In: *Journal Applied Microbiology*, 2000, vol.89, p.793-800.
43. KORNIENKO, A.F. Vplyv liofilizatsii i stroku zbaeriganiya zhyttezdatnosti ta biochimichni vlastivosti gruntovykh aktinomitsetiv. V: A.F. Kornienko, R.T. Safarova, O.G. Gudkova. *Mikrobiologichnyi zhurnal*, 1977, vol.39, №5, p.642-643. (Ua).

44. KUPLETSKAYA, M.B. Metody dlitel'nogo hraneniya collectsii mikroorganizmov kafedry microbiologii Moskovskogo Gosudarstvennogo Universiteta. In: M.B. Kupletskaya, Z.A. Arcad'eva. *Microbiologiya*, 1997, vol.66, №2, p.283-288. (Ru).
45. MIYAMOTO-SHINOHARA, Y., IMAIZUMI, T., SUKENOBE, J., MURAKAMI, Y., KAWAMURA, S., KOMATSU, Y. Survival rate of microbes after freeze-drying and long-term storage. In: *Cryobiology*, 2000, vol.41, p.251-255.
46. MORGAN, C. Freeze-Drying of Microorganisms. In: *Enciclopedia of Microbiology (Third Edition)*. Academic Press, 2009, p.162-173.
47. GAUZE, G.F., PREOBRAZHENSKAYA, T.P., SVESHNIKOVA, M.A., TERECHOVA L.P., MAXIMOVA, T.S. *Opredelitel' aktinomitsetov*. Moskva: Nauka, 1983, p.24. (Ru).
48. ZENOVA, G.M. *Pochvennye aktinomitsety*. Moskva: izdatel'stvo MGU, 1992, p.87. (Ru).
49. NETRUSOVA, A.I. *Praktikum po microbiologii*. Moskva, 2005. 603 p. (Ru).
50. MUÑOZ-ROJAS, J., BERNAL, P., DUQUE, E., GODOY, P., SEGURA, A., RAMOS, J. Involvement of Cyclopropane Fatty Acids in the Response of *Pseudomonas putida* KT2440 to Freeze-Drying. In: *Applied Environmental Microbiology*, 2006, vol.72, №1, p.472-477.
51. YOCHEVA, L., NAJDENOVA, M., DONCHEVA, D., ANTONOVA-NICOLOVA, S. Influence of the long-term preservation on some biological features of three streptomycetes strains, producers of antibiotic substances. In: *Journal of culture collection*, 2002, vol.3, p.25-32.

Prezentat la 04.04.2016

INFLUENȚA NANOPARTICULELOR TiO_2 ȘI Fe_3O_4 ASUPRA CREȘTERII ȘI COMPOZIȚIEI BIOCHIMICE A TULPINII DE LEVURI

RHODOTORULA GRACILIS CNMN-Y-30

Alina BEȘLIU, Elena CHIRIȚA, Agafia USATÎ

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM

În lucrare sunt prezentate rezultatele cercetării privind influența nanoparticulelor anorganice TiO_2 și Fe_3O_4 cu dimensiunea de 30 nm, în diferite concentrații, asupra procesului de creștere și componenței biochimice a biomasei tulpinii de levuri *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. S-a constatat că nanoparticulele în concentrații de 0,5 până la 5,0 mg/L nu modifică în mod semnificativ procesul de reproducere a celulelor și productivitatea levurii. Efectul pozitiv se manifestă prin modificări favorabile ale conținutului de carbohidrați și proteine la cultivare în prezența nanoparticulelor TiO_2 și Fe_3O_4 .

Cuvinte-cheie: nanoparticule, cultivare, levuri, celule, productivitate, proteină, carbohidrați.

INFLUENCE NANOPARTICLES Fe_3O_4 AND TiO_2 ON GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF YEAST STRAIN *RHODOTORULA GRACILIS* CNMN-Y-30

The present work provides the results of the research of the influence of the inorganic nanoparticles TiO_2 and Fe_3O_4 with the size of 30 nm, in different concentrations, on the growth process and biochemical composition of biomass stalk of the yeast *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30. It has been found that nanoparticles at concentrations of 0.5 to 5.0 mg/L did not significantly alter the reproduction of the cells and the productivity of the yeast. The positive effect is manifested by favorable changes in carbohydrate and protein content, at the cultivation in the presence of the nanoparticles TiO_2 and Fe_3O_4 .

Keywords: nanoparticles, cultivation, yeast cells, productivity, protein, carbohydrates.

Introducere

Dezvoltarea nanochimiei a permis de a crea structuri cu dimensiuni situate în diapazonul de 100 nm (10^{-9} m), care și-au găsit aplicare în diverse ramuri ale activității umane. Proprietăți caracteristice nanoparticulelor sunt forma, dimensiunile, suprafața specifică mărită.

La moment, direcția nanotehnologică, legată cu influența posibilă a nanoobiectelor asupra funcțiilor organismelor vii și structurilor celulare, rămâne puțin studiată. Reieșind din aceste considerente, oportune devin cercetările științifice ale influenței nanoparticulelor metalice asupra microorganismelor și altor organisme vii și, de asemenea, utilizarea lor în biotehnologie. O mare atenție se acordă evaluării influenței nanoparticulelor asupra funcțiilor vitale ale microorganismelor, în special asupra modificărilor proprietăților morfologice, gradului de inhibare a creșterii și dezvoltării populației celulare, de modificare a activității metabolice și al. [1]. Utilizarea microorganismelor ca obiecte de studiu al efectelor nanoparticulelor dispune de un număr mare de avantaje, dintre care menționăm dimensiunile reduse ale microorganismelor și o suprafață mare de contact cu mediul, viteza sporită de creștere și reproducere, care permite a urmări într-un timp scurt influența unor substanțe pe mai multe generații de organisme, oferă posibilitatea de a analiza efectul factorilor de studiu asupra proprietăților morfologice, fiziologice, genetice etc.

Unii cercetători au demonstrat posibilitatea de utilizare a nanoparticulelor de fier, cobalt și cupru asupra dezvoltării *Candida ssp.* și *Aspergillus ssp.* S-a constatat că nanoparticulele de fier nu au efect pronunțat asupra fungilor, în timp ce nanoparticulele de cupru inhibă dezvoltarea *Candida albicans* și *Aspergillus niger* [2].

Nanoparticulele și nanocompozitele sunt utilizate pe scară largă în cataliză, cercetarea cosmonautică și al. [3]. În ultimul timp se efectuează investigații privind utilizarea nanoparticulelor în medicină. De exemplu, pentru elaborarea unor substanțe sanitaro-igienice de generație nouă, a implantelor, a sistemelor de livrare a medicamentelor, a straturilor antimicrobiene pentru ambalarea dispozitivelor biomedicale [4].

În acest context prezintă interes studiul influenței nanoparticulelor de TiO_2 și Fe_3O_4 asupra creșterii tulpinii de levuri *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30 și al componenței biochimice a biomasei celulare levuriene.

Material și metode

Obiect de studiu. În cadrul cercetărilor a fost utilizată levura pigmentată *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30, selectată ca producător de proteine și carotenoide. Tulpina este depozitată în colecția Laboratorului Biotehnologia Levurilor și în Colecția de Microorganisme Neapatogene a IMB al AȘM.

Nanomateriale: În cercetări au fost utilizate nanoparticule TiO_2 (30 nm) și Fe_3O_4 (30 nm), stabilizate în polivinilpirolidon (PVP), puse la dispoziția noastră cu multă amabilitate de către cercetătorii Institutului de Inginerie Electronică și Nanotehnologii „D.Ghițu” al AȘM.

Concentrațiile nanoparticulelor utilizate în experiențe la cultivarea levurii au constituit 0,5, 1,0, 5,0 mg/L. În calitate de martor a fost cercetată varianta fără aplicarea nanoparticulelor.

Medii de cultură. Pentru inoculare și cultivarea submersă a levurii au fost utilizate mediile de fermentație specifice tulpinilor în studiu YPD și must de malț [5].

Cultivarea submersă s-a efectuat în baloane Erlenmeyer cu capacitatea de 1,0 L, pe agitator cu viteza de rotație 200 rot./min, la temperatura de 25°C, gradul de aerare 80,0...83,0 mg/L, durata de cultivare submersă 120 ore. Mediul lichid de fermentare a fost însemănat în volum de 5% cu inocul 2×10^6 celule/ml.

Metode de realizare a cercetărilor. Numărul de celule dezvoltate pe mediul lichid a fost determinat spectrofotometric conform metodelor cunoscute [6]. Biomasa levuriană a fost determinată gravimetric [7]. Carbohidrații totali în biomasa de levuri au fost determinați la spectrofotometrul PG T60 VIS Spectrophotometer la lungimea de undă 620 nm cu utilizarea reactivului antron și D-glucozei în calitate de standard [8]. Proteina a fost determinată spectrofotometric conform metodei Lowry [9], utilizând în calitate de standard albumina cristalină din serul bovinelor.

Conținutul de oxigen a fost măsurat cu Oximetrul portabil – Oxi-315i/SET 2B10-0011 (2008).

Valorile pH-ului mediului de cultivare au fost determinate cu pH-316i MeBketten WTW, Germania (2008).

Prelucrarea statistică a rezultatelor s-a realizat cu ajutorul setului de programe Statistica 7; veridicitatea – în comparație cu martorul - $p \leq 0,05$.

Rezultate și discuții

În studiu, rezultatele cărui sunt prezentate în continuare, au fost monitorizați următorii indici de dezvoltare a levurii: reproducerea celulelor, producția de biomasă celulară, conținutul de proteine și carbohidrați.

Studierea particularităților de reproducere a celulelor s-a monitorizat timp de 48 ore de cultivare în profunzime. Cercetările au demonstrat că, pe durata ciclului de cultivare, nanoparticulele TiO_2 în concentrație de 0,5 și 1,0 mg/L rețin multiplicarea celulelor, efect mai pronunțat observându-se după 18 ore de cultivare (Fig.1). În experiențele cu nanoparticulele Fe_3O_4 , valorile densității optice a celulelor *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30 nu s-au modificat esențial în comparație cu condițiile standard de cultivare, cu excepția concentrației de 5 mg/L care reține neesențial reproducerea celulelor.

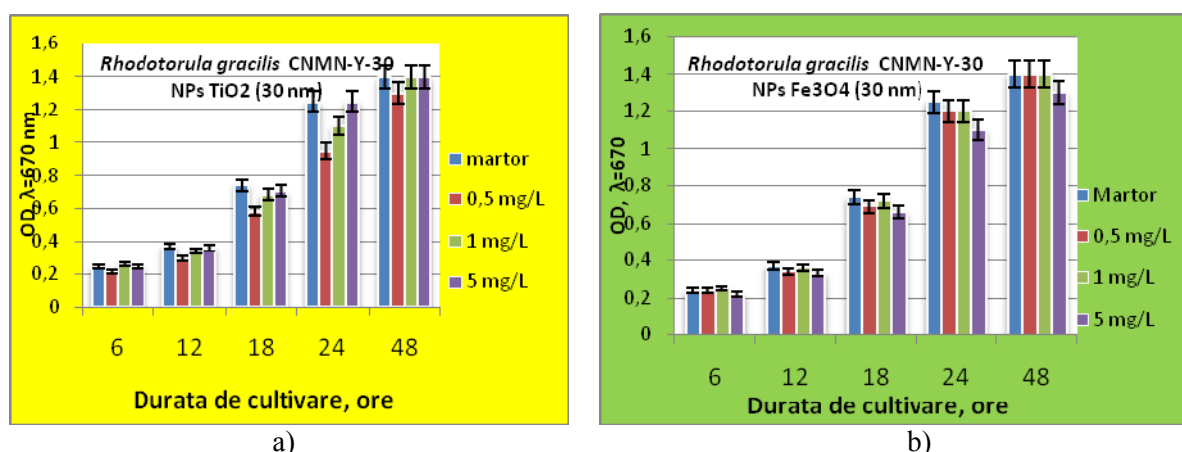


Fig.1. Valorile densității optice (OD) a celulelor tulpinii de levuri *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30 la cultivare în prezența NPs TiO_2 (a) și Fe_3O_4 (b).

Studiul privind productivitatea biomasei uscate obținute după 120 ore de cultivare în profunzime a relevat că concentrațiile nanoparticulelor TiO_2 și Fe_3O_4 utilizate la cultivarea tulpinii *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30 nu inițiază dereglări esențiale în dezvoltarea levurii pe mediul YPD (Fig.2).

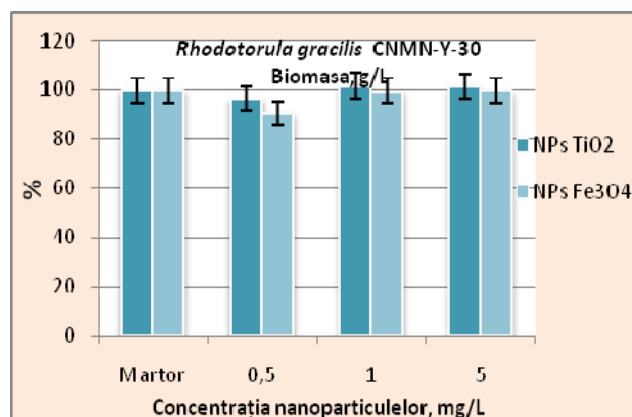


Fig.2. Influența nanoparticulelor TiO_2 (30 nm) și Fe_3O_4 (30 nm) asupra acumulării biomasei tulpinii *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30.

Analiza rezultatelor obținute în cazul determinării conținutului de proteine în biomasa levurii indică un spor cu 15% pentru nanoparticulele TiO_2 și cu 23% pentru Fe_3O_4 , comparativ cu proba martor (Fig.3).

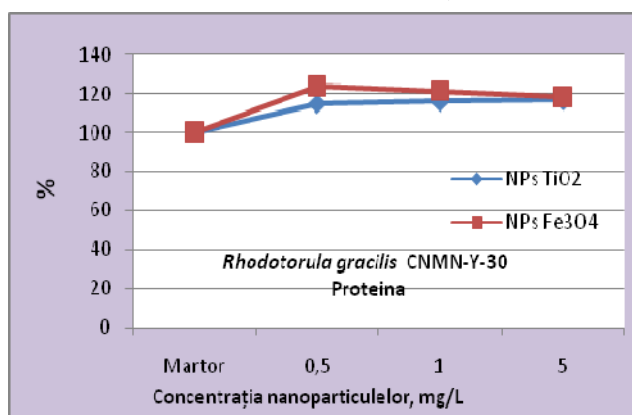


Fig.3. Efectul nanoparticulelor TiO_2 (30 nm) și Fe_3O_4 (30 nm) asupra conținutului de proteine la tulpina *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30.

Reacția de răspuns a tulpinii *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30 se manifestă prin modificări favorabile ale conținutului de carbohidrați. La concentrațiile nanoparticulelor TiO_2 și Fe_3O_4 de 0,5, 1,0 și 5,0 mg/L în mediul de cultivare, conținutul de carbohidrați sporește cu 10%, respectiv, cu 15% față de martor (Fig.4), ceea ce poate fi considerat că nanoparticulele testate prezintă un factor preferențial pentru dezvoltarea culturii levuriene.

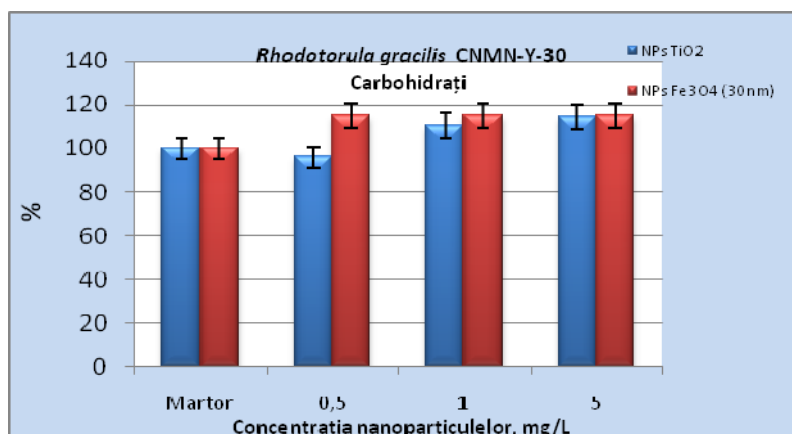


Fig.4. Efectul nanoparticulelor TiO_2 (30 nm) și Fe_3O_4 (30 nm) asupra conținutului de carbohidrați la tulpina *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30.

Concluzii

S-a constatat că nanoparticulele cu compoziție diferită TiO_2 (30 nm) și Fe_3O_4 (30 nm), în concentrații de 0,5, 1,0 și 5,0 mg/L, nu modifică semnificativ procesul de reproducere a celulelor și producția de biomasă a levurii *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30.

Efectul nanoparticulelor TiO_2 (30 nm) și Fe_3O_4 (30 nm) se manifestă prin sporirea conținutului de proteine și carbohidrați în biomasa probelor experimentale ale culturii de levuri pigmentate *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-30.

Referințe:

1. МАЛЬТАНОВА, А., КОЧЕРЫГИН, Б. Влияние наночастиц Au, Au-Sn и Cu на биологические системы. В: *Вестник ВДУ*, 2011, №6(66), с.31-35. УДК 577.3.
2. КОНОПЛЕВА, В.А. и др. Влияние металлических и гидроксидных наночастиц железа, меди и кобальта на *Candida ssp.* и *Aspergillus ssp.* В: *Проблемы медицинской микологии*, 2010, №2, с.101.
3. DARRIUS, V., MING, S., LEI, F. The Multivariate Potentials of Iron Oxide Nanoparticles in Drug Delivery. In: *Nanoscape*, Spring 2004, Issue 1, p.71-75.
4. MRINMOY, DE., PARTHA, S., GHOSH., VINCENT, M. Applications of Nanoparticles in Biology. *Adv. Mater.* 2008, p.20. ISSN 4225-4241 DOI: 10.1002/adma.200703183
5. AGUILAR-USCANGA, B., FRANCOIS, J. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. In: *Letters in Applied Microbiology*, 2003, p.268-274.
6. БУРЬЯНЬ Н. *Практическая микробиология виноделия*. Симферополь: Таврида, 2003, с.560.
7. HONG-ZHI LIU, QIANG WANG, XIAO-YONG LIU, SZE-SZE TAN. Effects of spaceflight on polysaccharides of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. In: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, p.543-550.
8. DEY, P.M. & HARBORNE, J.B. *Methods in Plant Biochemistry*. Vol.2. Carbohydrates, Academic Press, 1993, p.529.
9. LOWRY, O., ROSEBOUGH, N., FARR, A. et. al. Protein measurement with the folin phenol reagent. In: *J. Biol. Chem.*, 1951, vol.193, p.265-275.

Prezentat la 08.02.2015

PROCEDEU INOVATIV DE CULTIVARE A LEVURII *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* CNMN-Y-18 PRODUCĂTOARE DE MANOPROTEINE

Agafia USATÎI, Ludmila BEJENARU, Elena TOFAN

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM

Lucrarea oferă informații noi despre influența diferitelor concentrații de nanoparticule TiO_2 și ZnO/MgO asupra conținutului de biomasă și manoproteine la levuri. S-a constatat că nanoparticulele TiO_2 cu dimensiuni de 30 nm, în concentrații de 10 și 15 mg/L, au capacitatea de a stimula biosinteza manoproteinelor în biomasa tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, însușiri care nu le-au manifestat nanoparticulele ZnO/MgO . Se propune un procedeu nou de cultivare a levurii cu aplicarea nanoparticulelor dioxidului de titan ce asigură un conținut sporit de manoproteine.

Cuvinte-cheie: nanoparticule TiO_2 , ZnO/MgO , *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, biomasă, manoproteine.

NEW METHOD FOR CULTIVATION OF MANNOPROTEIN-PRODUCING *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* CNMN-Y-18 YEAST

The paper provides new information about the influence of different TiO_2 and ZnO / MgO nanoparticle concentrations on biomass accumulation and mannoprotein content in yeasts. It has been found that the TiO_2 nanoparticles of 30 nm in size and of 10 and 15 mg/L concentrations have the ability to stimulate the biosynthesis of mannoproteins in the biomass of the *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 strain, features that have not been shown by the ZnO/MgO nanoparticles. We propose a new method of yeast cultivation with titanium dioxide nanoparticles application that provides enhanced content of mannoproteins.

Keywords: TiO_2 , ZnO/MgO nanoparticles, *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, biomass, mannoproteins.

Introducere

Aplicarea nanoparticulelor anorganice la cultivarea microorganismelor prezintă un domeniu recent în cercetările de nanobiotehnologie. Există ipoteza că nanoparticulele (NPs) influențează dezvoltarea microorganismelor [1]. În lucrările mai multor autori sunt expuse rezultatele efectului diferitelor nanoparticule (oxizi ai Au, Ag, Ti, Si, Zn) asupra celulei microbiene, din care concluzionăm că acestea, în dependență de compoziție și concentrație, pot modifica procesele metabolice la microorganisme [2, 3].

Comparativ cu alți agenți antimicrobieni, TiO_2 prezintă interes pentru cercetători datorită stabilității înalte, nu este toxic pentru mediul înconjurător, este ieftin, posedă activități bioactive etc. Unele mecanisme posibile de influență a nanoparticulelor TiO_2 la nivel celular au fost cercetate de către mai mulți specialiști în domeniu, care au elucidat anumite procese ce au loc în cazul contactului cu nanoparticule [4, 5].

Conform rezultatelor din literatura de specialitate, concentrația minimă inhibitorie (MIC – minimum inhibitory concentration) a nanoparticulelor este variată și depinde de microorganismul cercetat. Spre exemplu, pentru *Escherichia coli* și *Candida albicans* MIC a nanoparticulelor TiO_2 constituie $9,7 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, iar pentru *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* MIC este de $19,0-19,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ [6].

În general, schimbările în starea fiziologică a celulei și reacția la influența factorilor externi sunt legate de structura și dinamica peretelui celular. Conform cercetărilor Ya-Nan Chang [7], mecanismul de influență a nanoparticulelor CuO și ZnO asupra celulei microbiene este complex și atrage asupra sa modificări atât în membrana celulară, cât și în citoplasmă. Reieșind din faptul că compoziția biomasei de levuri ar putea fi modificată în mod semnificativ prin intermediul mediului de cultură, este important a evidenția factorii care pot îmbunătăți performanțele biotehnologice ale producătorului.

Cele expuse mai sus determină importanța evaluării efectelor unor nanoparticule asupra tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 și aprecierea perspectivelor de aplicare a acestora în biotehnologia producerii manoproteinelor.

Material și metode

Obiecte de studiu, medii de cultură, condiții de cultivare. În cadrul cercetărilor a fost utilizată tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 selectată ca producătoare de manoproteine [8]. Tulpina este păstrată în colecția Laboratorului Biotehnologia Levurilor și în Colecția de Microorganisme Neputogene a IMB al AȘM.

În cercetări au fost utilizate nanoparticule TiO_2 cu dimensiuni de 30 nm și ale nanocompozitului ZnO/MgO cu dimensiuni de 10,2 nm/11,7 nm, stabilizate în polivinilpirolidon (PVP), puse la dispoziția noastră cu multă amabilitate de către cercetătorii Institutului de Inginerie Electronică și Nanotehnologii al AȘM. Concentrațiile nanoparticulelor cercetate în experiențe la cultivarea levurii au constituit 0,5, 1,0, 5,0, 10,0 și 15 mg/L. În calitate de martor a fost cercetată varianta fără aplicarea nanoparticulelor.

Pentru inoculare și cultivarea submersă a levurii a fost utilizat mediul de fermentație specific YPD [9]. Cultivarea submersă a fost efectuată în baloane Erlenmeyer cu capacitatea de 1,0 L, pe agitator cu viteza de rotație 200 rot/min, la temperatura de 25°C, durata de cultivare submersă 120 de ore. Mediul lichid de fermentare a fost însemănat în volum de 5% cu inocul 2×10^6 celule/ml.

Metode de cercetare. Biomasa levuriană a fost determinată gravimetric potrivit procedurii descris în [10]. Conținutul de manoproteine a fost determinat gravimetric conform metodei descrise în [11].

Prelucrarea statistică a rezultatelor s-a efectuat computerizat cu utilizarea programului Excel, cu calcularea erorilor standard pentru valorile relative și medii și a pragului de semnificație $p < 0,05$.

Rezultate și discuții

Din punct de vedere biotehnic, este important a stabili gradul de modificare a capacităților biosintetice ale culturii de levuri sub acțiunea nanoparticulelor aplicate în procesul de cultivare. Studiul privind conținutul de biomasă uscată obținută după 120 ore de cultivare în profunzime a relevat că concentrațiile 0,5, 1,0 și 5,0 mg/L de nanoparticule ale TiO_2 și ale nanocompozitului ZnO/MgO sunt tolerate de către tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 (Fig.1). Cantitatea de biomasă în probele experimentale variază în limitele $5,25 \pm 0,01 \dots 5,61 \pm 0,08$ g/L s.u., rezultate care sunt apropiate matorului ($5,32 \pm 0,11$ g/L s.u.). Totodată, cercetările experimentale au demonstrat că în concentrații de 10 și 15 mg/L nanocompozitul ZnO/MgO sporește cu 20-25% producția de biomasă.

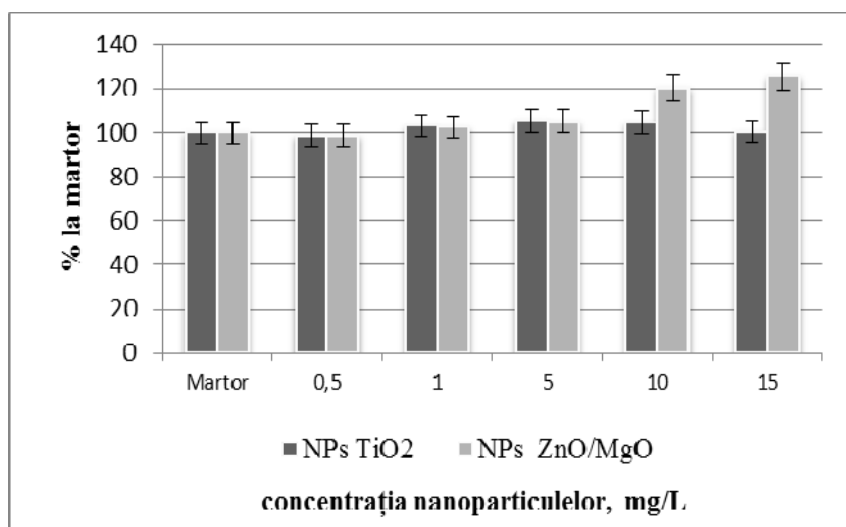


Fig.1. Cantitatea de biomasă *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, la cultivare în prezența nanoparticulelor TiO_2 și a nanocompozitului ZnO/MgO.

În scopul aprecierii efectului nanoparticulelor asupra proceselor biosintetice ale levurii au fost realizate experimente de determinare a conținutului de manoproteine. Analiza rezultatelor conținutului de manoproteine în biomasa culturii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, la cultivare pe mediul YPD suplimentat cu nanoparticule, indică o stabilitate relativă. La concentrații mici (0,5, 1,0 și 5,0 mg/L) de nanoparticule ale ZnO/MgO, cultura de levuri acumulează practic aceeași cantitate de manoproteine, ca și în condiții standard. În cazul nanoparticulelor TiO_2 la concentrațiile de 10 și 15 mg/L are loc o creștere evidentă cu 19,0 - 22,6% a conținutului de manoproteine față de mator (Fig.2).

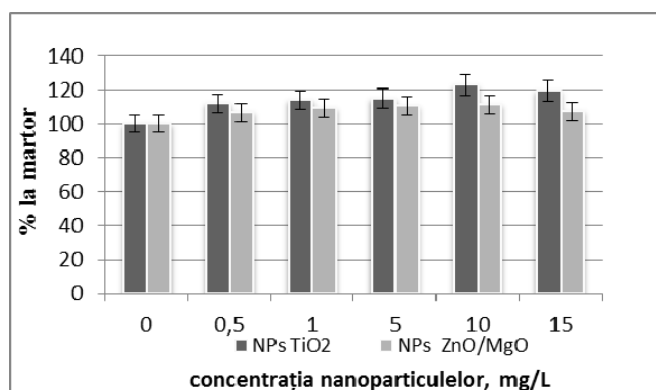


Fig.2. Conținutul de manoproteine în biomasa *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, cultivată în prezența nanoparticulelor TiO₂ și a nanocompozitului ZnO/MgO.

În scopul aprecierii impactului nanoparticulelor asupra culturii de *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18, au fost calculați coeficienții de determinare, care reflectă corelarea dintre conținutul de manoproteine în biomasa și concentrațiile nanoparticulelor. Analiza legăturii dintre parametrii conținutului de manoproteine și concentrațiile nanoparticulelor TiO₂ și ZnO/MgO adăugate în mediul de cultură YPD a stabilit o legătură ascendentă a unei valori care implică, la rândul său, o tendință ascendentă a celeilalte valori. Legătura dintre ele, identificată ca $R^2 = 0,5565$ pentru TiO₂, sau 0,55% din variația valorilor acumulării manoproteinelor, argumentează ipoteza existenței unei legături moderate în baza căreia pot fi pronosticate valorile uneia în raport cu valorile celeilalte pe baza ecuației de regresie (Fig.3). Calculul coeficientului de determinare pentru conținutul de manoproteine în variantele experimentale în care s-a adăugat nanoparticulele ZnO/MgO a relevat o asociere neesențială. Coeficientul de determinare constituie $R^2 = 0,1763$.

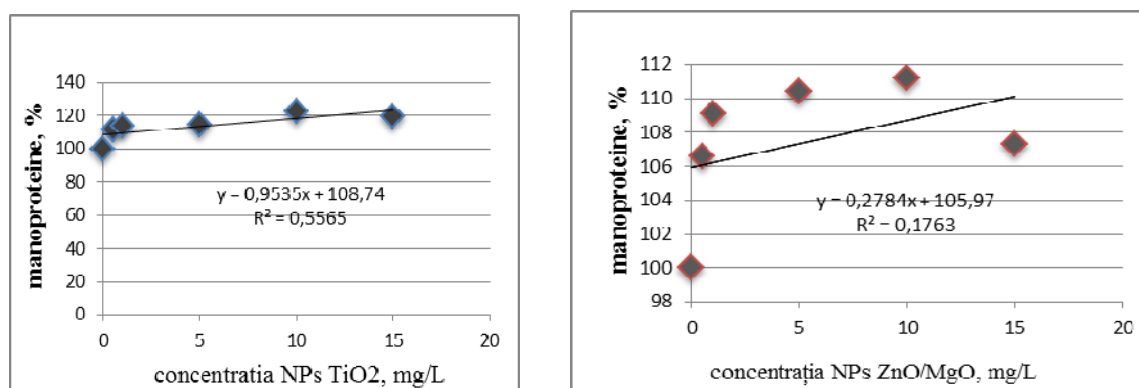


Fig.3. Relația dintre conținutul de manoproteine și concentrația de nanoparticule TiO₂ și ZnO/MgO la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18.

În așa mod, studiul influenței a două tipuri de nanoparticule TiO₂ și ZnO/MgO asupra culturii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 a stabilit lipsa efectului vizibil al concentrațiilor 0,5, 1,0, și 5,0 mg/L asupra producției de biomasa și doar concentrațiile de 10 și 15 mg/L ale nanoparticulelor ZnO/MgO sporesc cantitatea de biomasa cu 20-25%. În cazul conținutului de manoproteine, rezultatele obținute denotă că nanoparticulele dioxidului de titan, în concentrații de 10 și 15 mg/L, au o tendință stabilă de a majora cu până la 23% cantitatea acestora. Examinarea relației dintre cantitatea de manoproteine și concentrațiile nanoparticulelor adăugate în mediu de cultură YPD a demonstrat un grad de dependență mediu pentru TiO₂ și un grad mic pentru nanoparticulele ZnO/MgO.

Pornind de la faptul că efectul nanoparticulelor TiO₂ este unul pozitiv asupra biosintezei manoproteinelor, este considerat oportun de a elabora un procedeu de cultivare a levurii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 cu aplicarea nanoparticulelor în scopul sporirii performanței biotehnologice. În contextul acestui deziderat, propunem următorul procedeu.

Se prepară mediul nutritiv YPD cu componența, g/L: peptonă – 20,0; glucoză – 20,0; extract de levuri – 10,0. La acest mediu se adaugă suplimentar o cantitate de 10 mg/L nanoparticule TiO₂. pH-ul mediului se

ajustează la valori între 5,5 și 6,6. În mediul preparat se introduce inoculul (cultură de levuri cu vârsta de 24 ore) în volum de 5% (2×10^6 celule/ml). Cultivarea în profunzime derulează la temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ și la agitare permanentă (gradul de aerare 80,0...83,0 mg/L oxigen solvit); durata de cultivare submersă 120 de ore.

Biomasa se colectează prin centrifugare la 3000 rpm., timp de 15 minute.

Procesul de extragere a manoproteinelor din biomasa levuriană se efectuează aplicând metoda Hong Zi Liu [8], în modificarea noastră:

10 g drojdie proaspătă (30% s.u.), la care se adaugă 10 ml apă sterilă, se supune autolizei la 50°C timp de 24 de ore. După autoliză amestecul se încălzește la 80°C timp de 15 min., se răcește, se centrifughează. Depozitul obținut (pereții celulari) se tratează cu 1 N NaOH, timp de 2 ore la temperatura de $80 \pm 5^\circ\text{C}$; supernatantul se colectează. Supernatantul se concentrează la 1/5 din volumul inițial, se adaugă etanol absolut în volum triplu pentru precipitarea manoproteinelor. Precipitatul manoproteic se dizolvă în apă, se centrifughează, supernatantul se tratează din nou cu alcool (1:3), se centrifughează. Sedimentul alb se spală de două ori cu etanol absolut, se usucă la $50 \pm 5^\circ\text{C}$. Produsul obținut este manoproteina.

În cazul aplicării prezentului procedeu se obțin $5,58 \pm 0,02$ g/L biomasă uscată ce conține $12,87 \pm 0,03\%$ manoproteine. În probele martor fără aplicarea nanoparticulelor conținutul de biomasă constituie $5,32 \pm 0,11$ g/L ce conține $10,5 \pm 0,05\%$ manoproteine. Procedul propus este mai eficient datorită aplicării nanoparticulelor TiO_2 ; ca rezultat, se obțin cu 22,6% mai multe manoproteine.

Concluzii

1. Nanoparticulele TiO_2 au demonstrat capacitatea de a modifica conținutul de manoproteine în biomasa levurii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-18 și corelează cu concentrațiile utilizate. Efectul pozitiv maxim este exprimat de concentrația 10 mg/L care sporește acumularea manoproteinelor cu 22,6% comparativ cu varianta martor.
2. Nanoparticulele ZnO/MgO manifestă efect de stimulare a productivității levurii, în concentrații de 10 și 15 mg/L, acumularea biomasei celulare sporește cu 20-25%.
3. Procedul elaborat asigură obținerea biomasei levuriene cu un conținut sporit de manoproteine echivalent cu $12,87 \pm 0,03\%$.

Referințe:

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. In: *Letters in Applied Microbiology*, 2003, vol.37, p.268-274.
2. BAN, D.K., PAUL, S. Zinc Oxide Nanoparticles Modulates the Production of β -Glucosidase and Protects its Functional State Under Alcoholic Condition in *Saccharomyces cerevisiae*. In: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2014, vol.173, p.155-166.
3. CHANG, Y.N., ZHANG, M., XIA, L., ZHANG, J., XING, G. The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. In: *J. Materials*, 2012, vol.5, p.2850-287.
4. EL-DIASTY, E.M., AHMED, M.A., NAGWA, O., SALWA, F.M., SAMAA, I. EL-DEK., HANAA, M. ABD EL-KHALEK, MARIAM, H.Y. Antifungal activity of Zinc Oxide Nanoparticles against dermatophytic lesions of cattle. In: *Romanian J. Biophys.*, Bucharest, 2013, vol.23, no.3, p.191-202.
5. EL-SAID K.S., EHAB, M.A., KOKI, K., AKIYOSHI, T. Molecular mechanism of DNA damage induced by titanium dioxide nanoparticles in toll-like receptor 3 or 4 expressing human hepatocarcinoma cell lines. In: *Journal of Nanobiotechnology*, 2014, p.1-10.
6. Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM. *Tulpină de drojdie Saccharomyces cerevisiae – producătoare de manani*: brevet MD nr.4216, Inventatori: USATÎI, A., MOLODOI, E., EFREMOVA, N., CHISELIȚA, N., BORISOVA, T., FULGA L. C12N 1/16, C12R 1/865. Publ. 15.08.2012, BOPI, 2013, nr.4.
7. LIU, H.Z., WANG, Q., LIU, Y. et al. Statistical optimization of culture media and conditions for production of mannan by *Saccharomyces cerevisiae*. In: *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2009, no.14, p.577-583.
8. LIU, H.Z., WANG, Q., YIN, H.E. Immunoactivities and antineoplastic activities of *Saccharomyces cerevisiae* manoprotein. In: *Carbohydrate Polymer*, 2011, vol.83, p.1690-1695.
9. MINJU, J., JEONG, M.P., EUN, J.L., YEA, S.C., CHUNGHYUN, L., JEONG, M.K., SANG, S.H. Cytotoxicity of Ultra-pure TiO_2 and ZnO Nanoparticles Generated by Laser Ablation. In: *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2013, vol.34, no.11, p.3301-3306.
10. PIȘKIN, S., ARZU, P., MÜGE, S.Y. Antimicrobial Activity of Synthesized TiO_2 Nanoparticles. In: *International Conference on Emerging Trends in Engineering and Technology*, Patong Beach, Phuket (Thailand), 2013.
11. RAI, M., DURAN, N. *Metal Nanoparticles in Microbiology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011, p.299.

Prezentat la 23.02.2016

MANIFESTAREA UNOR CARACTERE CANTITATIVE LA *TRITICUM AESTIVUM* L. ÎN REACȚIA LA FILTRATUL DE CULTURĂ *HELMINTHOSPORIUM AVENAE* EIDAM

Elena SAȘCO

Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al AȘM

Au fost studiate caracterele: *lungimea* rădăcinii embrionare și a tulpiniței la etapă timpurie a ontogenezei, *frecvența* de calusare a embrionilor maturi, *suprafața* și *biomasa* calusului la genotipurile-părinți de grâu comun de toamnă Niconia, Odeschi 267 și la hibrizii reciproci F₁, F₂, BC proveniți din încrucișarea reciprocă a genitorilor. S-a constatat că la formarea caracterelor de creștere în condiții optime (martor) a fost implicat genitorul matern Niconia. Pe fondal cu filtrat de cultură *H. avenae* în calitate de donator matern, dar și patern al rezistenței în cazul rădăcinii și doar matern – în cazul tulpiniței s-a manifestat genotipul rezistent Odeschi 267. Hibrizii combinației reciproce au demonstrat specificitate înaltă la manifestarea fenotipică a caracterelor *frecvența* de calusare și *suprafața* calusului, între indici fiind stabilite corelații negative în variantele martor și pe fondal cu FC *H. avenae*. În calitate de genitor eficient în ereditatea *frecvenței* de calusare s-a manifestat genotipul Niconia, pe când în cazul caracterului *suprafața* calusului a fost atestat părintele Odeschi 267. În expresia fenotipică a caracterelor de calusogeneză la hibrizii generațiilor F₁, F₂ s-a manifestat efectul matern, pe când cota varianței factorilor aditivi la hibrizii retroîncrucișați a fost influențată de forma paternă. Prin analiza clusteriană (dendrograme, *k*-medii) a indicilor de creștere și calusogeneză s-au constatat similarități și diferențe de repartiție a hibrizilor reciproci, manifestarea genelor ce controlează caracterele fiind influențată de FC *H. avenae*.

Cuvinte-cheie: *Triticum aestivum* L., hibrizi reciproci, filtrat de cultură *Helminthosporium avenae*, *lungimea* rădăcinii și tulpiniței, *frecvență* de calusare, *suprafața* și *biomasa* calusului.

THE MANIFESTATION OF SOME QUANTITATIVE CHARACTERS OF *TRITICUM AESTIVUM* L. IN REACTION TO *HELMINTHOSPORIUM AVENAE* EIDAM CULTURE FILTRATE

The following characters have been studied: the length of embryonic root and stem at early ontogenetic stage, the callus frequency of mature embryos, callus area and biomass of autumn common wheat parent genotypes Niconia, Odeschi 267 and reciprocal hybrids F₁, F₂, BC derived from reciprocal crossover of the genitors. It has been determined that maternal genitor Niconia was involved in the development of growth characters in optimum conditions (witness). On background with culture filtrate *H. avenae* the resistant genotype Odeschi 267 manifested as a maternal and also as paternal donor for the root and only maternal – for the stem. The hybrids of reciprocal combinations have demonstrated high specificity in phenotypic manifestation of callus frequency and callus area characters, between indexes being established negative correlations in witness and background choices with FC *H. avenae*. Genotype Niconia has been attested as an efficient genitor for the heredity of callus frequency, while for the callus area character – parent Odeschi 267. In phenotypic expression of callus genesis maternal effect manifested for characters at hybrids F₁, F₂, while the paternal form influenced the alternative proportion of additive factors in character expression at retro crossover hybrids. Through cluster analysis (dendrograms, *k*-means) of the growth index and callus genesis, it has ascertain similarities and repartition differences of reciprocal hybrids, the manifestation of genes that control characters – being influenced by FC *H. avenae*.

Keywords: *Triticum aestivum* L., reciprocal hybrids, *Helminthosporium avenae* culture filtrate, length of root and stem, frequency of callus, callus surface area and biomass.

Introducere

Agenții patogeni facultativi *Helminthosporium* sp. produc la culturile cerealiere putregaiul de rădăcină comun, manifestat de leziuni ovale, brunificate sub nodul de înfrățire sau la baza tulpinii. Complexul acestora cu fungii *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana* sau *Pyrenophora tritici-repentis*, în condiții de umiditate sporită, provoacă pătarea și putrezirea frunzelor la grâu, orz, ovăz. Pierderile de recoltă, evaluate la 3-50%, sunt raportate în multe regiuni ale lumii, în special în zonele de producere de cereale din Asia, Africa de Nord, Australia și Canada. Maladia este deosebit de severă în regiunile de stepă, unde frecvența înaltă a factorilor de stres afectează fiziologia gazdei [1,2]. În condițiile Republicii Moldova, incidența fungilor *Helminthosporium*, implicați în complexul de patogeni la grâul de toamnă, constituie 16,6-27,0% [3]. Cu o penetrare mai profundă a miceliului în țesutul gazdei este caracterizat fungul *Drechslera avenae* (Sin. *Pyrenophora chaetomioides*, *H. avenae*), ce-l face mai rezistent la diverse condiții, inclusiv tratament fungicid. Patogenitatea fiind determinată de capacitatea avansată de a produce metaboliți secundari [4]. În controlul și ereditatea caracterelor de

rezistență la patogeni se acordă o atenție deosebită implicării relațiilor nealelice, precum și factorilor citoplasmatici [2,5]. Ameliorarea genetică a rezistenței grâului în Asia de Sud se bazează pe surse din China și America de Sud, încrucișări interspecifice sau cu germoplasmă consangvinizată adaptată [1]. Prin colaborare integrată de CIMMYT, Mexic și Turcia au obținut progrese substanțiale în dezvoltarea germoplasmei rezistente [6].

Tehnica de cultură de țesut este considerată un instrument util în stabilirea abilității combinative a genitorilor, în alegerea celei mai bune forme materne și a hibridilor în cadrul programelor de ameliorare a grâului [7]. Abordarea metodologică complexă de evaluare a grâului de toamnă la filtratele de cultură ale patogenilor este determinată de existența unor relații pozitive între sensibilitatea sau toleranța plantelor întregi *in vivo* și a explantelor *in vitro* la metaboliții toxici. *Screening*-ul preventiv al liniilor nou-create la utilizarea metaboliților sau suspensiilor de spori ale agenților patogeni se efectuează implicând tulpinile patologice larg răspândite în localitatea dată [8,9]. Explantele frecvent utile la graminee sunt embrionii imaturi și anterele. Embrionii maturi prezintă vitrocultura cu capacități morfogenetice avansate, nelimitate de timp și, deci, mai puțin costisitoare. În acest context prezintă interes *screening*-ul genitorilor și hibridilor reciproci F₁, F₂ și BC de grâu comun de toamnă la filtratul de cultură *H. avenae* în condiții *in vivo* și *in vitro*.

Material și metode

Au fost investigate genotipurile de grâu comun de toamnă Niconia, Odeschi 267 și hibridii F₁, F₂ și BC proveniți din încrucișarea reciprocă a genitorilor. În calitate de factor selectiv a fost investigat filtratul de cultură (FC) de 21 zile a 3 tulpini *H. avenae* Eidam: integru, în condiții de laborator și în concentrație de 30% de volum în mediul Murashige-Scoog (MS) – în condiții *in vitro*. Semințele de grâu au fost tratate cu FC *H. avenae* timp de 18 ore, clătite cu apă distilată și menținute timp de 6 zile în cutii Petri între 2 foițe de hârtie de filtru umectată cu apă distilată la temperatura de 20-22°C. Reacția populațiilor de grâu la metaboliții fungici a fost apreciată în baza caracterelor de lungime a rădăciniței embrionare și a tulpiniței plantulelor (mm) [10]. În cazul culturii *in vitro*, semințele au fost sterilizate la suprafață cu etanol de 96%, timp de 50 sec., apoi cu soluție de clorură de calciu de 9% – 20-30 min., clătite de 4 ori și pregerminate 2 ore în vase cu apă sterilă la 32°C. Embrionii excizați au fost plasați pe mediul nutritiv MS, care conținea un set complet de macro- și microelemente, vitamine [11], acidul 2,4-diclorfenoxiacetic (2,4-D) 4 mg/l, mezo-inozitol 100 mg/l, zaharoză 30 g/l și agar-agar 7 g/l, pH-ul fiind ajustat la 5,8. Frecvența de calusare (%), suprafața (mm²) și masa brută a calusului (mg) au fost înregistrate la 28 zile de cultură. Variația caracterelor cercetate a fost analizată în pachetul de soft STATISTICA 7.

Rezultate și discuții

Creșterea rădăciniței și tulpiniței la hibridii reciproci de grâu de toamnă la etapă timpurie ontogenetică în varianta martor a înregistrat valori intermediare genitorilor (114,0±2,8...139,4±3,5 mm și 66,2±3,0...80,0±2,6 mm). Sub acțiunea FC *H. avenae* rădăcinița a fost veridic reprimată cu 5,3-25,5%, pe când tulpinița a manifestat creștere la nivelul martorului sau inhibare de până la 15,6% (*a se vedea* Tabelul).

Tabel

Manifestarea caracterelor de creștere la hibridii reciproci de grâu comun de toamnă (mm)

Genitori/hibridi reciproci	Lungimea rădăciniței		Lungimea tulpiniței	
	Martor	FC <i>H. avenae</i>	Martor	FC <i>H. avenae</i>
Niconia	138,4±3,1	110,5±3,2*	74,2±2,2	62,6±2,0*
Odeschi 267	122,8±4,2	112,5±3,7*	69,8±2,2	62,2±2,6*
F ₁ Niconia x Odeschi 267	123,8±4,5	117,2±3,9	69,1±2,7	65,8±2,7
F ₁ Odeschi 267 x Niconia	126,6±3,2	119,6±3,5*	69,2±1,8	66,5±2,3
F ₂ Niconia x Odeschi 267	136,7±4,2	101,8±4,7*	80,0±2,6	63,5±2,8*
F ₂ Odeschi 267 x Niconia	124,9±3,6	111,8±5,0*	72,3±1,8	73,8±1,5
BC (Niconia x Odeschi 267) x Niconia	116,4±4,4	95,8±4,0*	66,2±3,0	60,3±3,0
BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267	139,4±3,5	115,4±3,6*	73,2±2,4	63,9±1,9*
BC (Odeschi 267 x Niconia) x Odeschi 267	114,0±2,8	102,2±3,8*	71,1±2,2	68,9±2,3
BC (Odeschi 267 x Niconia) x Niconia	134,0±4,0	120,5±3,8*	75,2±2,2	71,3±2,1

* – deosebire cu suport statistic la nivelul p<0,05

Analiza clusteriană de repartiție în clase fenotipice a caracterelor de creștere în varianta martor a atestat similaritate înaltă de comportament la hibridii F_1 . În formarea lungimii rădăcinii și tulpiniței la hibridii F_2 Niconia x Odeschi 267, BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267 și BC (Odeschi 267 x Niconia) x Niconia a fost implicat efectul matern, dar și patern al genitorului Niconia, genotipurile date formând cluster comun cu valori sporite în raport cu hibridii reciproci respectivi. Sub acțiunea FC *H. avenae* genitorii Niconia și Odeschi 267 s-au situat la cea mai joasă distanță euclidiană, formând subcluster comun. În reacția la metabolizii fungici are loc majorarea sau diminuarea distanțelor dintre hibridii reciproci ca rezultat a implicării efectelor parentale în manifestarea reacției caracterelor de creștere. Astfel, grație efectului parental al genotipului cu rezistență avansată Odeschi 267, populațiile hibride F_2 Odeschi 267 x Niconia, BC (Odeschi 267 x Niconia) x Niconia și BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267 s-au situat în cluster distanțat de hibridii reciproci respectivi (Fig.1).

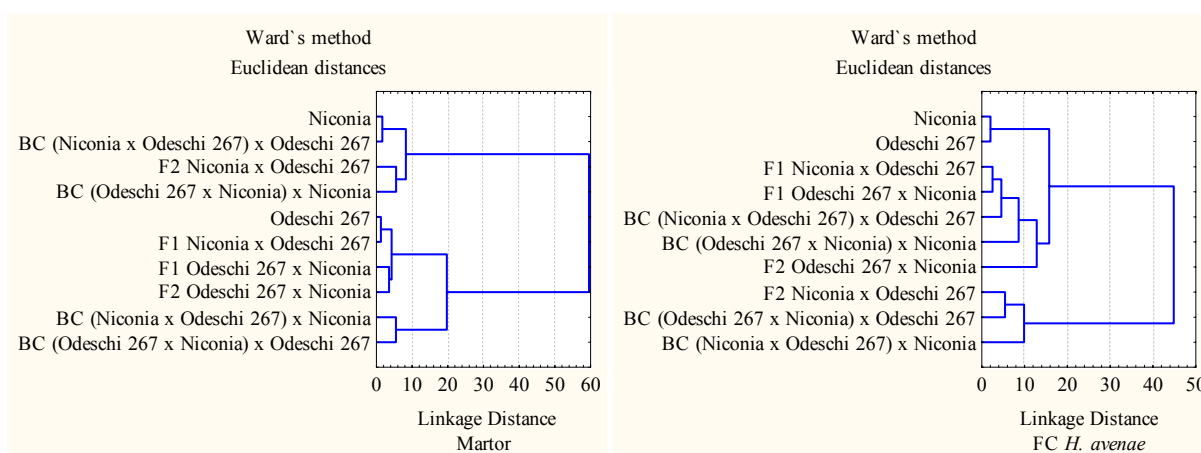


Fig.1. Dendrograma de distribuție a hibridilor reciproci de grâu comun în reacția caracterelor de creștere la FC *H. avenae*.

Lungimea rădăcinii a stabilit corelații pozitive înalte și medii cu lungimea tulpiniței și biomasa plantulei: în varianta martor – 0,73, 0,84 și 0,51, iar în varianta cu FC *H. avenae* – 0,41, 0,69 și 0,62. Fenomenul a atestat reacție diferențiată a rădăcinii și tulpiniței la FC *H. avenae*.

Frecvența de calusare la genitorul Odeschi 267 a fost veridic mai joasă decât la Niconia în ambele variante de cultură, iar la hibridii reciproci a manifestat valori intermediare genitorilor. Un rol mai important în formarea caracterului la hibridii retroîncrușiți în ambele variante l-a avut forma paternă Niconia, pe când, pe fondal cu FC, s-a atestat efectul matern la heterozigoții F_1 , iar cel patern – la descendenții F_2 . În reacția la FC *H. avenae* suprafața calusului a manifestat rezistență înaltă la genitorul Odeschi 267, pe când la populațiile hibride descendente indicele a manifestat reprimare de diferită intensitate. Genitorul Odeschi 267 a manifestat efect matern la nivelul generațiilor F_1 , F_2 atât în varianta martor, cât și pe fondal cu FC. În cazul descendenților retroîncrușiți, eficiența paternă a genitorului Odeschi 267 s-a constatat doar în varianta martor. Acumularea biomasei calusului la genitorii homozigoți a fost la nivel similar în ambele condiții de vitrocultură, dar, totodată, majorată sub influența metabolizilor fungici. În varianta martor s-a manifestat implicarea genitorului Odeschi 267 în sporirea acumulării biomasei calusului la hibridii F_2 Odeschi 267 x Niconia și BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267 în raport cu hibridii reciproci respectivi. Sub acțiunea FC *H. avenae* s-a produs inhibarea biomasei calusului la hibridii descendenți F_1 Odeschi 267 x Niconia și BC (Odeschi 267 x Niconia) x Odeschi 267 (Fig.2).

Frecvența de calusare a stabilit corelații negative joase cu suprafața calusului (-0,27; -0,13), dar pozitive joasă și medie (0,12; 0,64) – cu biomasa calusului, respectiv, în varianta mator și pe fondal cu FC. În ambele variante de cultură între suprafața și biomasa calusului au fost atestate corelații pozitive medii (0,62 și 0,24).

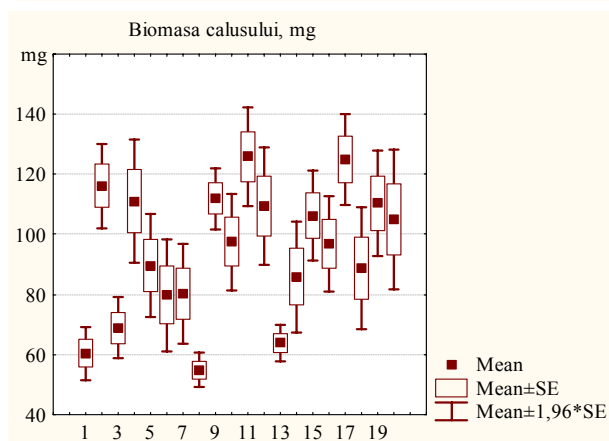
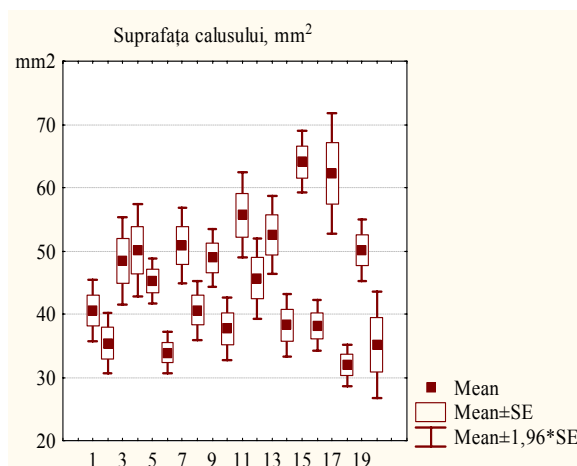
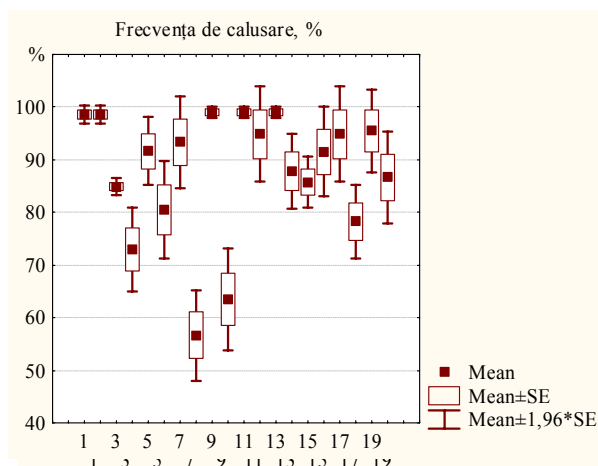


Fig.2. Particularitățile de calusogeneză la hibridii reciproci de grâu comun pe fondal cu FC *H. avenae*

Pe orizontală: 1, 2–Niconia; 3, 4–Odeschi 267; 5, 6–F₁ Niconia x Odeschi 267; 7, 8–F₁ Odeschi 267 x Niconia; 9, 10–F₂ Niconia x Odeschi 267; 11, 12–F₂ Odeschi 267 x Niconia; 13, 14–BC (Niconia x Odeschi 267) x Niconia; 15, 16–BC (Niconia x Odeschi 267) x Odeschi 267; 17, 18–BC (Odeschi 267 x Niconia) x Odeschi 267; 19, 20–BC (Odeschi 267 x Niconia) x Niconia
 Variante: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19–martor; 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20–FC *H. avenae*.

Prin construirea dendrogramelor (ward's method) de distribuție a genotipurilor de grâu în baza indicilor de calusogeneză s-au constatat diferențe de repartiție a hibridilor reciproci. Astfel, hibridii generației F₁, ca rezultată a similarității de moștenire a indicilor de calusogeneză, au format subcluster comun în varianta martor. Pe fondal cu FC *H. avenae* hibridii au fost repartizați în clustere diferite ca urmare a implicării formei materne în ereditatea caracterelor, ceea ce a și produs majorarea distanței euclidiene de la 11,1 la 35,2 (Fig.3).

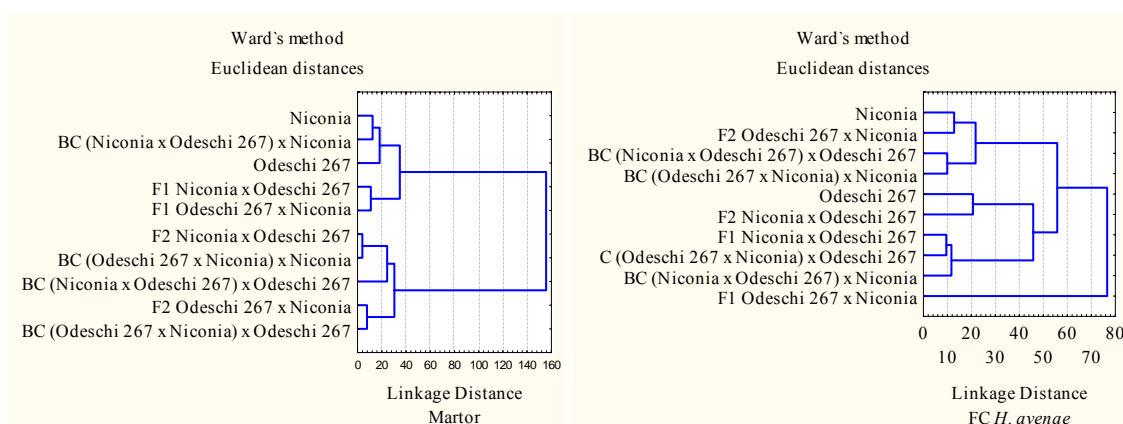


Fig.3. Dendrograma de repartiție a genitorilor și hibridilor descendenți de grâu comun în baza caracterelor de calusogeneză.

Clasificarea hibridilor reciproci în 3 clustere în baza analizei *k*-mediilor a stabilit în varianta martor capacitate înaltă de separare a indicelui *biomasa* calusului, pe când, pe fondal cu FC *H. avenae* – atât a *biomasei*, cât și a *frecvenței* de calusare. În componența clusterelor 1, 2 și 3 au fost distribuite populațiile: 3, 4; 5, 6, 8,

9, 10 și 1, 2, 7 – în varianta martor și, totodată, 4; 3, 5, 7, 9 și 1, 2, 6, 8, 10 – pe fondal cu FC *H. avenae* (variantele au fost numerotate conform Figurii 2). Deci, în varianta martor s-au separat doar componentele cu valori avansate ale suprafeței calusului, pe când pe fondal cu FC – cele cu valori joase (Fig.4).

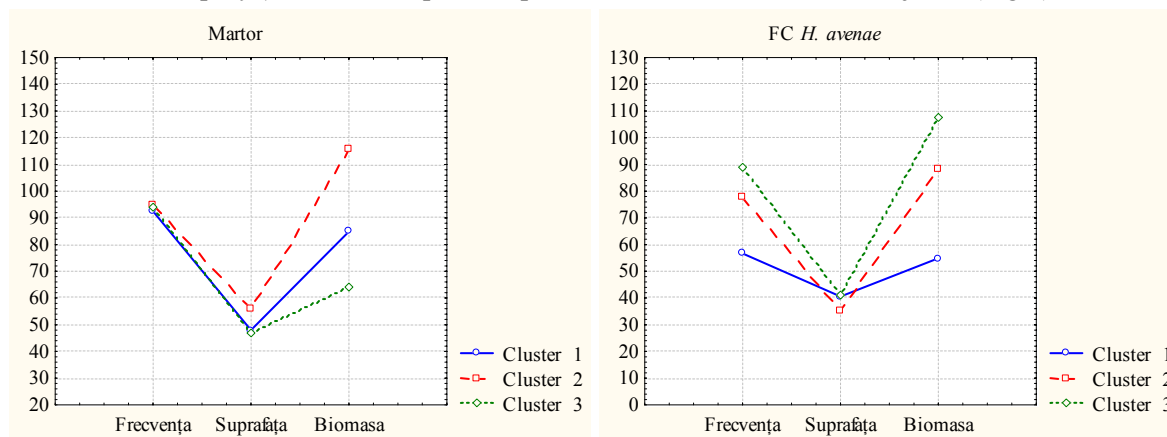


Fig.4. Analiza clusteriană (*k*-medii) de repartitie a genotipurilor de grâu în baza caracterelor de calusogeneză.

Concluzii

În formarea caracterelor *lungimea rădăcinii embrionare* și a *tulpiniței* la hibridii reciproci în condiții optime a fost implicat genitorul matern Niconia. Reacția plantelor de grâu la FC *H. avenae* a fost determinată de acțiuni ale genelor care tind să mărească sau să micșoreze sensibilitatea. În calitate de donator eficient matern, dar și patern al rezistenței rădăcinii și doar matern – în cazul tulpiniței, s-a manifestat genotipul rezistent Odeschi 267.

Hibridii combinației reciproce au demonstrat specificitate înaltă în manifestarea fenotipică a caracterelor *frecvența de calusare* și *suprafața calusului*, în variantele martor și pe fondal cu FC *H. avenae* indicii au stabilit corelații negative. În ereditatea *frecvenței* de calusare s-a manifestat implicarea genitorului Niconia, pe când în cazul *suprafeței* calusului a fost atestată eficiența părintelui Odeschi 267.

În expresia fenotipică a caracterelor de calusogeneză la hibridii generațiilor F_1 , F_2 s-a constatat efectul matern, pe când cota varianței factorilor aditivi în expresia caracterului la hibridii retroîncrușiți a fost influențată de forma paternă.

Prin analiza clusteriană (dendrograme, *k*-medii) a indicilor de calusogeneză s-au constatat similarități și diferențe de repartitie a hibridilor reciproci, manifestarea genelor ce controlează caracterele fiind influențată de FC *H. avenae*.

Referințe:

- DUVEILLER, E., SHARMA, R. Genetic Improvement and Crop Management Strategies to Minimize Yield Losses in Warm Non-traditional Wheat Growing Areas due to Spot Blotch Pathogen *Cochliobolus sativus*. In: *Journal of Phytopathology*, 2009, vol.157, nr.9, p.521-534.
- KUMAR, S. et al. Inheritance And Allelic Relationship Of Resistance Genes To Spot Blotch Of Wheat Caused By *Bipolaris Sorokiniana*. In: Buck, H. et al. (eds.). *Wheat Production in Stressed Environments. Developments in Plant Breeding*, 2007, vol.12, p.113-118. ISBN 978-1-4020-5497-6
- LUPAȘCU, G., SAȘCO, E., GAVZER, S. Componența speciilor de fungi care produc boli la *Triticum aestivum* L. În: *Buletinul AȘM. Științele vieții*, 2008, nr.2(305), p.66-73. ISSN 1857-064X
- CEGIELKO, M. et al. Pathogenicity of *Drechslera avenae* for leaves of selected oat genotypes and its ability to produce anthraquinone compounds. In: *Acta Scientiarum Poonorum, Hortorum Cultus*, 2011, vol.10(2), p.11-22.
- ÖZGEN, M. et al. Cytoplasmic effects on the tissue culture response of callus from winter wheat mature embryos. In: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2001, vol.64, p.81-84.
- NICOL, J. et al. The international Breeding Strategy for the Incorporation of resistance in bread wheat against the soil borne pathogens (Dryland root rot and cyst and lesion cereal nematodes) using conventional and molecular tools. In: Buck, H. et al. (eds.). *Wheat Production in Stressed Environments. Developments in Plant Breeding*, 2007, vol.12, p.125-137. ISBN 978-1-4020-5497-6

7. ABDEL-HADY, M. Heterosis and Combining Ability Effects for Callus Growth of Wheat (*Triticum durum*, Desf.) *In Vitro*. *Journal of Applied Sciences Research*, 2006, vol.2(6), p.360-363.
8. LUPAȘCU, G., FANDEEV, E. *Genetica rezistenței culturii triticale la fuzarioză. Cercetări in vitro*. Chișinău: Tipografia AȘM, 136 p. ISBN 9975-62-108-2
9. SVABOVA, L. et al. Comparison of the effects of *Fusarium solani* filtrates *in vitro* and *in vivo* on the morphological characteristics and peroxidase activity in Pea cultivars with different susceptibility. In: *Journal of Plant Pathology*, 2011, vol.93, no.1, p.19-30.
10. ЛУПАШКУ, Г., САШКО, Е., ГАВЗЕР, С. Взаимодействие растений пшеницы с возбудителями корневой гнили. В: *Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке (иммунитет, селекция, интродукция)*. Научные труды / Отв. ред. И.М. КУЛИКОВА, В.Ф. ПИВОВАРОВ. Москва, 2011, Т. IV, Ч. I, с.101-106. ISBN 978-5-901695-48-7
11. MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. In: *Physiology of Plants*, 1962, vol.15, p.473-497.

Prezentat la 30.03.2016

UTILIZAREA EXTRACTELOR CIANOBACTERIEI *CYLINDROSPERMUM LICHENIFORME* (BORY.) KÜTZ. ÎN SPORIREA PRODUCȚIEI TOMATELOR

Alina TROFIM

Universitatea de Stat din Moldova

În articol sunt redate rezultatele experimentelor de utilizare a extractelor cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* (Bory.) Kütz. în cultivarea tomatelor. A fost determinată sporirea producției tomatelor obținută la utilizarea extractelor algale de 0,5-3%. Din totalitatea variantelor experimentale cea mai înaltă producție de tomate (14,89 kg/m²) a fost obținută la tratarea semințelor înainte de semănat timp de 24 de ore și la stropirea ulterioară a plantulelor cu extractul algal de 3%. A fost demonstrată capacitatea înaltă a extractului cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* în stimularea producției tomatelor.

Cuvinte-cheie: cianobacterie, extract, tomate, stimularea producției.

USING OF THE CYANOBACTERIA *CYLINDROSPERMUM LICHENIFORME* (BORY.) KÜTZ. EXTRACTS FOR INCREASING OF TOMATOES PRODUCTION

In this article the results of experiments using extracts of cyanobacteria *Cylindrospermum licheniforme* (Bory.) Kütz. for tomatoes cultivation is presented. It was determined the increased production of tomatoes obtained in the case of 0,5-3% algal extracts. From all experimental versions the highest production of tomatoes (14,89 kg/m²) was obtained by the treatment of seeds for 24 hours and the subsequent spraying of plants with 3% algal extract. The high ability of cyanobacteria *Cylindrospermum licheniforme* extract in stimulating of the tomatoes production was demonstrated.

Keywords: cyanobacteria, extract, tomatoes, production stimulating.

Introducere

Cercetările de ultima oră din domeniul algologiei și biotehnologiei sunt direcționate spre utilizarea cianobacteriilor sau algelor cianofite în diferite ramuri ale industriei [1,2]. În domeniul agriculturii cianobacteriile sunt utilizate în calitate de stimulatori ai germinării semințelor și creșterii plantelor, de asemenea ca biofertilizanți naturali, ceea ce se datorează capacității algelor cianofite de a fixa azotul atmosferic [3-6]. Aceste microorganisme sunt utilizate pe larg în fitotehnie în diferite țări ale lumii: China, India, Canada, Spania, Rusia etc. În rezultatul implicării cianobacteriilor în agricultură are loc sporirea considerabilă a recoltei plantelor și creșterea mai accelerată a acestora [7-9]. De exemplu, Consorțiile create din două alge cianofite: *Anabaena variabilis* și *Nostoc calcicola*, studiate de G.Baimahanova, contribuie la sporirea recoltei orezului [5]. În domeniul agriculturii este utilizat și inoculatul mixt al următoarelor alge cianofite: *Tolypothrix tenuis*, *Aulosira fertilissima*, *Nostoc* sp. *Anabaena* sp. și *Plectonema boryanum*, care contribuie la sporirea recoltei tomatelor [10]. Unii autori confirmă utilitatea cianobacteriilor în calitate de stimulatori ai creșterii recoltei castraveților. De exemplu, tulpina *Anabaena vaginicola* poate fi utilizată la cultivarea castraveților, tomatelor și a dovleacului [11]. Tratarea semințelor de castraveți cu suspensie de *Nostoc linckia* înainte de semănat, timp de 6-8 ore, stimulează mult dezvoltarea organelor plantelor – atât a celor vegetative, cât și a celor generative, iar prelucrarea cu suspensie apoasă de *N. linckia* în concentrație de 0,25% sporește roada castraveților cu 200% în comparație cu plantele din varianta martor [12].

A fost demonstrat efectul stimulator al monoculturilor cianobacteriilor *Cylindrospermum licheniforme* var. *alatosporum* și *Anabaenopsis* sp. asupra creșterii plantelor de castraveți și tomate și asupra germinării semințelor acestora [7]. De asemenea, s-a stabilit că Consorțiul cianobacteriilor din genurile *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Microcystis*, *Gloeocapsa* contribuie la germinarea mai rapidă a semințelor de legume. Astfel, semințele tratate cu cianobacterii au germinat de 7,5 ori mai rapid în comparație cu proba martor [8].

Cercetările efectuate de dl Sâtnicov au demonstrat că stimularea creșterii plantelor de soia este posibilă prin utilizarea diferitelor microorganisme azotfixatoare, dintre care un efect mai bun are tulpina *Nostoc punctiforme* [2,13]. Motivul dezvoltării mai accelerate a plantelor stropite cu extractele sau suspensiile algelor cianofite este prezența substanțelor biologice active [14], precum și acțiunea antibiotică a cianobacteriilor. În acest context a fost demonstrat că speciile genului *Nostoc* și *Anabaena* pot fi bioprotectori ai plantelor de tomate contra infecțiilor fungice [1,9,15].

În contextul celor expuse devine actuală cercetarea cianobacteriilor autohtone în domeniul agriculturii, și anume: în sporirea recoltei legumelor, deci scopul lucrării date este de a determina influența extractelor de *Cylindrospermum licheniforme* (Bory.) Kütz. asupra recoltei tomatelor. În scopul propus au fost efectuate o serie de experimente cu *Cylindrospermum licheniforme* (Bory.) Kütz., care este o tulpină originală obținută în cultură pură din solurile R. Moldova [17]. În cadrul Laboratorului de Algologie al USM au fost studiate particularitățile cultivării tulpinii *Cylindrospermum licheniforme* și demonstrată posibilitatea obținerii cantității sporite de biomasă, ceea ce determină posibilitatea utilizării ei. Un șir de cercetări demonstrează capacitatea cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* de a fixa azotul atmosferic – element foarte important pentru dezvoltarea plantelor, ce are o mare importanță în agricultură [4,16]. În lucrarea dată tulpina *Cylindrospermum licheniforme* este examinată sub aspectul unui material biotehnologic care poate fi utilizat în domeniul agriculturii, și anume – în sporirea recoltei tomatelor.

Material și metode

În calitate de material pentru cercetări au servit semințele tomatelor din soiul „Zagadka” și extractele tulpinii *Cylindrospermum licheniforme* în concentrații de 0,5%, 1%, 2% și 3%. Prepararea extractelor algale s-a efectuat prin decongelarea preventivă și măcinarea biomasei până la obținerea consistenței omogene. Semințele prelucrate cu extract au fost crescute în pahare și apoi răsădite în seră. Au fost examinate trei loturi experimentale de tomate, care au fost tratate înainte de cultivare cu extractul cianobacteriei timp de 6, 12 și 24 ore. După răsădire în seră plantulele au fost săptămânal stropite cu extract algal. În calitate de martor a servit lotul stropit cu apă lipsită de algă. Plantulele crescute au fost stropite cu extractele algei cu periodicitatea de 7 zile până la perioada de înflorire. Experimentul s-a desfășurat la iluminarea naturală și la temperatura de 24-26°C în cadrul serelor din s. Chiștelnița, raionul Telenești, unde au fost plantate 75 plantule de tomate în conformitate cu cerințele agrotehnice de cultivare în sere.

Caracteristica morfologică a cianobacteriei: tulpina utilizată în experiment – *Cylindrospermum licheniforme* este o algă cianofită (cianobacterie) care face parte din colecția Laboratorului de Algologie, a fost obținută în cultură pură în anul 2011 din probele de sol al câmpului de porumb de lângă or. Briceni. Particularitățile morfologice constau în faptul că tulpina are trihomi liberi sau uniți în pâlcuri, de regulă lineari, uneori încovoiați, de culoare albastră-verzuie (Fig.1).

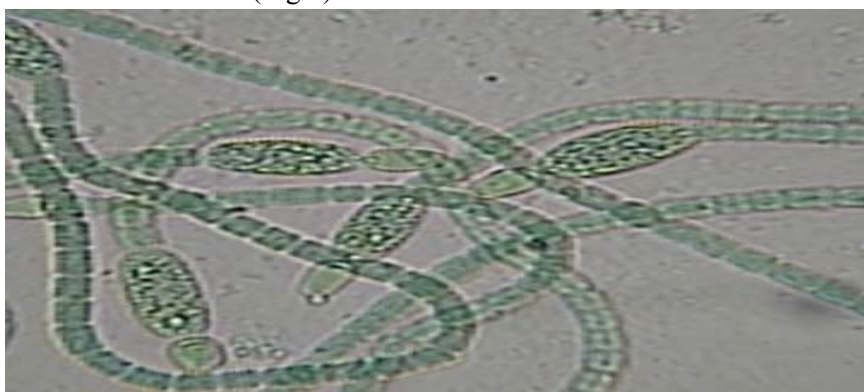


Fig.1. Aspectul algei *Cylindrospermum licheniforme*.

Celulele vegetative au formă cilindrică sau pătrată, cu lungimea de 4,0-5,0 μ și lățimea de 2,5-4,2 μ . Fiecare trihom este înzestrat cu câte un heterocist apical alungit de formă conică cu lățimea de 3,0-6,0 μ și lungimea de 4,0-12,0 μ . Trihomii conțin câte un spor situat între heterocista bazală și celulele vegetative, are forma alungit-eliptoidală cu capetele aplatizate, având culoarea verde; lungimea medie este de 12,0-20,0 μ și lățimea de 7,3-12,2 μ . Biomasă tulpinii *Cylindrospermum licheniforme* este o sursă potențială a substanțelor biologice active, în componența biochimică a căreia predomină cantitatea glucidelor – până la 30,57%, ceea ce de asemenea poate influența producția plantelor de cultură [17].

Rezultate și discuții

În urma tratării semințelor și cultivării ulterioare a plantulelor în pahare, la a 60-a zi de creștere tomatele au fost recultivate în seră. La momentul recultivării înălțimea medie a plantulelor a constituit 8,0-13,0 cm, pe când în lotul martor dimensiunile au fost mai mici (5,0-10,0 cm). În această perioadă tomatele au fost răsădite în serele din s. Chiștelnița, care dispun de sistem de irigare prin picurare (Fig.2).



Fig.2. Aspectul plantulelor de tomate recultivate în seră din s. Chiștelnița.

Cercetările preventive ale algoflorei din solurile acestor sere au demonstrat diversitatea înaltă a algelor și dezvoltarea a peste 50 de specii, dintre care pe suprafața solurilor se dezvoltă abundent algele filumului *Bacillariophyta*, provocând fenomenul de „înflorire” [18]. Acest fenomen denotă prezența umidității înalte, deoarece majoritatea diatomeelor sunt alge hidrofile.

Plantulele cultivate în seră au fost stropite cu extractul cianobacteriei cu periodicitatea de 7 zile. În rezultatul experimentului s-a constatat că în lotul cu semințe tratate timp de 6 ore cea mai înaltă roadă a fost obținută prin utilizarea extractului de 1% al *Cylindrospermum licheniforme*. De pe acest lot au fost recoltate maximum 11,87 kg/m² roșii (Fig.3), ceea ce, recalculat la 1 ha de teren, prezintă aproximativ 120 t/ha. La cântărirea tomatelor s-a observat că greutatea unei roșii în lotul stropit cu extractul cianobacteriei este de 4 ori mai mare decât a celei din lotul martor, stropit doar cu apă. Astfel, în lotul martor o roșie cântărește 40-90 g, pe când în lotul experimental tratat timp de 6 ore tomatelile au atins 160-320 g (Fig.4), ceea ce demonstrează efectul stimulator al extractului de *Cylindrospermum licheniforme* asupra creșterii producției plantelor.

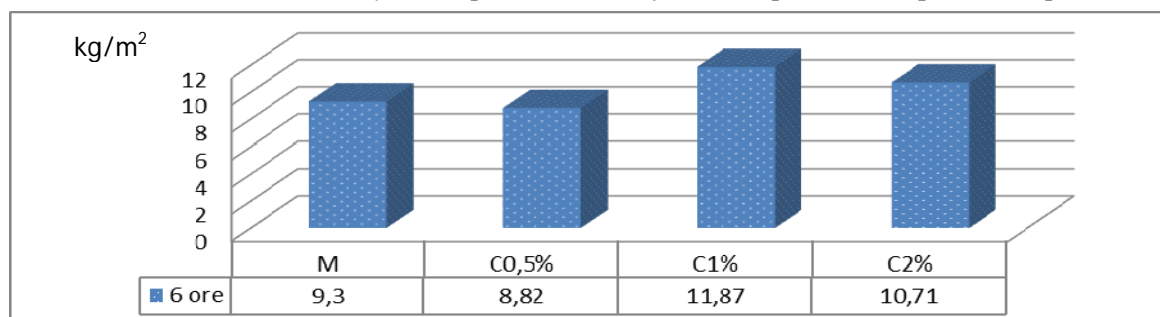


Fig.3. Producția tomatelor tratate timp de 6 ore și stropite cu extractele cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* (C), concentrația extractelor 0,5-1-2%; M – proba martor.



Fig.4. Tomatele obținute în urma tratării cu extractul cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme*.

La tratarea semințelor de tomate timp de 12 ore și la stropirea ulterioară a plantulelor s-a observat creșterea semnificativă a producției în comparație cu primul lot experimental. Rezultate maxime au fost obținute la utilizarea extractului cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* de 0,5%. În rezultatul stropirii plantelor cu acest extract roada a constituit $14,2 \text{ kg/m}^2$ (Fig.5), ceea ce, recalculat la 1 ha, constituie 142 t/ha. Aceste valori depășesc productivitatea lotului martor cu 33% sau cu $4,51 \text{ kg/m}^2$. Cantitatea tomatelor din lotul similar tratat timp de 6 ore ($8,82 \text{ kg/m}^2$) este mai scăzută cu 60% față de cel tratat timp de 12 ore.

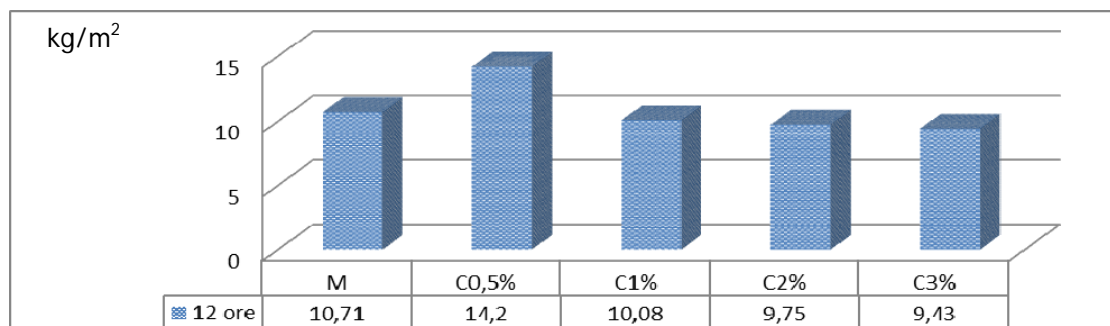


Fig.5. Producția tomatelor tratate timp de 12 ore și stropite cu extractele cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* (C) în concentrație de 0,5-3%; M – proba martor.

După cum observăm din imaginea prezentată mai sus, cu sporirea concentrației extractului algal utilizat la stropirea plantelor se observă scăderea treptată a productivității tomatelor (Fig.4). Această dinamică se explică prin faptul că la tratarea semințelor timp de 12 ore stropirea plantelor cu extracte mai concentrate conduce la accelerarea creșterii părții vegetale a tomatelor și roada este mai scăzută.

Din totalitatea variantelor experimentale cea mai înaltă valoare are producția obținută la tratarea semințelor timp de 24 ore cu extractul de 3% ($14,89 \text{ kg/m}^2$) (Fig.6). Aceste rezultate depășesc cele din lotul martor de 1,56 ori sau cu $5,39 \text{ kg/m}^2$, ceea ce este o cantitate substanțială obținută datorită utilizării extractului cianobacteriei.

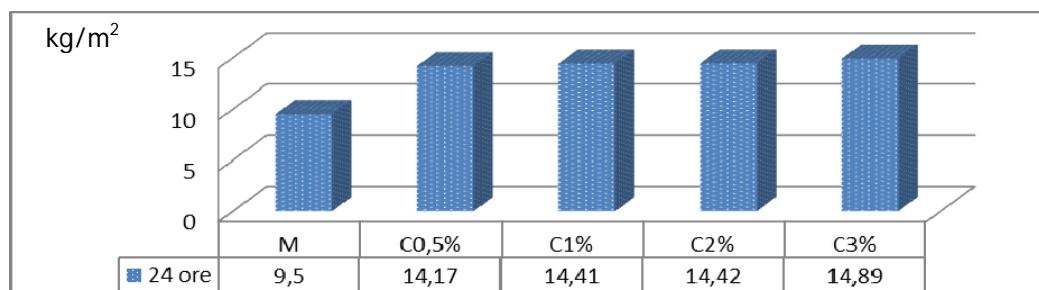


Fig.6. Producția tomatelor obținută în urma tratării semințelor timp de 24 ore și stropirii plantelor cu extractele cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* (C), concentrațiile: 0,5-1-2-3%.

Menționăm că utilizarea extractelor cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* de o concentrație mai mică, și anume: 0,5%, 1% și 2%, de asemenea contribuie la sporirea recoltei. În cazul utilizării extractelor de 0,5% producția sporește cu 49% în comparație cu lotul martor și ajunge la $14,17 \text{ kg/m}^2$. În cazul stropirii cu extractul de 1% și de 2% rezultatele sunt similare, roada sporește cu 52% în comparație cu lotul martor. Din observațiile de teren putem menționa că tomatele din lotul tratat timp de 24 ore și stropit cu *Cylindrospermum licheniforme* în concentrație de 0,5% sunt de 3-4 ori mai mari decât cele din lotul martor. Astfel, greutatea medie a tomatelor din lotul martor nu întrece 100 g față de tomatele de 380 g din lotul stropit cu extractul de 0,5% *Cylindrospermum licheniforme*.

Concluzii

- Din datele obținute concluzionăm că tratarea semințelor și stropirea ulterioară a plantelor de tomate cu extractele cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* conduce la sporirea producției acestora.
- Cea mai înaltă roadă a fost obținută în urma tratării semințelor timp de 24 ore și stropirii plantelor cu extractul de 3% al cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme*. În acest lot experimental producția a

constituit 14,89 kg/m², ceea ce depășește pe cea din lotul martor de 1,56 ori. Utilizarea extractelor cianobacteriei *Cylindrospermum licheniforme* de o concentrație mai mică, și anume: 0,5%, 1% și 2%, de asemenea contribuie la sporirea recoltei. În cazul utilizării extractelor de 0,5% producția sporește cu 49% în comparație cu lotul martor și ajunge la 14,17 kg/m². În cazul stropirii cu extractul de 1% și de 2% rezultatele sunt similare, producția tomatelor sporește cu 52% în comparație cu lotul martor.

- Propunem utilizarea extractelor de 0,5-3% ale algei *Cylindrospermum licheniforme* în sporirea producției tomatelor.

Referințe:

1. EMBITSKY, V., ŘEZANKA, T. Metabolites produced by nitrogen-fixing Nostoc species. In: *Folia Microbiol.*, 2005, 50(5), p.363-391.
2. СЫТНИКОВ, Д.М. Биотехнология микроорганизмов азотфиксаторов и перспективы применения препаратов на их основе. В: *Биотехнология*, 2012, том 5, №4, с-34-45.
3. DASHTI, N.H., MONTASSER, M.S., ALI, N.Y., BHARDWAJ, R.G. AND SMITH, D.L. Nitrogen biofixing bacteria compensate for the yield loss caused by viral satellite rna associated with cucumber mosaic virus in tomato. In: *Plant. Pathol. J.*, 2007, 23(2), p.90-96.
4. DOBROJAN, S., STRATULAT, I., ȘALARU, V., DOBROJAN, G. Effect of light on the process of biological nitrogen fixation in blue-green algae *Nostoc gelatinosum* (Schousb) Elenk. and *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kütz. (Cyanophyta). In: *V International conference „Actual problems in modern phycology”*, 2014, p.50-55.
5. БАЙМАХАНОВА, Г.Б. Получение активных штаммов азотфиксирующих цианобактерий различных экосистем и их применение в агробиотехнологии: Диссертация. Алма-Ата, 2014. 100 с.
6. GARCÍA, REINA, G. Usos y aplicaciones de macroalgas, microalgas y cianobacterias en agricultura ecológica. In: *The Plant Pathology Journal*, 2007, 23(2), p.90-96.
7. ȘALARU, V., TROFIM, A., DOBROJAN, S. Influența tratării semințelor înainte de semănat cu suspensia de alge *Cylindrospermum licheniforme* var. *alatosporum* și *Anabaenopsis* sp. asupra dezvoltării plantelor de castraveți și tomate. În: *Materialele Conferinței științifice naționale cu participare internațională consacrate celei de-a 50 aniversări de la fondarea Secției de Microbiologie „Probleme actuale ale microbiologiei și biotehnologiei”*. Chișinău, 5-6 octombrie 2009, p.171-173.
8. БАТАЕВА, Ю.В., ЕГОРОВ, М.А., МАГЗАНОВА, Д.К., АСТАФЬЕВА, О.В. Стимуляция роста сельскохозяйственных культур семейства пасленовых (на примере томата сорта «Новый принц») цианобактериями. В: *Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания*, 2014, №1, с.14.
9. VISHAL, G. et al Purification and characterization of a novel antifungal endo-type chitosanase from *Anabaena fertilissima*. In: *Annals of Microbiology*, 2012, vol.62, Issue 3, p.1089-1098.
10. SHARIATMADARI, Z., RIAHI, H., SHOKRAVI, S. Study of soil blue-green algae and their effect on seed germination and plant growth of vegetable crops. In: *Botanical Journal of Iran*, 2011, 12(2), p.101-110.
11. KAUSHIK, B., VENKATARAMAN, G. Effect of algal inoculation on the yield and vitamin C content of two variants of tomato. In: *Plant and Soil.*, 1979, 52, p.135-137.
12. ȘALARU, V., ȘALARU, V., ICHIM, M., TODERAȘ, I., MANEA, Ș. Biomasa algală – sursă alternativă de energie, produse alimentare nonpoluate și substanțe biologice active. În: *Studia Universitatis. Seria „Științe ale naturii”*, 2007, nr.7, p.196-200.
13. СЫТНИКОВ, Д.М., ВОРОБЕЙ, Н.А., ПАЦК, Е.В. Реакция сои на инокуляцию альгоризобияльными композициями. В: *Биотехнология*, 2010, том. 3, №6, с.42-48.
14. ТРОФИМ, А.А., ЗОСИМ, Л.С., ДОБРОЖАН, С.Н., ДОНЦУ, Н.Р., СТРАТУЛАТ, И.И., СЕМЕНЮК, Е.Н. Значение и биохимическая характеристика некоторых почвенных сине-зелёных водорослей Республики Молдова. В: *Международная научная конференция «Физиология и биотехнология оксигенных фототрофных микроорганизмов: взгляд в будущее»*, 26-31 май 2014, Москва, Россия, с.18.
15. RADHA, P. et al. Cyanobacteria mediated plant growth promotion and bioprotection against Fusarium wilt in tomato. In: *European Journal of Plant Pathology*, 2013, vol. 136, Issue 2, p.337-353.
16. DOBROJAN, S., STRATULAT, I., ȘALARU, V., TROFIM, A., DOBROJAN, G. The influence of light on morphological changes of blue-green algae *Nostoc gelatinosum* (Schousb) Elenk and *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kütz. (Cyanophyta). In: *V International conference „Actual problems in modern phycology”*, 2014, p.45-49.
17. TROFIM, A., ȘALARU, V., ȘALARU, V., ZOSIM, L. Tulpina microalgei cianofite *Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kütz. – sursă de glucide. *Brevet de invenție MD 8023. 2015.01.27*, BOPI 2015, nr.3, p.21.
18. TROFIM, A., ȘALARU, V. Structura taxonomică și ecologică a algoflorei edafice din serele satului Chiștelnița, raionul Telenești. În: *Studia Universitatis Moldaviae. Seria „Științe ale naturii”*, 2015, nr.6(86), p.88-94.

Prezentat la 08.04.2016

POTENȚIALUL NUTRIȚIONAL AL BIOMASEI ALGALE DE *NOSTOC FLAGELLIFORME* (BERK ET CURT) ELENK.

Irina STRATULAT, Victor ȘALARU, Sergiu DOBROJAN

Universitatea de stat din Moldova

În prezentul studiu este prezentată componența biochimică a biomasei algei cianofite *Nostoc flagelliforme* (Berk et Curt) Elenk. cultivată în condiții de laborator pe mediul mineral Z-8. Biomasa algei conține: Mn – 683,9 mg/kg, Zn – 131,5 mg/kg, Pb – <10 mg/kg, Fe – 1,09 g/kg, Na⁺ – 2,10 g/kg, K⁺ – 8,01 g/kg, Mg²⁺ – 5,40 g/kg, Ca²⁺ – 7,94 g/kg. În componența aminoacizilor predomină: acidul glutamic – 3,8012 mg/100 mg, acidul aspartic – 2,7838 mg/100 mg, leucina – 2,4651 mg/100 mg, alanina – 2,3513 mg/100 mg. Conform acestor rezultate, biomasa algei cianofite *Nostoc flagelliforme* poate fi utilizată ca sursă importantă de suplimente alimentare.

Cuvinte-cheie: *Nostoc flagelliforme*, compoziție biochimică, mediu nutritiv, nutriție.

THE NUTRITIONAL POTENTIAL OF ALGAL BIOMASS OF *NOSTOC FLAGELLIFORME* (BERK ET CURT) ELENK.

In this study is presented the biochemical components of algal biomass *Nostoc flagelliforme* (Berk et Curt) Elenk. cultivated in laboratory conditions in Z-8 medium. The algal biomass has the following chemical content: Mn – 683,9 mg/kg, Zn – 131,5 mg/kg, Pb – <10 mg/kg, Fe – 1,09 g/kg, Na⁺ – 2,10 g/kg, K⁺ – 8,01 g/kg, Mg²⁺ – 5,40 g/kg, Ca²⁺ – 7,94 g/kg. The highest amount of amino acids are specific for: glutamic acid – 3,8012 mg/100 mg, aspartic acid – 2,7838 mg/100 mg, leucine – 2,4651 mg/100 mg, alanine – 2,3513 mg/100 mg. According to these results the blue-green alga *Nostoc flagelliforme* can be considered an important potential source of nutritional supplements.

Keywords: *Nostoc flagelliforme*, biochemical composition, nutrient medium, nutrition.

Introducere

Odată cu creșterea numărului populației, asigurarea cu produse alimentare devine o problemă tot mai stringentă. Necesitatea de resurse alimentare se observă în majoritatea țărilor în curs de dezvoltare. De aceea, această problemă își poate găsi soluția numai prin evidențierea unor noi resurse netradiționale de produse alimentare. În ultimele decenii s-a intensificat interesul cercetătorilor față de obținerea noilor surse alimentare netradiționale prin valorificarea biomasei algale, care reprezintă și un bogat depozit de substanțe bioactive necesare organismului.

Biomasa algală este considerată una dintre puținele, dar și una dintre cele mai importante surse nutriționale neconvenționale, potențialul său nutrițional fiind remarcabil prin conținutul înalt de proteine, principii biologice active, conținutul calitativ și cantitativ al aminoacizilor. Astfel, aminoacizii au o importanță deosebită pentru organismul uman, aceștia fiind elemente structurale de bază care intră în componența proteinelor, compuși cu importanță biologică remarcabilă.

Datorită conținutului înalt de proteine, glucide, lipide, săruri minerale, vitamine, fitohormoni etc., algele sunt cercetate la nivel mondial și utilizate ca sursă alternativă în cele mai diverse țări. Cele mai populare alge cultivate din încrengătura Cyanophyta sunt speciile din genurile *Anabaena*, *Nostoc* și *Spirulină* [1]. Algele cianofite, la care se referă și *Nostoc flagelliforme*, sunt unele dintre organismele a căror biomasă se utilizează pe scară largă în industria alimentară, biotehnologie, medicină, agricultură etc. [2].

Compoziția biochimică a biomasei algale este frecvent analizată cu scopul de a contribui la echilibrul nutrițional necesar organismului animal și vegetal în săruri minerale și alte principii bioactive, care sunt determinate de rolul important al acestora în desfășurarea proceselor vitale.

Spectrul de aminoacizi pentru fiecare specie, gen, familie, ordin, clasă, încrengătură este diferit. De exemplu, algelor verzi le este caracteristică predominarea lizinei, argininei, acidului glutamic; unor cianofite (*Phormidium uncinatum*, *Anabaena cylindrica*, *Anabaena flos-aque*) le este caracteristică predominarea argininei [3]. Conținutul cantitativ al aminoacizilor în biomasa algelor este diferit; astfel, biomasa speciilor *Phormidium uncinatum* este bogată în alanină, *Anabaena cylindrica* în valină, *Aphanizomenon flos-aque* în inhistidină etc. [4].

Analizând compoziția chimică a biomasei algelor *Chaetoceros gracilis*, *Cylindrotheca closterium* și *Tetraselmis gracilis*, s-a dovedit că biomasa lor posedă un conținut ridicat de potasiu și sulf; însă, conform

multor indicatori chimici, specia *Cylindrotheca closterium* este cea mai eficace în acvacultură [5]. Biomasa algei *Porphyridium cruentum* este la fel bogată în minerale, conținutul acesteia se prezintă astfel: (mg/100g): Ca – 4960, K – 1190, Na – 1130, Mg – 629 și Zn – 373 [6].

Biomasa algei *Nostoc flagelliforme*, cunoscută în țările asiatice în comerț pentru valorile sale comestibile [7,8], are un conținut bogat atât în proteine, glucide, lipide, cât și o bogată sursă de numeroase săruri minerale, cum ar fi Ca, Mg, K, Na, Zn, Fe etc. Datele din literatura de specialitate caracterizează conținutul proteic fiind de o înaltă calitate, având în componență mai mult de 7 aminoacizi esențiali (leucină, lizină, metionină, fenilalanină etc. [8]. Carbohidrații și lipidele se completează până la 25,12% și, respectiv, 17,40 % din materia absolut uscată de *Nostoc flagelliforme* [9].

Scopul cercetărilor reflectate în această lucrare constă în elucidarea aspectelor biochimice, în special a compoziției sărurilor minerale și a componenței cantitative a aminoacizilor, pentru a determina potențialul nutrițional al tulpinii *Nostoc flagelliforme* (Berk et Curt) Elenk. cultivate în condiții de laborator.

Material și metode

Obiect de studiu a servit tulpina algei cianofite *Nostoc flagelliforme* (Berk et Curt) Elenk. selectată din solurile Moldovei și depozitată în Laboratorul de Algologie al Universității de Stat din Moldova și în Colecția Națională de Microorganisme Neputogene a R. Moldova.

Mediu de cultivare Z-8 cu următoarea componență [10]:

Z-8. Stock soluția I (10 ml). NaNO_3 – 46.7, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 5.9, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 2.5; Stock soluția II (10 ml). K_2HPO_4 – 3.1, Na_2CO_3 – 2.1; Stock soluția III (10 ml). $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0.31, EDTA – 0.37; Stock soluția IV (1 ml). $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 3.3, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 8.8, KBr – 12, KJ – 8.3, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 28.7, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 15.5, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 14.6, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 12.5, $\text{NiSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 19.8, $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ – 4.1, V_2O_5 – 0.089, $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 47.4, H_3BO_3 – 3.1, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 1.6.

Cultivarea algei s-a efectuat în cultivatorul de alge din cadrul Laboratorului de Algologie, cu menținerea următorilor parametri: pH-ul optim al mediului 7,0-8,0, temperatura de 25-30°C, intensitatea luminii de 2000-3000 lx. Cantitatea de inocul a fost de 0,4 g/l. După cultivarea timp de 10 zile biomasa obținută a fost colectată și supusă analizelor chimice.

Compoziția biochimică a biomasei de *Nostoc flagelliforme* a fost analizată după metodele propuse de academicianul V.Rudic [11]. Spectrul elementelor chimice a fost determinat în cadrul Laboratorului de Încercări de Spectroscopie Atomică al Institutului de Chimie al AȘM. Analiza spectrului aminoacidic al biomasei algale a fost efectuată în cadrul Laboratorului Sanodiagnosticare și Pronosticare al Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM sub conducerea dr. în biologie Svetlana Garaeva, cu utilizarea analizatorului „AAA-339” al Firmei „Microtechna” (Cehia) [12].

Rezultate și discuții

În prezent, cultivarea algelor se bucură de o atenție deosebită, în direcția de obținere a unor noi surse de materii prime de interes economic major. Cu acest scop, pentru obținerea substanțelor nutritive de interes alimentar sau farmaceutic de proveniență algală, există o serie largă de tehnologii de cultivare în vederea obținerii unui randament ridicat al biomasei algale, care necesită a fi supusă analizelor biochimice și utilizării ulterioare în diverse domenii. Creșterea intensivă a algelor în condiții de laborator vizează în principal cercetări ce necesită obținerea, relativ rapidă, a unor cantități destul de mari de biomasă, fie elaborarea unor procedee biotehnologice aplicabile.



Fig.1. Cultivarea algei *Nostoc flagelliforme* în cuvă în condiții de laborator.

În laborator, productivitatea culturii de *Nostoc flagelliforme* în cultivatorul deschis a fost de 5-6,3 grame/zi/0,75 m².

Conform datelor din literatura de specialitate, *Nostoc flagelliforme* se caracterizează printr-o compoziție biochimică echilibrată. În acest context, a fost stabilită componența principalelor elemente chimice din biomasa absolut uscată.

Tabelul 1

Compoziția biochimică a biomasei de *Nostoc flagelliforme*

proteine	glucide	lipide
22,74 - 37,85 %	15,95 - 24,80 %	6,93 - 17,40 %

Componența calitativă a proteinelor a fost identificată prin determinarea aminoacizilor din biomasa tulpinii de *Nostoc flagelliforme*, fiind evidențiată prezența unui spectru larg atât al aminoacizilor neesențiali, cât și al celor esențiali (Tab.2).

Tabelul 2

Spectrul de aminoacizi identificați în biomasa tulpinii *Nostoc flagelliforme* (Berk et Curt) Elenk., mg/100mg

Aminoacizi esențiali	mg/100 mg	Aminoacizi neesențiali	mg/100 mg
Izoleucină	1,0650	Acid aspartic	2,7838
Leucină	2,4651	Serină	1,3147
Lizină	1,0165	Acid glutamic	3,8012
Metionină	0,3320	Prolină	1,3664
Triptofan	-	Glicină	1,4659
Histidină	0,2994	Alanină	2,3513
Treonină	1,6697	Cisteină	0,8323
Valină	1,5406	Tirozină	0,8210
Arginină	1,3440	ac.y-aminobutiric	0,0066
Fenilalanină	1,0917	Ornitină	0,0277
Σ	10,8240	Σ	14,7365
Σ Aminoacizilor liberi		25,5948	
Σ indicii metab. azotați		25,7753	

Aminoacizii preponderent prezenți sunt: acidul glutamic – 3,8012 mg/100 mg, acidul aspartic – 2,7838 mg/100 mg, leucina – 2,4651 mg/100 mg, alanina – 2,3513 mg/100 mg etc.

Acești aminoacizi au un rol important în derularea normală a activității fiziologice umane. *Acidul glutamic*: ameliorează funcțiile creierului, atenuează starea de oboseală, scurtează durata vindecării ulcerelor tubului digestiv, are efect de ameliorare a confortului psihic sau poate fi agent stimulant al creierului. *Acidul aspartic*: stimulează sistemul imunitar, crește rezistența organismului și elimină amoniacul din organism. *Leucina*: s-a constatat că menirea ei este de a menține sănătatea țesuturilor, susține organismul după intervenții chirurgicale, stimulează sinteza de proteine. *Alanina*: stimulează sistemul imunitar, scade riscul formării litiazei renale, iar prin reglarea metabolismului glucidelor ajută la sistarea hipoglicemiilor.

De asemenea, au fost analizate și tipurile de aminoacizi, constatându-se că cea mai mare cotă o dețin cei proteinogeni, urmați de cei imunoactivi (Fig.2).

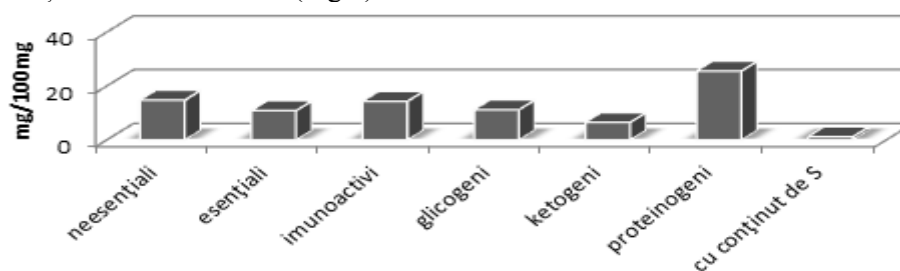


Fig.2. Componența cantitativă a tipurilor de aminoacizi din biomasa tulpinii de *Nostoc flagelliforme* (Berk et Curt) Elenk.

Biomasa algei *Nostoc flagelliforme* posedă un conținut bogat de minerale. Conform rezultatelor prezentate (Tab.3), se poate menționa că biomasa algală cultivată pe mediul Z-8 este caracterizată de cantități semnificative de Mn – 683,9 mg/kg și Zn – 131,5 mg/kg, pe când elementele chimice Fe, Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ sunt în cantități mai reduse.

Tabelul 3

Spectrul de elemente minerale din biomasa algei *Nostoc flagelliforme*

Mineralele analizate							
Mangan (Mn), mg/kg	Zinc (Zn), mg/kg	Plumb (Pb), mg/kg	Fier (Fe) total, g/kg	Sodiu (Na ⁺), g/kg	Potasiu (K ⁺), g/kg	Magneziu (Mg ²⁺), g/kg	Calciu (Ca ²⁺), g/kg
683,9	131,5	□10	1,09	2,10	8,01	5,40	7,94

Constatările noastre au confirmat de asemenea faptul că biomasa algei *Nostoc flagelliforme* este o bogată sursă de micro- și macroelemente de o importanță deosebită, deoarece toate aceste elemente joacă un rol important în organismul uman și animal. De exemplu, *Fierul* este un component al hemoglobinei, precum și al unor numeroase sisteme enzimice din lanțul respirator, având un rol-cheie în respirația celulară. *Zincul* este component a peste 300 de enzime și proteine care participă în toate procesele metabolice importante. *Manganul* este unul din microelementele esențiale pentru plante, animale și oameni, este atât constituent, cât și activator a numeroase enzime și proteine, având peste 20 de funcții identificate.

Concluzii

Se poate afirma că tulpina *Nostoc flagelliforme* (Berk et Curt) Elenk. prezintă o sursă importantă de substanțe biologice active, în special de proteine care ating valoarea de 37,85% din biomasa absolut uscată. De asemenea, spectrul aminoacizilor este destul de vast, componența calitativă a proteinelor denotă prezența în cantități mai mari a aminoacizilor imunoactivi, iar spectrul elementelor chimice este caracterizat de cantități semnificative de Mn – 683,9 mg/kg și de Zn – 131,5 mg/kg. Rezultatele obținute pot servi drept reper pentru valorificarea tulpinii de *Nostoc flagelliforme* în diverse domenii ale activității umane, având perspective de utilizare în industria alimentară, fitotehnie, zootehnie și farmacologie.

Referințe:

- KARANTH, R., MADAIAN, R., *Biochemical Composition of Seven Species of Cyanobacteria Isolated from Different Aquatic Habitats of Western Ghats, Southern India*, 2011, vol.54, no.5, p.849-857.
- VENKATARAMAN, L.V., BECKER, E.W. *Biotechnology and Utilization of Algae – The Indian Experience*. Dept. Sci. Technol. New Delhi, India and CFTRI, Mysore. 1985. 257 p.
- СИРЕНКО, Л.А., КОЗИЦКАЯ, В.Н. *Биологически активные вещества водорослей и качество воды*. Киев: Наукова Думка, 1988. 256 с.
- БАРАШКОВ, Г.К. *Сравнительная биохимия водорослей*. Москва: Пищевая промышленность, 1972. 336 с.
- ALFREDO, M. et al. *Chemical Composition of Three Microalgae Species for Possible Use in Mariculture*, 2007, vol.50, no.3, p.461-467.
- REBOLLOSO FUENTES, M.M. et al. Biomass nutrient of the microalga *Porphyridium cruentum*. In: *Food Chemistry*, 2000, no.70, p.345-353.
- KUNSHAN, G. Chinese studies on the edible bluegreen alga, *Nostoc flagelliforme*: a review. In: *Journal of Applied Phycology*, 1998, no.10, p.37-49.
- SIJUN YUE, SHIRU JIA, JIN YAO, YUJIE DAI. Nutritional analysis of the wild and liquid suspension cultured *Nostoc flagelliforme* and antitumor effects of the extracellular polysaccharides. In: *International Conference on Future Information Engineering (FBIE)*, 2010, p.72-75.
- STRATULAT, I. et al. Biologically active substances content from the alga *Nostoc flagelliforme* biomass. In: *2nd International Conference „Microbial Biotechnology-scientintensiv domain of modern knowledge”*, Chișinău, 2014. 179 p.
- ГАРАЕВА, С.Н., РЕДКОЗУБОВА, Г.В., ПОСТОЛАТИ, Г.В. *Аминокислоты в живом организме*. Кишинёв: Академия Наук Молдовы, 2009. 550 с.
- RUDIC, V. ș.a. *Metode de investigație în ficobiotehnologie*. Chișinău: CE USM, 2002. 61 p.
- KOTAI, J. *Instructions for preparation of modified nutrients solution Z-8 for algae*. B-11/69, 1972. p.5.

Notă: Lucrarea a fost efectuată în cadrul Proiectului 14.819.18.02.05A

Prezentat la 17.12.2015

ПОЛЕЗНАЯ ПРИБРЕЖНО-ВОДНАЯ РАСТИТЕЛЬНОСТЬ СРЕДНЕГО ТЕЧЕНИЯ РЕКИ ДНЕСТР

Евгений СЕМЕНЮК

Молдавский государственный университет

Физико-географические условия среднего течения реки Днестр не однородны по своей структуре и крайне разнообразны. Подобное богатство угодий способствует развитию уникальных флористических сообществ различных растительных групп, которые могут быть использованы человеком в различных отраслях национальной экономики. В результате проведенных исследований было обнаружено 69 видов полезных растений, из которых лекарственных растений – 12, кормовых – 17, технических – 8, медоносных – 26, закрепляющих почвенный аллювий – 6.

Ключевые слова: флора, растительность, полезные растения, среднее течение реки Днестр.

USEFUL AQUATIC VEGETATION MIDDLE COURSE OF THE DNIESTER RIVER

Physico-geographical conditions the middle reaches of the Dniester River are very different and non-uniform in its structure. Such a wealth of land contributes to the development of unique floristic communities and different groups of plant which could be useful in different sectors in national economic. As result of research of useful plants were found 69 the species which include: medicinal plants – 12, forage plants – 17, technical plants – 8, melliferous plants – 26, fixating of soil alluvium plants – 6.

Keywords: vegetation, flora, useful flora, middle course of river Dniester.

VEGETAȚIA ACVATICĂ UTILĂ DIN SECTORUL DE MIJLOC AL BAZINULUI RÂULUI NISTRU

Condițiile fizico-geografice ale cursului mijlociu al râului Nistru sunt extrem de diverse și neuniforme. Varietatea reliefului contribuie la dezvoltarea numeroaselor specii de plante unice ce aparțin diferitelor grupuri, care pot fi utilizate în diferite sectoare ale economiei naționale. În rezultatul studiilor efectuate au fost identificate 69 de specii de plante utile, care includ: plante medicinale – 12, plante alimentare – 17, plante tehnice – 8, plante melifere – 26, fixatoare de aluviu edafic – 6.

Cuvinte-cheie: floră, vegetație, plante utile, sector de mijloc al bazinului râului Nistru.

Введение

Эволюция растительного мира происходила таким образом, что ничего бесполезного быть не могло. Но мог ли человек извлекать необходимую ему пользу из того или иного растения? Понятие о полезности или вреде растений крайне абстрактно [1]. Любое растение, в тканях которого присутствует хлорофилл, само по себе уже полезно, выделяя в результате фотосинтеза кислород и поглощая углекислый газ [2]. В то же время растение может быть и злостным сорняком или агрессивной инвазией. За последнее тысячелетие перечень видов растений, используемых человеком в различных отраслях, сократился с 3 тысяч до нескольких сот. Очевидно, это обусловлено технической революцией прошлого столетия и успехами современной науки в целом [3].

Изучение прибрежно-водной растительности имеет большое научное и прикладное значение. Разнообразие околородных растений, как по форме, так и по происхождению, расширяет наше представление о приспособительных свойствах растительного организма. Ввиду неоднородности морфологических и эколого-биологических свойств прибрежно-водной растительности не существует одной-единственной модели классификации этого растительного сообщества. Одни из учёных основываются на его морфологических признаках при классификации, другие – на экологии обитания [4]. В наших исследованиях мы классифицировали околородные растения по их значимости для человека, а именно: на лекарственные растения, кормовые, технические и медоносные.

Материалы и методы

Материалом для написания статьи послужили результаты проведенных летних учебно-полевых экспедиций «Днестр – 2011, 2012, 2013, 2014, 2015». Во время экспедиций была изучена полезная флора высших сосудистых растений среднего течения реки Днестр от села Наславча до Дубоссар. Работы велись в два этапа. Первый этап заключался в полевых исследованиях полезной растительности,

картографировании обнаруженных видов по тематическим маршрутам, в ходе которых отбирался материал. Второй этап состоял в ежедневных стационарных исследованиях собранного материала и определении видов растений. Определение проводили классическим методом описания высшей растительности с использованием современных определителей [5]. При систематизации полученных в наших исследованиях данных, мы классифицировали прибрежно-водные растения по их значимости в природе и в жизни человека, а именно: на лекарственные растения, кормовые, технические, медоносные и закрепляющие почвенный аллювий.

Результаты и их обсуждение

Лекарственные растения

Человечество пользуется лекарственными средствами растительного происхождения уже более 8000 лет. В последние десятилетия интерес к лекарственным растениям значительно снизился. Это обусловлено в первую очередь значительными успехами органической химии. Однако обнаружилось, что синтетические лекарственные препараты значительно уступают растительным и помимо этого зачастую вызывают различные побочные действия. В настоящее время лекарственные препараты растительного происхождения составляют примерно 30% от всех лекарств, изготавливаемых на планете. В результате исследований выделены новые группы биологически активных веществ растительного происхождения. Общий список околоводной растительности Днестра превышает 500 видов, большинство из которых – лекарственные. Однако мы остановили внимание на наиболее ценных видах [6].

Вербейник монетчатый – *Lysimachia nummularia* L., 1753: многолетнее растение, устойчивое к скашиванию и вытаптыванию, хорошо переносит затопление. Встречается на мелководье, в увлажнённых местах с повышенной затенённостью. Зарастает кромки берегов, формируя сплошной ковёр. Охотно поедается животными, однако существенной кормовой значимостью не обладает. В корнях и вегетативной части этого растения содержатся дубильные вещества, витамин С и др. Научной медициной используются молодые побеги и листья для лечения ран и опухолей. Другое название – луговой чай, так как используются только цветки для чая [7].

Авран лекарственный – *Gratiola officinalis* L., 1753: травянистое растение семейства Норичниковые – *Scrophulariaceae*. Ядовитое растение, необоснованно игнорируемое учёными и населением как лекарственное. Встречается на заливных лугах, по обоим берегам реки, на болотах, на влажных почвах, у родников. Авран – ядовитое растение, в первую очередь потому, что содержит гликозиды, сапонины, алкалоиды и жирные масла. Трава аврана применяется при таких заболеваниях, как сердечные, болезни печени и селезёнки, при заболеваниях кожи. Корни обладают слабительным, противоглистным, мочегонным и рвотным свойствами [7].

Сушеница болотная – *Gnaphalium uliginosum* L., 1753: однолетнее травянистое растение, встречающееся по берегам реки, в пойменных лесах, на заливных лугах. Часто произрастает на увлажнённой почве в агрофитоценозах, за что её можно отнести к условно сегетальным растениям. Широко используется трава сушеницы при заболеваниях сердца, желудка, кишечника. В биомассе этого растения содержится большое количество каротиноидов, дубильных веществ и эфирных масел [7].

Мята длиннолистная – *Mentha longifolia* (L.) Huds., 1762: многолетнее травянистое растение семейства Губоцветных – *Lamiaceae*. В обилии встречается по обоим берегам Днестра во влажных местах, на берегах ручьев, у подземных родников. Издавна известна как пряное и лекарственное растение. Используются цветки, стебли, листья как в фармацевтической промышленности, так и в парфюмерии и кондитерском производстве. Из листьев мяты длиннолистной получают эфирные масла, которые используют как для наружного применения, так и для внутреннего при желудочных заболеваниях, тошноте и в качестве болеутоляющего средства [7].

Окопник лекарственный – *Symphytum officinale* L., 1753: многолетнее травянистое растение семейства Бурачниковые – *Boraginaceae*. Широко распространён на протяжении всего среднего течения реки Днестр по обоим берегам, образуя иногда сплошные пятна. Встречается на сырых и заливных лугах, на побережье мелких ручьев и рукавов Днестра среди зарослей кустарников и прибрежных растений. Наибольшее фармацевтическое значение представляют корни окопника лекарственного, в которых содержатся смолы, алкалоиды, дубильные вещества и гликозиды. Широко применяется в медицине в качестве противомикробного, противовоспалительного, кровоостанавливающего средства [7].

Мать-и-мачеха обыкновенная – *Tussilago farfara* L.: многолетнее травянистое растение семейства Сложноцветные – *Asteraceae*. Растение, известное издавна как лекарственное, однако, согласно последним исследованиям, значение этого растения в фармацевтике значительно преувеличено. Так или иначе, однако мать-и-мачеха обыкновенная в обилии встречается в околородных биотопах Днестра по обоим берегам, предпочитая суглинистые увлажнённые почвы, лишённые дерновины, по берегам ручьев, прудов, на скалистых отвалах. Листья мать-и-мачехи (*Herba farfarea*), заготовленные весной, содержат такие биологически активные вещества, как каратиноиды, танины, стеринны, гликозиды и дубильные вещества, применяемые при заболеваниях дыхательных путей и как противовоспалительное средство [7].

Черда трёхраздельная – *Bidens tripartita* L.: однолетнее травянистое растение семейства *Asteraceae*. Часто встречается по берегам реки на сырых почвах заливных лугов. Обладает существенным лекарственным значением; отвары вегетативных частей растения часто используют при купании маленьких детей с целью улучшения их иммунитета [7].

Хвощ полевой – *Equisetum arvense* L., 1753: многолетнее длиннокорневищное растение семейства *Equisetaceae* отдела папоротниковидных. Распространение хвоща обеспечивают споры и обильное вегетативное размножение корневища, залегающего на глубине 60-100 сантиметров. При обработке почвы корневища хвоща разрываются, и каждый фрагмент, в свою очередь, даёт начало новой серии надземных побегов. Ввиду высокой степени регенерации, хвощ является злостным сорняком, произрастающим в посевах всех культур на влажных и кислых почвах. Растение содержит много кремнезёма, углеводы, органические кислоты, каратиноиды и витамин С. За счёт этого он широко используется в медицине как противовоспалительное, кровоостанавливающее, мочегонное и общеукрепляющее средство. В качестве лекарственного сырья в научной медицине используют исключительно весенние спороносные побеги – *Herba Equiseti* [7].

Бесспорно, что видовой состав лекарственных растений околородных ценозов значительно богаче, чем перечень, представленный нами, однако мы перечислили наиболее типичные виды, характеризующиеся сходным ареалом обитания, обильно встречающиеся по обоим берегам среднего течения реки Днестр.

Было бы нерациональным просто перечислить видовой состав лекарственных растений, не затронув проблему их защиты и сохранения, так как сбор лекарственного сырья в пойме реки Днестр ведётся стихийно и непланово. В результате сократились запасы отдельных наиболее ценных видов лекарственных растений, а некоторые из них вообще исчезли. Проблема охраны лекарственных растений включает в себя целый ряд мероприятий: сохранение естественных участков произрастания ценных лекарственных растений и охрана их биотопа; создание семенной базы лекарственных растений на республиканском уровне; введение в культуру наиболее ценных видов для культивирования в промышленных масштабах; создание заказников и защитных зон лекарственных растений; категорический запрет любой продажи лекарственного сырья на рынке; проведение регулярной просветительной работы о вреде, наносимом браконьерами лекарственных растений [8].

Кормовые и технические растения

Не менее важной группой околородной растительности среднего течения реки Днестр являются кормовые и технические растения. Значение их как в сельском хозяйстве, лёгкой промышленности, так и для национальной экономики в целом необоснованно занижено [9]. К кормовым растениям относятся однолетние и многолетние травы, отличающиеся высокой продуктивностью биомассы на лимитированной территории за один вегетационный период. Устойчивые к факторам окружающей среды (засуха, наводнение, заморозки), при благоприятных условиях они способны давать по 3-4 укоса в год [9]. Охотно поедаются всеми видами домашнего скота как в летний период, так и в виде сена зимой. Кормовые растения относятся к нескольким экологическим группам: это сегетальные, рудеральные, сорные виды.

Из сегетальных среди посевов культурных растений часто встречаются полевица побегоносная – *Agrostis stolonifera* L., ежа сборная – *Dactylis glomerata* L., пырей ползучий – *Elytrigia repens* L. Рудеральные виды растут по окраинам дорог, на бытовых свалках и вообще сопутствуют человеку. Другие же виды вообще космополиты: их можно обнаружить на всех континентах – к примеру, тростник,

манник, пырей [9]. Некоторые из видов мятликов и пырея используются для устройства газонов, хотя они являются трудноискоренимыми сорняками. Большинство кормовых растений околотовной растительности характеризуются широкой экологической пластичностью распространения. Встречаются на опушках широколиственных лесов, на пойменных заливных лугах формируют частые заросли высотой до двух метров [9].

Наибольшее кормовое значение имеют представители злаковой группы: это полевица побегоносная – *Agrostis stolonifera* L., бекмания обыкновенная – *Beckmannia eruciformis* L., вейник наземный – *Calamagrostis epigeios* L., свиной пальчатый – *Cynodon dactylon* (L.) Pers, ежа сборная – *Dactylis glomerata* L., пырей ползучий – *Elytrigia repens* L., тимофеевка луговая – *Phleum pratense* L., мятлик обыкновенный – *Poa trivialis*, мятлик болотный – *Poa palustris*, манник складчатый – *Glyceria notata*, манник большой – *Glyceria maxima*, манник наплывающий – *Glyceria fluitans* L., манник тростниковый – *Glyceria arundinacea* L.

Большинство этих видов произрастают на сырых почвах заливных лугов прибрежной зоны среднего течения Днестра. Часто встречаются в примеси другого разнотравья, являясь эдификаторами. Виды бекмании и манника зарастают кромки берегов, закрепляя почвенный аллювий и препятствуя эрозии берегов, при этом характеризуются высокой продуктивностью зелёной биомассы в течение вегетационного периода [9]. Немаловажное значение имеет рогоз узколистый – *Typha angustifolia* L., который произрастает на богатых почвах мелководья на глубине до 60 см, формируя обширные заросли. Волокна сухих листьев используются в целлюлозной промышленности и для изготовления картона. Рогоз можно использовать в качестве упаковочного материала как альтернативу синтетическому полиэтилену. В корневищах рогоза, стрелолиста, частухи содержится большое количество крахмала – доступного и ценного источника питания.

Не меньшее кормовое и хозяйственное значение имеют и истинно водные растения, полностью погружённые в толщу воды и закреплённые на дне водоёма – гидатофиты. У некоторых водных растений опыление происходит под водой, у других цветки и цветоносы возвышаются над водой, где непосредственно и происходит опыление. Но большинство истинно водных растений размножаются вегетативно, фрагментацией стебля, так как механическая ткань в водной среде развита слабо. Именно благодаря вегетативному размножению настолько высока скорость распространения этих видов. При благоприятных условиях с одной единицы площади можно собрать до 5 укосов в сезон, что значительно превышает объём биомассы по сравнению с сухопутными угодьями [9]. Скошенные водные растения в сыром или высушенном виде используют на корм скоту, так как они являются важным источником необходимых для жизнедеятельности элементов питания. Помимо этого, истинно водные растения используют в качестве удобрений для повышения содержания гумуса в почве [10]. Водные растения имеют большое значение и для экологии Днестра. В первую очередь они поглощают растворённые в воде вещества, участвуя в биологической очистке водоёма. Отмершими остатками водных растений питаются беспозвоночные и другие гидробионты, а семена и плоды являются кормовой базой для некоторых птиц. К наиболее распространённым полезным гидатофитам среднего течения реки Днестр относятся уруть колосистая – *Myriophyllum spicatum* L., уруть мутовчатая – *Myriophyllum verticillatum* L., рдест курчавый – *Potamogeton crispus* L., рдест блестящий – *Potamogeton lucens* L., рдест пронзеннолистный – *Potamogeton perfoliatus* L., горец земноводный – *Polygonum amphibium* L. [10].

Медоносные растения

Пчеловодство является важной отраслью национальной экономики Молдовы. Ежегодно экспортируется от 4 до 6 тысяч тонн мёда, а в перспективе планируется достичь и 100 тысяч тонн. Интенсивное использование различных групп пестицидов привело к тому, что из 450 тысяч пчелиных семей, необходимых для развития пчеловодства в Молдове, осталось только 100 тысяч. Именно это заставляет пчеловодов переориентироваться с культурных растений на дикорастущие медоносы, что положительно сказывается на местной флоре [3]. Хотя в Молдове и описано около 2 тысяч видов дикорастущих растений, большая часть из них не представляет никакого интереса для пчеловодства [3]. Ещё меньшая их часть встречается в прибрежных экосистемах среднего течения реки Днестр, несмотря на богатое разнообразие прибрежно-водных угодий, наличие лугов, полей, садов, лесов [3]. Ввиду неоднородности этой группы растений, рассмотрим их по жизненным формам.

Древесные медоносы подразделяются на главные и второстепенные, характеризующиеся небольшим и поддерживающим медосбором. Древесные медоносы в обилии встречаются по обоим берегам Днестра, формируя сплошные лесные массивы. Наиболее ценной из древесных медоносов является липа сердцевидная – *Tilia cordata* Mill. Мёдопродуктивность достигает 800 кг/га в период цветения и составляет до 20 кг на одну пчелиную семью в день. Несмотря на то, что робиния обыкновенная – *Robinia pseudoacacia* L., относится к инвазивным растениям, она является одним из лучших весенних медоносов. В период цветения взяток на одну семью может составлять до 80 кг и 1000 кг/га соответственно [3]. К второстепенным древесным медоносам можно отнести такие виды, как *Quercus petraea* L. – дуб скальный, *Acer campestre* L. – клён полевой, *Acer tataricum* L. – клён татарский, *Pinus nigra* J.F. Arnold – сосна чёрная, *Salix alba* L. – ива белая, которые произрастают по обоим берегам Днестра в примеси с другими растениями либо мозаично и представляют большую ценность для пчеловодства, так как цветут они не одновременно, что растягивает общий период цветения, а взяток может составлять от 4 до 20 кг в день и от 120 до 1000 кг/га в период цветения [1, 3]. Среди растений, представляющих интерес для пчеловодства, можно выделить медоносные кустарники. Ввиду своей неприхотливости и небольшой требовательности к пространству, эти медоносы являются наиболее ценными для улучшения медоносной базы [1, 2, 3]. Медоносные кустарники хорошо развиваются среди других деревьев, на лесных опушках, в негустых лесах, на каменистых склонах по обоим берегам Днестра, в сырых и заболоченных участках вдоль берегов, образуя сплошные заросли до 3-х метров в высоту [10, 11]. Охотно посещаются пчёлами в весенне-летний период, являясь важными пыльценосами и нектароносными, обеспечивают хороший взяток в течение суток – от 5 до 30 кг, а мёдопродуктивность составляет от 200 до 1000 кг/га в период цветения. Мёд приятного вкуса, ароматный. Наиболее распространены в среднем течении реки Днестр такие медоносные кустарники: *Crataegus monogyna* Jacq. – боярышник однопестечный, *Sambucus nigra* L. – бузина чёрная, *Rhamnus cathartica* L. – жёстер слабительный, *Viburnum opulus* L. – калина обыкновенная, *Cornus mas* L. – кизил обыкновенный, *Corylus avellana* (L.) H. Karst – лещина обыкновенная, *Eleagnus angustifolia* L. – лох узколистный, *Rosa canina* L. – шиповник собачий, *Prunus spinosa* L. – тёрн [10].

Медоносные условия, складывающиеся на территории прибрежно-водных угодий Днестра, зависят не только от главных или второстепенных древесных медоносов и кустарников. Исключительную ценность для пчеловодства представляют в первую очередь произрастающие на этой территории травянистые медоносы – однолетние, двулетние и многолетние растения. Эта растительная группа, пожалуй, самая многочисленная по видовому составу из всех вышеперечисленных. Это отличные пыльценосные и нектароносные растения. Период цветения у травянистых растений очень растянут: от 90 до 130 дней. Цветут с конца апреля *Taraxacum officinale* Webb. – одуванчик лекарственный, по конец сентября *Origanum vulgare* L. – душица обыкновенная. Хорошо посещаются пчёлами в течение светового дня и на протяжении всего вегетационного периода. Мёдопродуктивность травянистых медоносов составляет от 100 до 500 кг/га. Они широко распространены во всех биотопах Днестра: в посевах зерновых и пропашных культур, на пустырях, возле дорог (*Taraxacum officinale* Webb. – одуванчик лекарственный, *Plantago media* L. – подорожник средний, *Leonurus cardiaca* L. – пустырник сердечный, *Echium vulgare* L. – синяк обыкновенный, *Lamium album* L. – яснотка белая), у кромки воды и на прибрежно-водных территориях (*Polygonum hidropiper* L. – горец перечный, *Lythrum salicaria* L. – дербенник иволистный), в лесах, на лесных полянах и среди кустарников (*Origanum vulgare* L. – душица обыкновенная, *Hyssopus officinalis* – иссоп лекарственный, *Symphytum officinale* L. – окопник лекарственный, *Aegopodium podagraria* L. – сныть обыкновенная) [10].

Растения, закрепляющие почвенный аллювий

Положительное влияние на прибрежные экосистемы оказывают растения, закрепляющие почвенный аллювий. Несмотря на то, что корневая система у этих растений развита слабо, тем не менее, развиваясь массово, они формируют сплошной травянистый ковёр, который препятствует водной и ветровой эрозии дельты берегов Днестра и способствует гидродинамике водных потоков. К наиболее распространённым видам растений, закрепляющих почвенный аллювий среднего течения реки Днестр, относятся такие виды: *Potentilla anserina* L. – лапчатка гусиная, *Potentilla reptans* L. – лапчатка ползучая, *Veronica beccabunga* L. – вероника поточная [11].

Выводы

В результате проведенных исследований было обнаружено 69 видов полезных растений, среди которых лекарственных – 12 растений, кормовых – 17, технических – 8, медоносных – 26, закрепляющих почвенный аллювий – 6. Фитоценозы среднего течения реки Днестр относятся к наиболее уязвимой территории ввиду высокой концентрации исторических и природных памятников, повышенной туристической активности, непосредственной близости населённых пунктов к бассейну реки, сельскохозяйственной деятельности, выпаса скота, а также рекреационной нагрузки на побережье. Помимо антропогенных проблем, существуют и природные: это ветровая и водная эрозия, оползни, биологическое загрязнение. Подобные факторы ослабляют структуры фитоценозов, способствуя формированию неблагоприятных условий для дальнейшего развития и размножения растений. Рассмотренные примеры околоводных растений позволяют сделать вывод о многообразии биологических типов и форм этой экологической группы видов, приспособившихся к существованию на влажных почвах и в воде, где условия среды постоянно меняются.

Таблица

Перечень наиболее часто встречаемых видов полезных околоводных растений среднего течения реки Днестр

Латинское название таксона	Русское название таксона	Значение
<i>Acer campestre</i> L.	Клён полевой	Медоносное
<i>Acer tataricum</i> L.	Клён татарский	Медоносное
<i>Aegopodium podagraria</i> L.	Сныть обыкновенная	Медоносное
<i>Agrostis stolonifera</i> L.	Полевица побегоносная	Кормовое
<i>Alisma plantago-aquatica</i> L.	Частуха обыкновенная	Кормовое, закрепляющее аллювий
<i>Anchusa officinalis</i> L.	Анхуза лекарственная	Медоносное
<i>Beckmannia eruciformis</i> (L.)	Бекмания обыкновенная	Кормовое
<i>Bidens tripartita</i> L.	Черёда трёхраздельная	Лекарственное
<i>Butomus umbellatus</i> L.	Сусак зонтичный	Кормовое, закрепляющее аллювий
<i>Calamagrostis epigeios</i> L.	Вейник наземный	Кормовое
<i>Cornus mas</i> L.	Кизил обыкновенный	Медоносное
<i>Corylus avellana</i> (L.) H. Karst.	Лещина обыкновенная	Медоносное
<i>Crataegus monagyna</i> Jacq.	Боярышник однопестечный	Медоносное
<i>Cynodon dactylon</i> Pers.	Свиной пальчатый	Кормовое
<i>Dactylis glomerata</i> L.	Ежа сборная	Кормовое
<i>Echium vulgare</i> L.	Синяк обыкновенный	Медоносное
<i>Eleagnus angustifolia</i> L.	Лох узколистный	Медоносное
<i>Elytrigia repens</i> L.	Пырей ползучий	Кормовое
<i>Equisetum arvense</i> L.	Хвощ полевой	Лекарственное
<i>Glyceria arundinacea</i> R.Br.	Манник тростниковый	Техническое
<i>Glyceria fluitans</i> R.Br.	Манник наплывающий	Техническое
<i>Glyceria maxima</i> R.Br.	Манник большой	Техническое
<i>Glyceria notata</i> R.Br.	Манник складчатый	Техническое
<i>Gnaphalium uliginosum</i> L.	Сушеница болотная	Лекарственное
<i>Gratiola officinalis</i> L.	Авран лекарственный	Лекарственное
<i>Hyssopus officinalis</i> L.	Иссоп лекарственный	Медоносное, лекарственное
<i>Lamium album</i> L.	Яснотка белая	Медоносное
<i>Leonurus cardiaca</i> L.	Пустьрник сердечный	Медоносное

<i>Lysimachia nummularia</i>	Вербейник монетчатый	Лекарственное
<i>Lythrum salicaria</i> L.	Деребник иволистный	Медоносное
<i>Mentha longifolia</i> L. Huds	Мята длиннолистная	Лекарственное
<i>Myriophyllum spicatum</i> L.	Уруть колосистая	Кормовое
<i>Myriophyllum verticillatum</i> L.	Уруть мутовчатая	Кормовое
<i>Origanum vulgare</i> L.	Душица обыкновенная	Медоносное
<i>Phleum pretense</i> L.	Тимофеевка луговая	Кормовое
<i>Phragmites communis</i> Cav.	Тростник обыкновенный	Техническое
<i>Pinus nigra</i> J.F. Arnold.	Сосна чёрная	Медоносное, лекарственное
<i>Plantago major</i> L.	Подорожник большой	Медоносное, лекарственное
<i>Poa palustris</i> L.	Мятлик болотный	Кормовое
<i>Poa trivialis</i> L.	Мятлик обыкновенный	Кормовое
<i>Polygonum hidropiper</i> L.	Горец перечный	Медоносное
<i>Potamogeton crispus</i> L.	Рдест курчавый	Кормовое
<i>Potamogeton lucens</i> L.	Рдест блестящий	Кормовое
<i>Potamogeton perfoliatus</i> L.	Рдест пронзеннолистный	Кормовое
<i>Potentilla anserina</i> L.	Лапчатка гусиная	Закрепляющее аллювий
<i>Potentilla reptans</i> L.	Лапчатка ползучая	Закрепляющее аллювий
<i>Pulmonaria officinalis</i> L.	Медуница лекарственная	Медоносное, лекарственное
<i>Quercus petrea</i> L.	Дуб скальный	Медоносное
<i>Rhamnus cathartica</i> L.	Жостер слабительный	Медоносное
<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	Робиния обыкновенная	Медоносное, лекарственное
<i>Rosa canina</i> L.	Шиповник собачий	Медоносное, лекарственное
<i>Sagittaria comunis</i> L.	Стрелолист обыкновенный	Кормовое, закрепляющее аллювий
<i>Salix alba</i> L.	Ива белая	Медоносное
<i>Sambucus nigra</i> L.	Бузина чёрная	Медоносное
<i>Scirpus tabernaemontani</i> L.	Куга табернемонтана	Техническое
<i>Symphytum officinale</i> L.	Окопник лекарственный	Медоносное, лекарственное
<i>Taraxacum officinale</i> Webb.	Одуванчик лекарственный	Медоносное, лекарственное
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Тимьян обыкновенный	Медоносное, лекарственное
<i>Tilia cordata</i> Mill.	Липа сердцевидная	Медоносное, лекарственное
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	Клевер земляничный	Кормовое
<i>Trifolium repens</i> L.	Клевер ползучий	Кормовое
<i>Tussilago farfara</i> L.	Мать-и-мачеха	Лекарственное
<i>Typha angustifolia</i> L.	Рогоз узколистный	Техническое
<i>Veronica beccabunga</i> L.	Вероника поточная	Закрепляющее аллювий
<i>Viburnum opulus</i> L.	Калина обыкновенная	Медоносное, лекарственное

Литература:

- АНДРЕЕВ, В.Н. *Деревья и кустарники Молдавии*. Кишинев, 1957, вып.1. 208 с.
- ГРИСЮК, Н.М., ГРИНЧАК, И.Л., ЕЛИН, Е.Я. *Дикорастущие пищевые, технические и медоносные растения Украины*. Киев, 1989. 200 с.
- БОДРУГ, М.В. *Дикорастущие эфиромасличные растения Молдавии*. Кишинев: Штиинца, 1981. 141 с.
- СМИРНОВА-ГАРАЕВА, Н.В. *Водная растительность Днестра и ее хозяйственное значение*. Кишинев: Штиинца, 1980. 136 с.
- ГЕЙДЕМАН, Т.С. *Определитель высших растений Молдавской ССР*. Кишинев: Штиинца, 1986. 638 с.
- СМИРНОВА-ГАРАЕВА, Н.В. *Растительность Днестра*. Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1976. 45 с.
- ПАЛОВ, М. *Энциклопедия лекарственных растений*. Москва, 1998. 467 с.

8. ПЫНЗАРУ, П., ИЗВЕРСКАЯ, Т. О необходимости комплексной охраны биоразнообразия Среднего Днестра. В: *Сохранение биоразнообразия бассейна Днестра: Материалы международной конференции*. Кишинев: ВІОТІСА, 1999, с.193-194.
9. СМІРНОВА–ГАРАЕВА, Н.В. Эколого–фитоценотическая характеристика прибрежно-водной растительности Днестра на территории МССР и юга УССР. В: *Охрана природы Молдавии*, 1972, с.119-124.
10. ГУРСКАЯ, Е.А. Материалы к изучению высшей водной растительности пойменных водоемов реки Днестр. В: *Материалы по гидробиологии и рыболовству лиманов Северо-Западного Причерноморья*, 1953, вып. 2, с.75-79.
11. КАТАНСКАЯ, В.М. Методика исследований высшей водной растительности. В: *Жизнь пресных вод СССР*. Ленинград, 1956, том IV.

Примечание: исследование выполнено в лаборатории «Альгология», в рамках проекта 15.817.02.36А.

Prezentat la 30.03.2016

STRUCTURA TAXONOMICĂ, ECOLOGIA ȘI IMPACTUL SPECIILOR DE PLANTE INVAZIVE ASUPRA ECOSISTEMULUI CHIȘINĂU

Ludmila CUHARSCAIA

Universitatea de Stat din Moldova

În prezent, speciile invazive sunt considerate de către savanți ca fiind a doua după însemnătate problemă ecologică contemporană, care prezintă pericol pentru biodiversitatea Terrei. În articol sunt generalizate date de ultimă oră privind structura taxonomică și caracterele ecologice ale speciilor de plante invazive din cadrul ecosistemului urban Chișinău. O atenție deosebită este acordată studiului impactului speciilor străine asupra economiei, vegetației autohtone și sănătății omului.

Cuvinte-cheie: *specii de plante invazive, urboecosistem, floră urbană, ecologia plantelor.*

TAXONOMIC STRUCTURE, ECOLOGY AND IMPACT OF INVAZIVE PLANT SPECIES ON CHISINAU ECOSYSTEM

According to the World Conservation Union, invasive alien species are the second most significant threat to biodiversity, after habitat loss. In this article have been generalized and analyzed last data about specific composition of invasive flora from the Chisinau ecosystem, have been studied and analyzed some eco-biological characters of alien invazive plant species. Was assessed their negative and pozitiv impacts on the urban ecosystem, economy and human health.

Keywords: *invasive species, urboecosystem, urban flora, plants ecology.*

Introducere

În prezent, invazia organismelor este recunoscută pe plan internațional ca o importantă componentă a schimbărilor globale provocate de acțiunea omului în biosferă. Speciile exotice invazive sunt considerate de către savanți ca fiind a doua după însemnătate problemă ecologică contemporană, care prezintă pericol pentru biodiversitatea Terrei. Studiarea speciilor invazive este una dintre direcțiile prioritare ale ecologiei contemporane și anume orașele prezintă focare de pătrundere și de răspândire a multor specii adventive, inclusiv a celor cu caracter invaziv. Recomandarea-cheie a Strategiei asupra speciilor invazive în Europa constă în inventarierea speciilor străine depistate în condiții naturale în diferite localități. În fiecare țară trebuie să existe controlul și monitoringul asupra apariției și răspândirii speciilor invazive.

Ca obiect de studiu a fost aleasă flora invazivă a ecosistemului urban Chișinău, care, fiind capitala Republicii Moldova, se caracterizează prin concentrația înaltă a populației, poluarea sporită a mediului, prezența multor spații verzi, dar și a biotopurilor degradate, circulația intensă a transportului. Astfel de condiții favorizează pătrunderea și migrarea speciilor alohtone, inclusiv a celor invazive.

Material și metode

Pe parcursul ultimilor cinci ani a fost monitorizată situația cu privire la speciile de plante invazive de pe teritoriul sectoarelor Botanica, Râșcani, Centru, Buiucani, Ciocana ale mun. Chișinău. Studiile practice au fost efectuate cu aplicarea metodelor clasice de studiere a florei, adaptate la specificul ecosistemului urban [1,5]. Observațiile efectuate au servit ca bază pentru evaluarea impactului negativ al plantelor invazive asupra mediului urban.

Rezultate și discuții

Componenta floristică. În rezultatul cercetărilor asupra florei plantelor adventive în mun. Chișinău, efectuate pe parcursul ultimilor 25 de ani (1986-2011), au fost depistate cca 90 de specii străine, ceea ce constituie cca 50% din numărul lor total în R. Moldova [2-4].

Monitoringul comportării lor pe teritoriul municipiului, inclusiv cercetările noastre efectuate pe parcursul ultimilor doi ani, au arătat că 34 de specii alohtone, sau 38% din numărul lor total, sunt invazive (Tab.1).

Tabelul 1

Structura taxonomică a florei invazive

Nr.	Familiile	Genurile	Speciile
1.	<i>Aceraceae</i>	<i>Acer</i>	<i>Acer negundo</i>
2.	<i>Asteraceae</i>	<i>Ambrosia</i> <i>Artemisia</i> <i>Cyclachaena</i> <i>Erigeron</i> <i>Galinsoga</i> <i>Grindelia</i> <i>Xanthium</i> <i>Helianthus</i>	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> <i>Artemisia austriaca</i> <i>Cyclachaena xanthiifolia</i> <i>Erigeron annuus</i> <i>Erigeron canadensis</i> <i>Galinsoga parviflora</i> <i>Grindelia squarrosa</i> <i>Xanthium albinum</i> <i>Helianthus tuberosus</i>
3.	<i>Amaranthaceae</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Amaranthus retroflexus</i>
4.	<i>Balsaminaceae</i>	<i>Impatiens</i>	<i>Impatiens parviflora</i>
5.	<i>Brassicaceae</i>	<i>Cardaria</i>	<i>Cardaria draba</i>
6.	<i>Cannabaceae</i>	<i>Cannabis</i>	<i>Cannabis ruderalis</i>
7.	<i>Caesalpiniaceae</i>	<i>Gleditsia</i>	<i>Gleditsia triacanthos</i>
8.	<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Echinocystis</i>	<i>Echinocystis lobata</i>
9.	<i>Cuscutaceae</i>	<i>Cuscuta</i>	<i>Cuscuta campestris</i>
10.	<i>Elaeagnaceae</i>	<i>Elaeagnus</i>	<i>Elaeagnus angustifolia</i>
11.	<i>Fabaceae</i>	<i>Amorfa</i> <i>Medicago</i> <i>Robinia</i>	<i>Amorfa fruticosa</i> <i>Medicago sativa</i> <i>Robinia pseudacacia</i>
12.	<i>Juncaceae</i>	<i>Juncus</i>	<i>Juncus tenuis</i>
13.	<i>Malvaceae</i>	<i>Abutilon</i> <i>Hibiscus</i>	<i>Abutilon theophrasti</i> <i>Hibiscus trionum</i>
14.	<i>Nyctaginaceae</i>	<i>Oxybaphus</i>	<i>Oxybaphus nyctagineus</i>
15.	<i>Onagraceae</i>	<i>Oenothera</i>	<i>Oenothera biennis</i>
16.	<i>Oxalidaceae</i>	<i>Xanthoxallis</i>	<i>Xanthoxallis dillennii</i>
17.	<i>Poaceae</i>	<i>Cenchrus</i>	<i>Cenchrus pauciflorum</i>
18.	<i>Simaroubiaceae</i>	<i>Ailanthus</i>	<i>Ailanthus altissima</i>
19.	<i>Solanaceae</i>	<i>Datura</i> <i>Hyosciamus</i> <i>Lycium</i>	<i>Datura stramonium</i> <i>Hyosciamus niger</i> <i>Lycium barbatum</i>
20.	<i>Vitaceae</i>	<i>Parthenocissus</i> <i>Vitis</i>	<i>Parthenocissus quinquefolia</i> <i>Vitis vinifera</i>

Cele 34 de specii invazive fac parte din 20 de familii, printre care cele mai bogate în specii sunt *Asteraceae* – cu 9 specii (26%), *Solanaceae* – cu 3 specii (9%), *Fabaceae* – cu 3 specii (9%), *Malvaceae* – cu 2 specii (6%), *Vitaceae* – cu 2 specii (6%); 15 familii sunt prezentate de o singură specie fiecare.

Analiza geografică. Studiul privind originea speciilor invazive (Tab.2) a arătat că mai mult de jumătate din numărul de specii invazive – 18 (52%) sunt nord-americane, de exemplu: *Ambrosia artemisiifolia*, *Erigeron annuus*, *E.canadensis*, *Parthenocissus quinquefolia*.

Tabelul 2

Repartizarea cantitativă a speciilor studiate în funcție de originea lor

Speciile	Nord-americană	Sud-americană	Europeană	Mediterraneană	Asia Mică	Asia de Sud-Est	Asia Mijlocie	Asia de Est
34	18	1	1	5	1	3	2	3
100%	52	3	3	15	3	9	6	9

Cinci specii (15%) au provenit din regiunea mediteraneană: *Cardaria draba*, *Hibiscus trionum*, *Hyoscyamus niger*, *Oenothera biennis*, *Vitis vinifera*. Câte trei specii (câte 9%) – din Asia de Sud-Est: *Medicago sativa*, *Cannabis ruderalis*, *Abutilon theophrasti* și din Asia de Est – *Ailanthus altissima*, *Artemisia annua*, *Lycium barbarum*. Două specii (6%) sunt din Asia Mijlocie: *Impatiens parviflora*, *Elaeagnus angustifolia*. Câte o singură specie (câte 3%) provine din regiunea europeană – *Xanthium albinum*, din regiunea sud-americană – *Galinsoga parviflora* și din Asia Mică – *Datura stramonium*.

Cele mai multe specii de plante invazive sunt de origine nord-americană, ceea ce se explică prin faptul că condițiile climaterice din partea centrală a acestui continent sunt asemănătoare cu cele din R. Moldova.

Grupele ecologice ale speciilor invazive. În procesul de cercetare a florei invazive din ecosistemul urban Chișinău au fost studiate unele caractere ecologice, cum sunt: adaptarea lor la regimul fotic și cel hidric ale biotopurilor, troficitatea substratului, precum și apartenența la anumite forme biologice (Tab.3).

Tabelul 3

Grupele ecologice ale speciilor invazive

Specii	Biomorfe	Grupe ecologice în funcție de		
		iluminare	umiditate	troficitatea solului
<i>Abutilon theophrasti</i>	terofit	heliofit	mezofit	eutrof
<i>Acer negundo</i>	fanerofit	heliofit	xeromezofit	mezotrof
<i>Ailanthus altissima</i>	fanerofit	heliofit	xeromezofit	mezotrof
<i>Amaranthus retroflexus</i>	terofit	heliofit	xeromezofit	eutrofă (nitrofilă)
<i>Ambrosia artemisifolia</i>	terofit	heliofit	xeromezofit	eutrof
<i>Amorpha fruticosa</i>	camefit	heliofit	xeromezofit	oligomezotrof
<i>Artemisia annua</i>	terofit	heliofit	xerofit	mezoeutrof
<i>Cannabis ruderalis</i>	terofit	heliofit	mezofit	eutrof
<i>Cardaria draba</i>	hemicriptofit	heliofit	xeromezofit	mezotrof
<i>Cenchrus pauciflorus</i>	terofit	heliofit	xerofit	oligotrof (psamofit)
<i>Cuscuta campestris</i>	terofit	heliofit		parazită
<i>Cyclachaena xanthiifolia</i>	terofit	heliofit	xeromezofit	eutrof
<i>Datura stramonium</i>	terofit	heliofit	mezofit	eutrof
<i>Echinocystis lobata</i>	terofit	heliofit	mezohigrofit	mezoeutrof
<i>Elaeagnus angustifolia</i>	fanerofit	heliofit	xeromezofit	mezotrof
<i>Erigeron annuus</i>	tero-hemiterofit	heliofit	mezofit	mezotrof
<i>Erigeron canadensis</i>	terofit	heliofit	xeromezofit	mezotrof
<i>Galinsoga parviflora</i>	terofit	heliosciofit	mezofit	mezoeutrof (nitrofil)
<i>Gleditsia triacanthos</i>	fanerofit	heliofit	mezofit	mezoeutrof
<i>Grindellia squarrosa</i>	hemicriptofit	heliofit	xerofit	mezotrof
<i>Helianthus tuberosus</i>	criptofit (geofit)	heliofit	mezofit	eutrof
<i>Hibiscus trionum</i>	terofit	heliofit	xeromezofit	mezoeutrof
<i>Hyoscyamus niger</i>	tero-hemiterofit	heliosciofit	xeromezofit	eutrof (nitrofilă)
<i>Impatiens parviflora</i>	terofit	sciofite	mezohigrofit	eutrof (nitrofilă)
<i>Juncus tenuis</i>	hemicriptofit	heliofit	mezohigrofit	eutrof
<i>Lycium barbarum</i>	camefit	heliofit	xeromezofit	mezotrof
<i>Medicago sativa</i>	hemicriptofit	heliofit	xeromezofit	mezoeutrof
<i>Oenothera biennis</i>	hemiterofit	heliosciofit	mezofit	mezoeutrof
<i>Oxybaphus nyctagineus</i>	hemicriptofit	heliofit	xeromezofit	oligotrof
<i>Parthenocissus quinquefolia</i>	hemicriptofit	heliosciofit	mezofit	mezoeutrof
<i>Robinia pseudacacia</i>	fanerofit	heliofit	xeromezofit	mezoeutrof
<i>Vitis vinifera</i>	fanerofit	heliofit	mezofit	mezotrof
<i>Xanthium albinum</i>	terofit	heliofit	xeromezofit	mezoeutrof
<i>Xanthoxalis dillennii</i>	hemicriptofit	sciofit	mezofit	eutrof

Analiza speciilor invazive în funcție de biomorfă a arătat că pe teritoriul cercetat în cel mai mare număr vegetează speciile erbacee – 26 (76%), majoritatea din ele fiind tero- și hemiterofitele – 18 (53%), printre care: *Cyclachaena xanthiifolia*, *Echinocystis lobata*, *Hyoscyamus niger*, *Abutilon theophrasti*, *Ambrosia artemisiifolia*. Hemicriptofitele sunt prezentate de 7 specii cu ponderea de 20% în flora speciilor invazive, de exemplu: *Cardaria draba*, *Oxybaphus nyctagineus*, *Medicago sativa*. O singură specie este criptofită (geofită) – *Helianthus tuberosus*. Ponderea speciilor lemnoase în alcătuirea florei invazive în mun. Chișinău constituie 24%, din care 18% aparțin fanerofitelor (6 specii, de exemplu: *Acer negundo*, *Ailanthus altissima*, *Robinia pseudacacia*) și 6% – camefitelor (*Amofra fruticosa* și *Lycium barbarum*).

Analiza repartizării speciilor studiate în funcție de regimul fotic al biotopului a arătat că majoritatea speciilor invazive – 28 (82%) sunt heliofite, ca, de exemplu: *Xanthium albinum*, *Vitis vinifera*, *Oxybaphus nyctagineus*. Ponderea heliosciofitelor în flora cercetată este mult mai mică – 12%, acest grup fiind prezentat de 4 specii: *Hyoscyamus niger*, *Galinsoga parviflora*, *Parthenocisus quinquefolia* și *Oenothera biennis*. Doar două specii (6%) – *Xanthoxalis dillennii* și *Impatiens parviflora* – sunt sciofite.

Repartizarea speciilor în funcție de regimul hidric al biotopului a arătat că ele se referă la patru grupe ecologice – xeromezofite, mezohigrofită, mezofite, xerofite. Majoritatea speciilor invazive se caracterizează prin toleranță înaltă față de varietatea regimului hidric al biotopului și fac parte din grupul xeromezofitelor – 16 specii (47%), printre care *Ailanthus altissima*, *Amorpha fruticosa*, *Elaeagnus angustifolia*. Pe al doilea loc se plasează speciile adaptate la creșterea în biotopuri cu umiditate moderată – mezofite – 11 specii (32%), de exemplu: *Datura stramonium*, *Xanthoxalis dillennii*, *Vitis vinifera*. Cea mai mică este ponderea xerofitelor și mezohigrofitelor în formarea florei invazive a Chișinăului – câte 9% pentru fiecare grup. În biotopurile uscate vegetează *Cenchrus pauciflorus*, *Artemisia annua*, *Grindellia squarrosa*, iar în biotopurile moderat umede și cu exces de umiditate – *Impatiens parviflora*, *Juncus tenuis*, *Echinocystis lobata*.

Speciile invazive au fost studiate și din punctul de vedere al adaptării lor la conținutul substanțelor nutritive în sol. Analiza datelor obținute a arătat că, în funcție de troficitatea solului, speciile studiate se clasifică în 5 grupe: oligotrofe, mezotrofe, oligomezotrofe, eutrofe și mezoeutrofe. O singură specie este parazită – *Cuscuta campestris*. Cea mai bogată în specii – 11 (32%) este grupa plantelor eutrofe, din care fac parte, de exemplu, *Cyclachaena xanthiifolia*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Cannabis ruderalis*; 3 din acestea sunt nitrofile: *Impatiens parviflora*, *Hyoscyamus niger*, *Amaranthus retroflexus*. Bine prezentată este și grupa mezotrofelor – 10 specii (29%), printre care: *Lycium barbarum*, *Grindellia squarrosa*, *Erigiron canadensis*, *E. annuus*. Puțin mai săracă în specii este grupa mezoeutrofelor, care unește 9 specii (27%), printre care: *Robinia pseudacacia*, *Oenothera biennis*, *Gleditsia triacanthos*; din acestea o singură specie este nitrofilă – *Galinsoga parviflora*. Pe solurile sărace și relativ sărace în substanțe nutritive vegetează 2 specii oligotrofe (6%) – *Cenchrus pauciflorus*, *Oxybaphus nyctagineus*, și o singură specie (3%) oligomezotrofă – *Amorpha fruticosa*. *Cenchrus pauciflorus* preferă substraturi nisipoase, fiind specia psamofilă.

Concluzii și recomandări

Speciile invazive reprezintă o amenințare majoră pentru biodiversitatea autohtonă, economia națională și sănătatea populației. Speciile invazive reprezintă o problemă la nivel național și internațional și ea nu poate fi rezolvată fără colaborarea cu țările învecinate. În opinia noastră, pentru ameliorarea situației actuale trebuie aplicate următoarele măsuri:

1. Informarea populației urbane despre problema privind speciile de plante invazive.
2. Este esențială detectarea lor timpurie.
3. Intensificarea controalelor și inspecțiilor la frontieră, împreună cu instituirea unei proceduri de evaluare în vederea determinării acceptabilității importurilor de mărfuri noi.
4. Schimbul de informații între organismele naționale, regionale și internaționale care lucrează în domeniul controlului speciilor străine invazive.
5. Eradicarea focarelor de invazie.
6. Controlul populațiilor de specii invazive larg răspândite.

Referințe:

1. CRISTEA, V., GAFTA, D., PERDOTTI, F. *Fitosociologie*. Cluj-Napoca, 2004, p.62-114. ISBN 973-610-192-4
2. CUHARSCAIA, L., BURACINSCHI, N. Unele noutăți floristice pentru mun. Chișinău. În: *Analele Științifice ale USM*. Chișinău, 1999, p.8-10.
3. CUHARSCAIA, L., BURACINSCHI, N. Unele date despre elementul adventiv din flora sectoarelor Botanica și Râșcani ale mun. Chișinău. În: *Biodiversitatea vegetală a R. Moldova: Culegere de articole științifice*. Chișinău: CEP USM, 2001, p.89-91.
4. MÂRZA, M. *Flora și vegetația sinantropă necultivată a Republicii Moldova: Autoreferatul tezei de doctor habilitat în biologie*. Chișinău, 2010. 43 p.
5. ГЕЙДЕМАН, Т.С. *Определитель высших растений Молдавской ССР*. Кишинев: Штиинца, 1986. 637 с. УДК 5823\9

Prezentat la 26.04.2016

ANATOMIA CANTITATIVĂ A EPIDERMEI LAMINEI FRUNZEI

LA VIȚA DE VIE (*VITIS L.*)

Valentin CODREANU

Grădina Botanică (Institut) a AȘM

Pentru a evidenția caracterile adaptive ale rezistenței la secetă a viței de vie, sunt calculate valorile biometrice a 11 caractere anatomice ale epidermei laminei frunzei la 15 specii ale genului *Vitis L.* și la 15 soiuri de viță de vie locale ale speciei *Vitis vinifera L.*

Tipul morfologic actinocit al aparatelor (complexelor) stomatice este caracteristic pentru epiderma abaxială a laminei frunzei la vița de vie (*Vitis L.*).

Speciile genului *Vitis L.* – *Vitis californica*, *V. sylvestris* – și soiurile viței de vie locale – Coarna neagră, Copciac, Plavae – s-au dovedit a fi mai adaptate la condițiile concrete de viață, deoarece ele nu și-au schimbat semnificativ densitatea stomatelor în anul 2008, an ce a urmat după anul secetos 2007.

Mai adaptabile la noile condiții de viață sunt speciile *V. monticola*, *V. rupestris*, *V. solonis* și soiurile de viță de vie locale Feteasca neagră și Rara neagră, la care densitatea stomatelor s-au schimbat destul de mult în anul 2008.

Este elaborată metoda de determinare a ariei medii a stomatelor și a celulelor bazale ale epidermei abaxiale a laminei frunzei la vița de vie (*Vitis L.*).

Cuvinte-cheie: epidermă abaxială, epidermă adaxială, lamina frunzei, metodă, rezistență la secetă, *Vitis L.*

THE QUANTITATIVE ANATOMY OF LEAF BLADE EPIDERMIS OF GRAPEVINE (*VITIS L.*)

In order to reveal adaptable characters of drought resistance of grapevine, are calculated the biometric values of 11 anatomic characters of leaf blade epidermis at 15 species of genus *Vitis L.* and 15 local cultivars of species *Vitis vinifera L.*

The stomatal density per 1 mm² of foliar area is specific and sorts specific and varies from 101,14 stomata/mm², at local sort Rara neagră to 225,50 stomata/mm², at *Vitis sylvestris*.

The stomatal complex of leaf blade abaxial epidermis of studied species and cultivars of grapevine is of actinocytic type and it is characteristic for the genus *Vitis L.*

The species of genus *Vitis L.* – *V. californica*, *V. sylvestris* – and local cultivars – Coarna neagră, Copciac and Plavae – are more adaptable to concrete life conditions, because the they density of stomata do not considerable change in year 2008, next after drought 2007 year.

More adaptable to new life conditions are species *V. monticola*, *V. rupestris*, *V. solonis* and cultivars Feteasca neagră and Rara neagră, at which the stomatal density is more changed in year 2008.

It is elaborated the method for determination the average area of stomata and basal cells of abaxial epidermal cells of leaf blade of grapevine (*Vitis L.*).

Keywords: abaxial epidermis, adaxial epidermis, leaf blade, method, drought resistance, *Vitis L.*

Introducere

Cu scopul de a stabili caracterile adaptive ale rezistenței la secetă a viței de vie, care pot fi folosite în lucrările de selecție și introducere în cadrul genului *Vitis L.*, au fost determinate valorile biometrice a 11 caractere anatomice ale epidermei laminei frunzei la 15 specii ale genului *Vitis L.* și la 15 soiuri de viță de vie locale ale speciei *Vitis vinifera L.*

Studierea lucrărilor mai multor autori privind structura și rezistența la secetă a plantelor cu semințe [1-3]; anatomia frunzei și rezistența la secetă a speciilor și soiurilor viței de vie (*Vitis L.*) [4-9]; rolul densității stomatelor în determinarea rezistenței la secetă a viței de vie [10-14]; rezistența viței de vie la condițiile nefavorabile ale mediului exterior [15] ne-a determinat să alegem un complex de caractere anatomice ale epidermei laminei frunzei, care au fost studiate pentru a aprecia rolul lor în rezistența la secetă a speciilor și soiurilor viței de vie.

Material și metode

Materialul de cercetare – frunzele mature ale speciilor și soiurilor viței de vie au fost colectate în perioada 20...25 iulie a anilor de studiu (2006-2010), în colecția ampelografică a Institutului Național al Viei și Vinului, situată în apropierea mun. Chișinău.

Anatomia cantitativă a epidermei laminei frunzei a fost studiată la microscopul fonic Ergaval pe replicile (ampretele) epidermei adaxiale și abaxiale, pregătite din lacul incolor „Golden Rose” [16-17].

Rezultate și discuții

Epiderma laminei frunzei la vița de vie (*Vitis L.*) este un țesut de protecție primar, alcătuit dintr-un singur rând de celule, care se deosebesc după formă, mărime, structură și funcții [17-20]. Acest țesut învelește mezofilul și formează, pe partea ventrală a frunzei, epiderma adaxială, iar pe partea ei dorsală – epiderma abaxială (Fig.1-6).

Epiderma adaxială, în plan, este alcătuită dintr-un rând de celule, compact situate una lângă alta. Celulele au forma unui poligon cu 5-8 laturi de diferită lungime (Fig. 1a-6a). Pereții anticlinali ai acestor celule sunt mai îngroșați decât cei radiali și sunt acoperiți cu un strat de cuticulă de diferită grosime la diferite specii și soiuri de viță de vie. Epiderma adaxială a laminei frunzei la vița de vie (*Vitis L.*) nu are stomate.

Planșa 1. Morfologia celulelor epidermei adaxiale și abaxiale a laminei frunzei la vița de vie (*Vitis L.*).

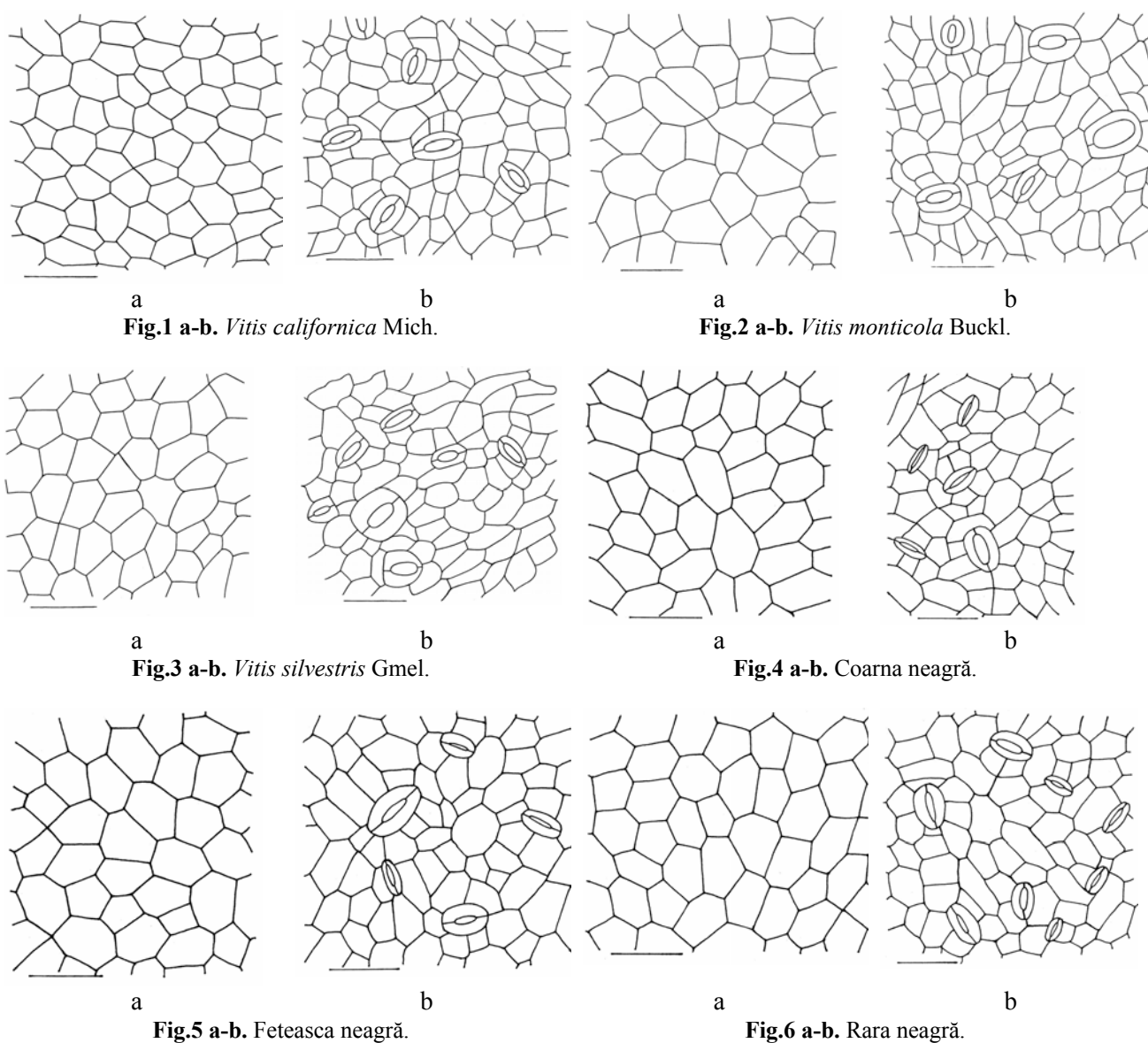


Fig. 1a-6a. Epiderma adaxială a frunzei la 3 specii ale genului *Vitis L.* și la 3 soiuri de viță de vie locale ale speciei *Vitis vinifera L.*

– Bara în figuri are lungimea de 50 μm.

Fig. 1b-6b. Morfologia celulelor epidermei abaxiale a laminei frunzei mature, în plan, la 3 specii și 3 soiuri de viță de vie.

Epiderma abaxială a laminei frunzei de asemenea este formată dintr-un rând de celule, dar conține două tipuri morfologice de celule (Fig. 1b-6b): celule epidermale propriu-zise (basale), variate după formă și mărime, în plan poligonale și stomate. Stomata reprezintă o pereche de celule stomatice (de închidere) cu ostiol(ă), (apertură) între ele. Stomata este înconjurată de celule epidermale obișnuite (celule vecine) sau e înconjurată de celule modificate (celule anexe). Stomata, împreună cu celulele anexe și celulele vecine, formează „aparatul (complexul) stomatic”. La speciile și soiurile viței de vie studiate, stomatele sunt prezente numai pe partea abaxială a laminei frunzei și au o răspândire aproape regulată [16-18, 21].

De obicei, celulele anexe (accesorii) se deosebesc, după formă și mărime, de celelalte celule bazale ale epidermei abaxiale, dar și ele aparțin la celulele propriu-zise (bazale) ale epidermei abaxiale a laminei frunzei. Numărul celulelor anexe, în jurul stomatei, variază de la 4 până la 10, dar mai des sunt 6-8 celule.

În literatura botanică termenii „stomată”, „celule anexe”, „aparat (complex) stomatic” nu întotdeauna au aceeași informație. În această lucrare ne conducem de definițiile propuse de autorii C.R. Metcalf și Chalk (1950), E.I. Esau (1980), M.A. Baranova (1992).

La tipul morfologic actinocit al aparatelor (complexelor) stomatice [1, 23, 25] celulele anexe ale stomatelor se evidențiază după formă și mărime. Ele formează în jurul stomatei o rozetă. Pereții laterali ai celulelor rozetei sunt îndreptați spre apertură (Fig. 1b-6b). *Tipul morfologic actinocit al aparatelor (complexelor) stomatice* este caracteristic pentru vița de vie (*Vitis* L.).

Funcția principală a epidermei frunzei este protecția plantei viței de vie de pierderea excesivă a apei și a substanțelor nutritive, apărarea de vătămarea mecanică și de pătrunderea ciupercilor, bacteriilor, virușilor și altor patogeni.

Valorile biometrice a 11 caractere anatomice ale epidermei frunzei, la speciile și soiurile viței de vie studiate în anii 2006-2010, sunt prezentate în tabelele 1-6.

Reieșind din densitatea stomatelor la 1 mm² de suprafață (arie) foliară, speciile și soiurile viței de vie, studiate în anii 2006-2010, pot fi repartizate în 5 clase ale șirului variațional (clase ecologice).

Cl. 1. 102...134 stomate/mm². La clasa 1 aparțin 7% din numărul total de specii și soiuri de viță de vie studiate.

Cl. 2. 135...167 stomate/mm², 25%.

Cl. 3. 168...200 stomate/mm², 38%.

Cl. 4. 201...233 stomate/mm², 20%.

Cl. 5. 234...267 stomate/mm², 10%.

Ca plantă mezofită, vița de vie are unele caractere morfoanatomice și fiziologice, care îi permit să evite stresul hidric (seceta). Printre aceste caractere R.E. Smart și B.G. Coombe [26] menționează schimbările dimensiunilor stomatelor și frecvența lor.

Speciile genului *Vitis* L.: *V. californica*, *V. monticola*, *V. silvestris*, *V. solonis*, care în literatura viticolă și ampelografică sunt considerate rezistente la secetă, au densitatea stomatelor mai mică și variază de la 128 stomate/mm², la specia *V. monticola*, în anul 2008; până la 225,50 stomate/mm², la *V. silvestris*, în anul 2006.

La soiurile locale ale speciei *Vitis vinifera* L.: Coarna albă, Coarna neagră, Copciac, Feteasca albă, Feteasca neagră, Feteasca regală, Rara neagră, apreciate în literatură ca rezistente la secetă, densitatea stomatelor e mai mică și variază de la 101,14 stomate/mm², la soiul Rara neagră; de la 101,34 stomate/mm², la Coarna neagră și de la 119,16 stomate/mm², la soiul Copciac, în anul 2010; până la 197,00 stomate/mm², la Rara neagră, în anul 2007, și până la 213,60 stomate/mm², în anul 2008, la Feteasca neagră.

Densitatea stomatelor, la unele specii și soiuri de viță de vie, în anul secetos 2007, se mărește, iar la altele – se micșorează (a se vedea tabelele 1-7).

Comparând densitatea stomatelor epidermei abaxiale a laminei frunzei la 5 specii ale genului *Vitis* L. și la 5 soiuri locale ale speciei *V. vinifera* L., în anii 2006-2010 (Tab.7), constatăm că: 1) la speciile *V. californica*, *V. monticola*, *V. sylvetris*, *V. solonis* și la soiurile Coarna neagră, Rara neagră densitatea stomatelor, în anul secetos 2007, se mărește; 2) la specia *V. rupestris* și la soiurile viței de vie Copciac și Feteasca neagră densitatea stomatelor, în anul secetos 2007, se micșorează.

În literatură [27, 28] se consideră că se adaptează mai bine la condițiile noi de viață speciile și soiurile viței de vie care în anul următor după anul secetos își schimbă semnificativ densitatea stomatelor la o unitate de suprafață, (arie) foliară.

Prezentat la 26.01.2016

Tabelul 1

Caractere biometrice ale epidermei frunzei la specii ale genului *Vitis* L. Anul 2006

Denumirea speciei viței de vie	Densitatea (D) stomatelor la 1 mm ² de arie foliară	Lungimea stomatelor (în μm)	Suprafața (S), (aria) medie a stomatelor (în μm ²)	Procentajul stomatelor la 0,25 mm ² de (S) foliară	D. cel. epiderm. abaxiale (fără stomate) la 0,25 mm ² de (S) foliară	S. (aria) medie a cel. epid. abax. (fără stom.) (în μm ²)	D. cel. ep. abax. (+ stomate) la 0,25 mm ² de (S) foliară	Aria medie a cel. epid. abax. (+ stomatele) (în μm ²)	Indexul stomatic (în %)	D. cel. ep. adaxiale la 0,25 mm ² de (S) foliară	S. (aria) medie a celulelor epiderm. adaxiale (în μm ²)
<i>Vitis aestivalis</i> Mich.	216,40	30,45	386,49	8,36	532,67	430,08	586,77	426,06	9,22	383,66	651,62
<i>V. amurensis</i> Rupr.	228,57	30,25	284,33	6,50	757,00	308,79	814,14	307,07	7,02	513,00	487,33
<i>V. californica</i> Benth.	168,43	25,45	312,68	5,26	713,00	332,16	755,11	331,07	5,58	753,40	331,83
<i>V. candicans</i> Engelm.	244,71	25,67	230,67	5,64	958,66	246,06	1019,84	245,14	6,00	469,80	532,14
<i>V. champini</i> Planch.	214,00	30,50	344,38	7,37	613,71	377,34	667,21	374,69	8,02	495,89	504,14
<i>V. cinerea</i> Engelm.	185,77	27,14	265,19	4,92	846,66	280,73	893,10	279,92	5,20	532,25	469,70
<i>V. monticola</i> Buckl.	186,16	26,58	359,27	6,68	598,33	389,88	644,87	387,67	7,22	314,33	795,34
<i>V. lincecumii</i> (B-13) Buckl.	240,16	25,42	349,06	8,38	590,00	388,21	650,04	384,59	9,23	334,00	748,50
<i>V. lincecumii</i> (B-14-10) (alb) Bucl.	222,40	24,97	286,94	6,38	752,80	310,90	808,40	309,25	6,87	554,80	450,61
<i>V. pagnuccii</i> Rom. du Gail.	211,00	28,45	337,23	7,12	631,00	368,00	683,75	365,63	7,71	465,20	537,40
<i>V. romaneti</i> Rom.	203,37		357,45	7,27	593,00	390,94	643,84	388,29	7,90		
<i>V. rupestris</i> Scheele	231,60	27,58	287,59	6,66	746,33	312,66	804,23	310,85	7,20	453,66	551,07
<i>V. silvestris</i> Gmel.	225,50	24,96	339,05	7,64	623,66	370,21	680,03	367,63	8,29	511,66	488,60
<i>V. solonis</i>	182,80	29,50	237,01	4,33	958,66	249,48	1004,36	248,91	4,55	451,40	553,83
<i>V. vulpina</i> L.	171,33	30,29	377,37	6,46	572,33	408,57	615,16	406,39	6,96	430,00	581,39
<i>V. wilsonae</i> Veitch.	237,28	23,15	339,88	8,06	609,00	377,40	668,32	374,07	8,87	442,40	565,10

Tabelul 2

Caractere biometrice ale epidermei frunzei la soiuri locale ale speciei *Vitis vinifera* L. Anul 2006

Denumirea soiului viței de vie	Densitatea stomatelor la 1 mm ² de suprafață (arie) foliară	Lungimea stomatelor (în μm)	Suprafața (S), (aria) medie a stomatelor (în μm ²)	Procentajul stomatelor la 0,25 mm ² de suprafață foliară	D. cel. epidermei abax. (fără stomate) la 0,25 mm ² de s. foliară	S. (aria) medie a cel. epiderm. abax. (fără stom.) (în μm ²)	D. cel. ep. abax. (+ stomatele) la 0,25 mm ² de s. foliară	S. (aria) medie a cel. epiderm. abax. (+ stomatele) (în μm ²)	Indexul stomatic (în %)	D. cel. ep. adaxiale la 0,25 mm ² de s. foliară	S. (aria) medie a cel. epiderm. adax. (în μm ²)
Bășicata	171,50	25,22	258,90	4,44	875,66	272,82	918,53	272,17	4,67	454,60	549,93
Coarna albă	177,83	30,15	380,75	6,77	563,50	413,61	607,96	411,21	7,31	363,37	688,00
Coarna neagră	165,10	27,97	393,65	6,50	547,75	426,75	589,02	424,43	7,00	369,40	676,77
Copciac	171,60	29,25	346,72	5,95	632,00	372,03	674,90	370,42	6,35	461,43	541,79
Feteasca albă	168,00	25,03	389,31	6,54	555,00	420,98	597,00	418,76	7,03	391,40	638,73
Feteasca neagră	170,33	27,36	406,09	6,92	527,00	441,57	569,58	438,92	7,48	379,20	659,28
Feteasca regală	162,50	24,44	340,46	5,53	649,00	363,89	689,65	362,52	5,89	390,20	640,69
Gordin	179,50	30,55	316,88	5,69	694,33	339,57	739,22	338,20	6,07		
Negru de Acherman	176,50	30,03	314,71	5,55	701,66	336,51	745,15	335,50	5,92	542,00	461,25
Negru de Căușeni	121,16	27,52	383,97	4,66	589,00	404,70	619,29	403,69	4,89	456,40	547,76
Păsăreasca	182,75	27,53	369,91	6,76	578,83	404,71	624,52	400,31	7,31	412,40	606,20
Rara neagră	157,43	30,16	404,98	6,37	535,00	437,50	574,35	435,27	6,85	382,80	653,08
Roșioara	164,85	26,36	338,12	5,57	652,50	361,78	693,71	360,38	5,94	408,50	611,99
Sghigarda	164,00	25,34	320,44	5,25	694,00	341,30	735,00	340,14	5,57	429,50	582,07

Tabelul 3
Biometria caracterelor anatomice ale epidermei frunzei la specii și soiuri de viță de vie. Anul 2007

Denumirea speciei sau a soiului viței de vie	Densitatea stomatelor la 1 mm ² de arie foliară	Lungimea stomatelor (în μm)	Suprafața (aria) medie a stomatelor (în μm ²)	Procentajul stomat. la 0,25 mm ² de s. foliară	D. cel. epidermei abax. (fără stomate) la 0,25 mm ² de s. foliară	S. (aria) medie a cel. epid. abaxiale (fără stom.) (în μm ²)	D. cel. epid. abax. (+ stomatele) la 0,25 mm ² de s. foliară	Aria medie a cel. epid. abax. (+ stomatele) (în μm ²)	Indexul stomatic (în %)	D. cel. epid. adax. la 0,25 mm ² de s. foliară	Aria medie a cel. epiderm. adax. (în μm ²)
<i>V. amurensis</i> (Max.) Rupr.	224,40	25,98	355,69	7,98	585,80	392,70	641,90	389,47	8,74	486,66	513,70
<i>V. champini</i> Planch.	224,80	26,31	344,62	7,75	606,00	380,58	662,20	377,53	8,48	448,75	557,10
<i>V. cinerea</i> Arnoldi	259,83	25,27	304,38	7,91	683,50	336,84	748,46	334,02	8,68	574,00	435,54
<i>V. cinerea</i> Engelm.	214,50	27,89	339,89	7,29	620,60	373,47	674,22	370,79	7,95	498,00	502,01
<i>V. monticola</i> Buckl.	224,50	27,53	325,54	7,31	648,83	357,15	704,95	354,63	7,96	319,75	781,86
<i>V. lincecumii</i> (B-13) Buckl.	180,60	26,15	422,31	7,63	497,66	464,04	542,45	460,58	8,32	508,00	492,12
<i>V. lincecumii</i> (B-14)	239,40	24,62	312,03	7,47	675,33	342,53	735,18	340,05	8,14	533,20	468,86
<i>V. rupestris</i> Scheele	194,33	27,99	399,58	7,76	524,25	439,84	572,83	436,43	8,48	397,50	628,93
Agavam	229,00	23,79	255,06	5,84	860,00	273,72	917,25	272,55	6,24	589,75	423,91
Băbeasca	138,20	29,70	416,95	5,76	530,00	444,52	564,55	442,83	6,12	463,00	539,95
Ciorcuța neagră	184,00	26,07	335,76	6,19	647,66	362,15	693,66	360,41	6,63	585,00	427,35
Coarna albă	144,25	25,96	300,97	4,34	754,75	316,85	790,81	316,13	4,56	566,43	441,36
Copciac	147,20	28,44	333,80	4,91	673,00	353,22	709,80	352,21	5,18	449,50	556,17
Damașin galben	235,00	26,15	257,92	6,08	847,00	277,27	905,75	276,01	6,48	443,66	563,49
Moldova	191,40	26,27	294,87	5,64	746,75	315,89	794,60	314,35	6,02	343,00	728,86
Rara neagră	197,00	29,97	343,44	6,76	625,50	372,64	674,75	370,50	7,30	479,75	521,10

Tabelul 4

Caractere biometrice ale epidermei frunzei la vița de vie (*Vitis L.*). Anul 2008

Denumirea speciei sau a soiului viței de vie	Densitatea stomatelor la 1 mm ² de suprafață (arie) foliară	Lungimea stomatelor (în μm)	Suprafața (arie) medie a stomatelor (în μm ²)	Procentajul stomatelor la 0,25 mm ² de s. (arie) foliară	D. celulelor epidermei abaxiale (fără stomate) la 0,25 mm ² s. foliară	S. (aria) medie a cel. epiderm. abaxiale (fără stomate) (în μm ²)	D. cel. ep. abax. (+ stomat.) la 0,25 mm ² de arie foliară	S. (aria) medie a cel. ep. abax. (+ stomatele) (în μm ²)	Indexul stomatic (%)	Densitatea cel. ep. adax. la 0,25 mm ² de s. foliară	S. (aria) medie a cel. epid. adaxiale (în μm ²)
<i>V. californica</i> Benth.	202,00	27,41	322,66	6,52	669,75	348,94	720,25	347,10	7,01	684,00	365,49
<i>V. monticola</i> Buckl.	128,60	31,40	404,13	5,94	541,75	434,05	578,50	432,15	6,36	333,00	750,75
<i>V. palmata</i> Vahl.	120,66	30,29	373,49	4,50	606,58	393,57	636,75	392,62	4,74	438,00	570,77
<i>V. riparia</i> Mich.	176,33	27,81	414,80	7,31	509,92	454,41	554,00	451,26	7,96	432,00	578,70
<i>V. romaneti</i> Rom.	225,35	25,83	341,75	7,70	611,41	377,40	667,75	374,39	8,44	474,80	526,54
<i>V. rupestris</i> Scheele	154,00	28,28	413,44	6,36	525,00	445,87	563,50	443,65	6,83	373,25	669,79
<i>V. silvestris</i> Gmel.	192,40	28,51	385,81	7,42	545,65	424,16	593,75	421,05	8,10	408,00	612,74
<i>V. solonis</i>	155,60	28,07	322,81	5,02	692,85	342,70	731,75	341,64	5,32	438,25	570,45
Aligote	143,20	28,67	369,13	5,28	602,70	392,87	638,50	391,54	5,61	415,25	602,05
Coarna neagră	151,29	28,05	461,44	6,98	462,43	502,88	500,25	499,75	7,56	390,50	640,20
Copciac	160,66	28,17	330,48	5,31	673,33	351,57	713,50	350,38	5,63	456,75	547,34
Feteasca neagră	213,60	28,94	324,38	6,93	656,85	354,23	710,25	351,98	7,52	360,00	694,44
Muscat de Hamburg	149,00	28,47	352,05	5,24	633,50	373,93	670,75	372,72	5,55	279,25	895,25
Pinot fran	179,27	26,29	296,86	5,32	747,78	316,53	792,60	315,42	5,65	507,25	492,85
Rara neagră	159,00	29,83	356,47	5,67	617,25	382,06	657,00	380,51	6,05	422,75	591,36
Risling italian	158,40	26,43	318,82	5,05	700,65	338,79	740,25	337,72	5,35	410,75	608,64
Taifi roz	175,33	26,52	330,81	5,80	665,42	353,91	709,25	352,48	6,18	409,75	610,13
Traminer roz	116,75	26,89	349,00	4,07	655,44	365,95	684,50	365,23	4,26	554,75	450,65
Șasla	142,80	28,42	417,41	5,96	525,30	447,55	561,00	445,63	6,36	302,75	825,76

Tabelul 5

Caractere biometrice ale epidermei frunzei la specii și soiuri de vița de vie (*Vitis* L.). Anul 2009

Denumirea speciei sau a soiului viței de vie	Densitatea stomatelor la 1 mm ² de suprafață (arie) foliară	Lungimea stomatelor (în μm)	Lățimea stomatelor (în μm)	Suprafața (aria) medie a stomatelor (în μm ²)	Procentajul stomatelor la 0,25 mm ² supr. foliară	Numărul celulelor epidermei abaxiale (fără stomate) la 0,25 mm ² de s. foliară	Suprafața, (aria) medie a cel. ep. abax. (fără stomate) (în μm ²)	Densitatea cel. ep. abax. (plus stomat.) la 0,25 mm ² de s. foliară	Suprafața, (aria) medie a cel. epid. abaxiale (plus stomat.) (în μm ²)	Indexul stomatic (IS) (în %)	Densitatea celulelor epidermei adaxiale la 0,25 mm ² de suprafață foliară	Suprafața (aria) medie a celulelor epidermei adaxiale (în μm ²)
<i>Vitis aestivalis</i> Mich.	180,50	26,90	20,17	327,46	5,91	670,00	351,08	715,12	349,59	6,31	436,00	573,39
<i>V. californica</i> Benth.	220,50	27,41	18,75	321,64	7,09	659,33	352,28	714,45	349,92	7,71	700,48	357,14
<i>V. cinerea</i> Arnoldi	190,00	27,85	19,67	292,96	5,56	752,75	313,63	800,25	312,40	5,94	411,75	607,16
<i>V. pagnuccii</i> Rom.	227,25	28,39	17,98	332,94	7,56	631,50	365,93	688,31	363,21	8,25	442,25	565,29
<i>V. riparia</i> Mich.	182,60	27,19	18,37	323,77	5,91	677,00	347,44	722,65	345,95	6,32	598,75	417,54
<i>V. rupestris</i> Scheele	171,66	28,07	18,66	450,11	7,72	464,58	496,54	507,50	492,61	8,46	415,25	602,05
<i>V. silvestris</i> Gmel.	170,25	29,25	18,56	415,87	7,08	511,44	454,21	554,00	451,26	7,69	522,00	478,93
<i>V. solonis</i>	181,40	27,70	20,35	336,15	6,09	648,15	362,19	693,50	360,49	6,53	529,75	471,91
<i>V. wilsonae</i> Veitch.	160,20	26,90	20,17	364,47	5,84	602,20	390,90	642,25	389,25	6,24	468,00	534,19
Busuioacă	183,00	24,34	17,15	409,98	7,50	513,00	450,76	558,75	447,43	8,19	438,75	569,80
Cabasma albă	118,75	27,16	17,95	338,69	4,02	677,00	354,42	706,69	353,76	4,20	453,25	551,57
Coarna albă	132,00	26,64	17,94	308,83	4,07	740,75	323,74	773,75	323,10	4,27	585,00	427,35
Coarna neagră	135,60	28,09	16,45	438,31	5,94	500,25	470,05	534,15	468,03	6,35	390,50	640,20
Copciac	185,00	28,17	17,25	327,73	6,06	667,25	351,95	713,50	350,38	6,49	456,75	547,34
Feteasca neagră	167,66	28,94	17,75	331,20	5,55	668,33	353,29	710,25	351,98	5,90	360,00	694,44
Păsăreasca	178,00	24,25	16,31	346,55	6,17	629,00	372,94	673,50	371,19	6,61	474,80	526,54
Rara neagră	142,25	27,51	16,77	358,18	5,09	624,94	379,66	660,50	378,50	5,39	402,25	621,50

Tabelul 6

Caractere biometrice ale epidermei frunzei la vița de vie (*Vitis* L.). Anul 2010

Denumirea speciei sau a soiului viței de vie	Densitatea stomatelor la 1 mm ² de suprafață (arie) foliară	Lungimea stomatelor (în μm)	Lățimea stomatelor (în μm)	Suprafața (aria) medie a stomatelor (în μm ²)	Procentajul stomatelor la 0,25 mm ² supr. foliară	Nr. cel. epidermei abaxiale (fără stomate) la 0,25 mm ²	S. (aria) medie a cel. ep. abax. (în μm ²)	Densitatea cel. ep. abax. (+ stomatele) la 0,25 mm ²	S. (aria) medie a cel. epid. abax. (+ stomatele) (în μm ²)	Indexul stomatic (în %)	Densitatea cel. ep. adax. la 0,25 mm ² de arie foliară	Suprafața (aria) med. a cel. epid. adaxiale (în μm ²)
<i>Vitis aestivalis</i> Mich.	196,00	30,06	19,91	340,01	6,66	632,80	368,74	681,80	366,67	7,19	540,00	462,96
<i>V. amurensis</i> Rupr.	196,20	29,05	22,78	311,12	6,10	699,45	335,60	748,50	334,00	6,56	446,25	560,22
<i>V. californica</i> Benth.	188,56	30,28	16,95	296,56	5,59	743,86	317,29	791,00	316,05	5,96	699,25	357,52
<i>V. cinerea</i> Engelm.	207,15	29,69	21,14	308,06	6,38	701,21	333,77	753,00	332,01	6,87	434,75	575,04
<i>V. monticola</i> Buckl.	204,33	29,69	18,91	345,67	7,06	614,42	378,15	665,50	375,65	7,68	441,75	565,93
<i>V. romaneti</i> Rom.	239,80	28,29	17,45	328,77	7,88	637,80	361,07	697,75	358,29	8,59	469,50	532,48
<i>V. rupestris</i> Scheele.	235,46	30,30	21,07	261,87	6,19	832,63	281,66	291,75	280,34	6,63	435,60	573,92
<i>V. silvestris</i> Gmel.	182,60	32,15	19,47	362,03	6,61	595,15	392,29	640,80	390,13	7,12	485,25	515,19
<i>V. solonis</i>	156,40	29,10	19,60	358,74	5,61	614,40	384,07	653,50	382,55	5,98	408,75	611,62
<i>V. vulpina</i> L.	232,64	29,50	17,66	284,45	6,62	754,59	309,38	812,75	307,59	7,15	490,00	510,20
Aligote	172,40	28,79	18,31	317,64	5,47	699,15	338,00	742,25	336,82	5,80	395,88	631,50
Coarna albă	101,34	35,18	21,70	392,41	3,97	585,46	410,03	610,80	409,29	4,15	553,80	451,42
Coarna neagră	137,33	30,94	19,28	460,14	6,32	470,92	497,33	505,25	494,80	6,79	513,75	486,62
Copciac	119,16	32,50	18,79	407,26	4,85	551,21	431,54	581,00	430,29	5,13	400,50	624,22
Feteasca albă	192,17	26,58	18,17	240,50	4,62	939,46	253,81	987,50	253,16	4,86	421,25	593,47
Feteasca neagră	149,16	32,65	17,07	396,65	5,91	553,46	424,98	590,75	423,19	6,31	475,00	526,31
Feteaca regală	160,29	25,62	17,28	303,90	4,87	738,93	321,85	779,00	320,92	5,14	519,00	481,69
Galbena de Odobești	180,20	29,92	18,35	289,69	5,22	770,20	307,64	815,25	306,65	5,52	389,00	642,67
Gordin	250,40	30,48	17,96	295,10	7,39	716,40	323,18	779,00	320,93	8,03	451,75	553,46
Grasa de Cotnari	136,40	29,25	17,86	296,12	4,04	774,40	309,79	808,50	309,22	4,22	512,75	487,57
Kiș-miș alb oval	183,80	29,47	16,31	301,95	5,55	732,05	322,55	778,00	321,33	5,91	327,25	763,94
Pinot fran	184,80	27,89	18,21	242,98	4,49	935,05	255,36	979,25	255,30	4,72	492,00	508,13
Rara neagră	101,14	31,63	20,31	326,08	3,29	715,215	338,02	740,50	337,61	3,41	463,00	539,96
Șasla	237,50	27,93	19,79	290,23	6,89	736,125	316,21	795,50	314,26	7,46	449,00	556,79

Analizând datele din Tabelul 7, constatăm că speciile *V. californica*, *V. sylvestris* și soiurile viței de vie locale ale speciei *V. vinifera* L. Coarna neagră, Copciac, Plavae sunt mai adaptate la condițiile concrete de viață, deoarece ele nu și-au schimbat însemnat densitatea stomatelor în anul 2008, care urmează după anul secetos 2007.

Mai adaptabile la noile condiții de viață (Tab.7) sunt speciile *V. monticola*, *V. rupestris*, *V. solonis* și soiurile viței de vie Feteasca neagră și Rara neagră, la care densitatea stomatelor, în anul 2008, an următor după anul secetos 2007, variază destul de mult.

În literatura botanică dimensiunile mai mici ale celulelor laminei frunzei [29] uneori sunt considerate caractere anatomice ale frunzelor xeromorfe.

În anul 2006, lungimea medie a stomatelor epidermei abaxiale a laminei frunzei a fost de: la specia *V. californica* – 25,45 μm; la *V. monticola* – 26,58 μm; la *V. sylvestris* – 24,96 μm; la soiurile viței de vie locale Feteasca albă – 25,03 μm, Feteasca regală – 24,44 μm. La Coarna albă, în anul 2007, lungimea stomatelor a fost de 25,96 μm.

Rezultatele studiilor noastre ne permit să constatăm ca mai rezistente la secetă sunt speciile și soiurile viței de vie cu densitatea stomatelor mai mică (Tab. 1-7) și cu lungimea medie a stomatelor mai mică. Aceste specii și soiuri de viță de vie se încadrează în grupele 1 și 2 de rezistență la secetă a viței de vie [30].

Tabelul 7

Densitatea stomatelor frunzei la unele specii și soiuri de viță de vie în anii 2006-2010

Denumirea speciei sau a soiului viței de vie	Anii de studiu	Densitatea stomatelor la 1 mm ² de suprafață (arie) foliară
<i>V. californica</i> Benth.	2006	163,00
	2007	180,00
	2008	202,00
	2009	220,50
	2010	188,56
<i>V. monticola</i> Buckl.	2006	188,40
	2007	229,40
	2008	128,64
	2009	161,50
	2010	204,33
<i>V. rupestris</i> Scheele.	2006	230,40
	2007	192,60
	2008	156,25
	2009	171,66
	2010	219,40
<i>V. solonis</i> hort. Berd ex Planch.	2006	182,00
	2007	219,00
	2008	155,60
	2009	181,40
	2010	156,40
<i>V. sylvestris</i> Gmel.	2006	210,20
	2007	226,60
	2008	191,00
	2009	170,25
	2010	182,60
Coarna neagră	2006	159,40
	2007	167,80
	2008	143,80
	2009	136,75
	2010	137,33

Copciac	2006	171,60
	2007	143,25
	2008	170,00
	2009	185,54
	2010	119,16
Feteasca neagră	2006	174,00
	2007	147,50
	2008	208,75
	2009	167,66
	2010	149,16
Plavae	2007	180,50
	2008	163,50
	2009	147,33
	2010	134,60
Rara neagră	2006	151,33
	2007	196,60
	2008	143,25
	2009	144,66
	2010	101,14

Suprafața (aria) medie a stomatelor epidermei abaxiale a laminei frunzei, determinată după metoda elaborată de autor, variază, în 5 ani de studiu, de la 230,67 μm^2 , la specia *V.candicans*, până la 461,44 μm^2 , la soiul viței de vie local Coarna neagră. La soiurile viței de vie Feteasca neagră, Copciac, Coarna neagră aria medie a stomatelor variază mai puțin. Ele sunt mai adaptate la condițiile concrete de viață.

Suprafața (aria) medie a celulelor propriu-zise (basale) ale epidermei abaxiale a laminei frunzei, determinată prin metoda autorului, variază, în 5 ani de studiu, de la 246,06 μm^2 , la specia *V.candicans*, până la 502,88 μm^2 , la soiul viței de vie Coarna neagră. Aria medie a celulelor bazale este mai mică la soiurile Feteasca neagră, Copciac, Rara neagră, Coarna albă, care sunt apreciate în literatură ca fiind mai rezistente la secetă.

Din datele tabelor 1-6 constatăm că suprafața (aria) medie a celulelor epidermei abaxiale propriu-zise (basale) a laminei frunzei, împreună cu stomatele, la vița de vie (*Vitis* L.), (a „celulelor virtuale”) doar cu 0,4-4,4 μm^2 e mai mică decât suprafața (aria) medie a celulelor bazale ale epidermei abaxiale. Această legătură ne permite să determinăm exact și să prognozăm (destul de exact!) suprafața (aria) medie a celulelor bazale ale epidermei abaxiale a laminei frunzei la unele specii și soiuri de viță de vie, care ne interesează. Știind numai densitatea stomatelor la 1 mm^2 de suprafață (arie) foliară și indexul stomatic (în %), putem determina, teoretic, valorile biometrice: a densității stomatelor la 0,25 mm^2 ; a densității celulelor bazale ale epidermei abaxiale a laminei frunzei la 0,25 mm^2 de suprafață (arie) foliară; a densității stomatelor și celulelor bazale ale laminei frunzei împreună; a suprafeței (ariei) medii a stomatelor și a celulelor bazale ale epidermei abaxiale a laminei frunzei.

Algoritm

determinării ariei medii a stomatelor și a celulelor propriu-zise (bazale) ale epidermei abaxiale a laminei frunzei la vița de vie (*Vitis* L.)

Exemplul 1. Specia viței de vie *Vitis sylvestris* Gmel. (anul 2007).

$$1. x + y = 250000 \mu\text{m}^2 (0,25 \text{ mm}^2).$$

$$\frac{x}{55,32} + \frac{y}{646,00} = \frac{250000}{701,32} = 356,4707 (\mu\text{m}^2).$$

$$2. 1 : 55,32 = 0,0181;$$

$$1 : 646,00 = 0,0016;$$

$$\left\{ \begin{array}{l} 0,0181 \times 356,4707 = 6,4522 (\mu\text{m}^2). \\ 0,0016 \times 356,4707 = 0,5704 (\mu\text{m}^2) \end{array} \right.$$

$$\left\{ \begin{array}{l} 6,4522 (\mu\text{m}^2) \\ 0,5704 (\mu\text{m}^2) \end{array} \right.$$

$$\text{Suma } 0,0197 \dots \dots \dots 7,0226 (\mu\text{m}^2)$$

Semne convenționale:

x – suprafața (aria) medie totală a stomatelor la 0,25 mm^2 de suprafață foliară;

y – suprafața (aria) medie totală a celulelor propriu-zise (bazale) ale epidermei abaxiale a laminei frunzei la 0,25 mm^2 de suprafață (arie) foliară;

55,32 – densitatea stomatelor la 0,25 mm^2 de suprafață foliară;

646,00 – densitatea celulelor epidermei abaxiale (minus stomatele) la 0,25 mm^2 de suprafață (arie) foliară.

$$3. 0,0197 \dots \dots 7,0226$$

$$1 \dots \dots x$$

$$x = \frac{1 \times 7,0226}{0,0197} = 356,4772 (\mu\text{m}^2).$$

$$4. 7,0226 \mu\text{m}^2 \dots \dots 6,45221 \mu\text{m}^2 \text{ (revin stomatelor)}$$

$$356,4772 \dots \dots x$$

$$x = \frac{356,4772 \times 6,4522}{7,0226} = 327,5229 (\mu\text{m}^2). \text{ (s. (aria) m. a 1 stomate).}$$

$$7,0226 \mu\text{m}^2 \dots \dots 0,5704 \mu\text{m}^2 \text{ (revin cel. ep. abax. pr.-z. (bazale);}$$

$$356,4772 \dots \dots x$$

$$x = \frac{356,4772 \times 0,5704}{7,0226} = 28,9544 (\mu\text{m}^2).$$

$$5. 327,5229 \mu\text{m}^2 + 28,9544 \mu\text{m}^2 = 356,4773 (\mu\text{m}^2) \text{ (s. m. a 1 „celule virtuale” a epiderm. abax. a l. fr.)}$$

$$6. 327,5229 \times 55,32 = 18118,5669 (\mu\text{m}^2) \text{ (s. totală a stom.)}$$

$$7. 250000 \mu\text{m}^2 - 18118,5669 \mu\text{m}^2 = 231881,4331 \mu\text{m}^2 \text{ (s. tot. a cel. ep. abax. (minus stomat.)}$$

$$231881,4331 : 646 = 358,9496 (\mu\text{m}^2).$$

$$8. \text{Suprafața (aria) medie a „celulelor virtuale” ale epidermei abaxiale a laminei frunzei:}$$

$$\bar{x} = \frac{1}{n} (55,32 \text{ stomate} \times 327,5229 \mu\text{m}^2) + (646,00 \text{ celule propriu-zise (bazale)} \times$$

$$\times 358,9496 \mu\text{m}^2) : 701,32 \text{ celule} = 356,4707 (\mu\text{m}^2).$$

Speciile genului *Vitis* L.: *V. monticola*, *V. rupestris*, *V. sylvestris* rezistente la secetă și soiurile locale ale speciei *V. vinifera* L.: Coarna albă, Coarna neagră, Copciac, Feteasca neagră, Feteasca regală, Rara neagră, Pinot fran, considerate mai rezistente la secetă [24], se încadrează în limitele cu suprafața (aria) medie a celulelor epidermei adaxiale: $436,65 \mu\text{m}^2 \dots 577,49 \mu\text{m}^2$ (Tab. 1-6).

Densitatea celulelor epidermei abaxiale (fără stomate), la speciile și soiurile viței de vie rezistente la secetă: *V. monticola*, *V. sylvestris*, Coarna albă, Coarna neagră, Copciac, Feteasca albă, Feteasca neagră, Rara neagră e cuprinsă în limitele $524,47 \text{ celule}/0,25 \text{ mm}^2 \dots 648,51 \text{ celule}/0,25 \text{ mm}^2$.

Speciile și soiurile viței de vie, rezistente la secetă, au densitatea celulelor epidermei abaxiale (plus stomatele) cuprinsă în limitele $565,21 \text{ celule}/0,25 \text{ mm}^2 \dots 695,10 \text{ celule}/0,25 \text{ mm}^2$ (Tab. 1-6).

După mărimea indexului stomatic, cele mai multe specii și soiuri de viță de vie, studiate în anii 2006-2010, se încadrează în limitele cu valorile IS: 4,15%...5,59% și 5,60%...7,05%.

Procentajul suprafeței (ariei) medii a stomatelor din $0,25 \text{ mm}^2$ de suprafață (arie) foliară variază de la 3,29%, la soiul local Coarna albă, până la 8,36%, la specia *V. aestivalis*.

Concluzii

1. Tipul morfologic actinocit al aparatelor (complexelor) stomatice este caracteristic pentru epiderma abaxială a laminei frunzei viței de vie (*Vitis* L.).
2. Densitatea stomatelor epidermei abaxiale a laminei frunzei, la speciile și soiurile viței de vie studiate în anii 2006-2010, este specifică și sortospecifică, dar e influențată de factorii fizici ai mediului ambiant. La speciile genului *Vitis* L. densitatea stomatelor variază de la $120,66 \text{ stomate}/\text{mm}^2$, la *Vitis palmata*, până la $239,80 \text{ stomate}/\text{mm}^2$, la *V. romaneti*. La soiurile viței de vie locale ale speciei *V. vinifera* L. densitatea stomatelor variază de la $101,14 \text{ stomate}/\text{mm}^2$, la Rara neagră, până la $250,40 \text{ stomate}/\text{mm}^2$, la soiul Gordin.
3. Studiarea densității stomatelor viței de vie (*Vitis* L.) este actuală și necesară pentru viticultura Republicii Moldova, deoarece genotipurile viței de vie, care nu-și schimbă semnificativ densitatea stomatelor, în anul următor după anul secetos sunt mai adaptate la condițiile de viață concrete. Iar acele genotipuri de viță de vie care își schimbă însemnat densitatea stomatelor, în anul următor după cel secetos au proprietatea de a se adapta mai bine la noi condiții de viață.
4. Suprafața (aria) medie a stomatelor și a celulelor bazale ale epidermei abaxiale a laminei frunzei, determinată prin metoda elaborată de autor, variază, la speciile și soiurile viței de vie studiate în anii

2006-2010, la stomate: de la 230,67 μm^2 , la specia *V. candicans*, până la 461,44 μm^2 , la soiul local de vița de vie Coarna neagră. Aria medie a celulelor bazale variază de la 246,06 μm^2 , la *V. candicans*, până la 502,88 μm^2 , la Coarna neagră.

5. Este elaborată metoda de determinare a suprafeței (ariei) medii a stomatelor și a celulelor bazale ale epidermei abaxiale a laminei frunzei la vița de vie (*Vitis L.*).

Referințe:

1. ЭЗАУ, К. *Анатомия семенных растений*. Книга 1, 2. Москва: Мир, 1980.
2. КУЛЬТИАСОВ, И.М. *Экология растений*. Москва: Изд-во МГУ, 1982.
3. ЖУЧЕНКО, А.А. *Адаптивный потенциал культурных растений*. Кишинев: Штиинца, 1988.
4. БАРАНОВ, П.А. Строение виноградной лозы. В: *Ампелография СССР*. Том 1. Москва: Пищепромиздат, 1946, с.217-346.
5. НЕГРУЛЬ, А.М. Семейство *Vitaceae* Lindley (*Ampelideae* Kunth.) В: *Ампелография СССР*. Том 1. Москва: Пищепромиздат, 1946, с.45-132.
6. ВАСИЛЕВСКАЯ, В.К. *Формирование листа засухоустойчивых растений*. Ашхабад: Изд-во Туркменской АН ССР, 1954.
7. CONSTANTINESCU, Gh., CIOCÎRLAN, V., ALEXEI, O. Sistematica familiei *Vitaceae*. În: *Ampelografia RSR*. Vol. 1. București: Editura Academiei RSR, 1970, p.219-295.
8. CHIRILEI, H., GEORGESCU, M., DOROBANȚU, N. Fiziologia viței de vie. În: *Ampelografia RSR*. Vol. 1. București: Editura Academiei RSR, 1970, p.297-353.
9. WINKLER, A.J., COOK, J.A., KLIWER, W.M. and LIDER, L.A. *General Viticulture* (2nd ed.). University of California Press., 1974.
10. DÜRING, H. Stomata frequenz bei Blättern von *Vitis*. – Arten und Sorten. In: *Vitis*, 1980, Bd. 19, Heft 2, p.91-98.
11. DÜRING, H., SCIENZA, A. Drought resistance of some *Vitis* species and cultivars. In: *Proc. 3rd Int. Symp. Grapevine Breeding, Dept. Vitic. Enol. Univ. California*, 1980, p.179-190.
12. КОНДО, И.Н., СТОЕВ, К.Д., ПУДРИКОВА, Л.П. Водный режим. В: *Физиология винограда и основы его возделывания*. Том 1. София: Изд-во Болгарской Академии Наук, 1981, с.186-246.
13. BURZO, I., TOMA, S., OLTEANU, I., DEJEU, L., DELIAN, E., HORA, D. *Fiziologia plantelor de cultură*. Vol. 3. *Fiziologia pomilor fructiferi și a viței de vie*. Chișinău: Știința, 1999.
14. JACKSON, R.S. *Wine science. Principles and Applications*. 3rd Edition. New York: Academic Press, 2008.
15. NEGRU, P. *Fiabilitatea ecosistemului viticol în condiții ecologice la regim de gradient*. Chișinău, 2015.
16. CODREANU, V. Anatomia comparată a viței de vie (*Vitis L.*). Chișinău: Combinatul Poligrafic, 2006.
17. CODREANU, V. Anatomia epidermei frunzei la unele specii de viță de vie (*Vitis L.*). În: *Studia Universitatis. Revistă științifică a USM. Seria „Științe ale naturii”*. Chișinău, 2007, p.106-113.
18. CODREANU, V., SAVIN, Gh., CORNEA, V., GRIGORAȘ, V. Anatomia epidermei frunzei la unele soiuri de viță de vie *Vitis vinifera L.* În: *Studia Universitatis. Revistă științifică a USM. Seria „Științe ale naturii”*. Chișinău, 2008, nr.7(17), p.60-69.
19. CODREANU, V. Anatomia comparată a laminei frunzei la specii și soiuri de viță de vie. În: *Realizări inovative în domeniul vitivinicol: Lucrări științifice. Ediție specială. Materilalele Conferinței internaționale consacrate comemorării m.-c. al AȘM Petru Ungureanu (1894-1975)*. Chișinău, 18-19 septembrie 2008, p.51-53.
20. CODREANU, V. Anatomia cantitativă a laminei frunzei viței de vie. În: *Structura și funcționalitatea sistemelor biologice – diversitate și universalitate*. In memoriam acad. Boris Matienko. Mater. conf. știin. 17 noiembrie 2011, Chișinău, p.29-32.
21. КОДРЯНУ, В. Количественная анатомия листовой пластинки винограда (*Vitis L.*). В: *Modern Phytomorphology 4: 199-207. 2013. 2nd International Scientific Conference on plant Morphology* (14-16 May), 2013, Lviv, Ukraine.
22. METCALFE, C.R., CHALK, C.R. *Ampelidaceae (Vitaceae)*. In: *Anatomy of the dicotyledons*. Vol.1. Oxford, 1950.
23. BARANOVA, M. Principles of comparative stomatographic studies of flowering plants. In: *Bot. Rev.*, vol.58, no1, 1992, p.49-99.
24. CODREANU, V. Determination of drought resistance of grapevine on the base of morphobiological characters of leaf blade. In: *Journal of Botany*, vol.VI, 2014, no.1(8), p.14-22.
25. ЗУБКОВА, И.Г. Сравнительное морфолого-анатомическое изучение черешка и эпидермы листа у представителей сем. *Vitaceae* Juss. В: *Вопросы сравнительной морфологии семенных растений*. Ленинград: Наука, 1975, с.25-49.
26. SMART, R.E., COOMBE, D.G. Water relations of grapevines. In: Kozlowski T.T. (ed.). *Water Deficits and plant growth*. Vol. VII. Additional Woody Crop Plants. New York, London: Academic Press. A subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich Publishers, 1983.

27. DÜRING, H. Stomata frequenz bei Blättern von *Vitis*. – Arten und Sorten. In: *Vitis*, 1980, Bd. 19, Heft 2, p.91-98.
28. DÜRING, H., SCIENZA, A. Drought resistance of some *Vitis* species and cultivars. In: *Proc. 3rd Int. Symp. Grapevine Breeding*, Dept. Vitic. Enol. Univ. California, 1980, p.179-190.
29. ЭЗАУ, К. *Анатомия семенных растений*. Книга 1, 2. Москва: Мир, 1980.
30. CODREANU, V. Determination of drought resistance of grapevine on the base of morphobiological characters of leaf blade. In: *Journal of Botany*, vol.VI, 2014, no.1(8), p.14-22.

Prezentat la 26.01.2016

**PERSPECTIVELE DEZVOLTĂRII DURABILE A ECOTURISMULUI ÎN
REZERVAȚIA PEISAJERĂ „RUDI-ARIONEȘTI”,
REPUBLICA MOLDOVA**

Tatiana DUDNICENCO

Universitatea de Stat din Moldova

În rezultatul studiilor realizate a fost elaborat un itinerar ecoturistic al rezervației peisajere „Rudi-Arionești”, care este reprezentativ și accesibil ecoturistilor, și anume: mănăstirea „Rudi”, cetățuia romană „La trei cruci”, așezarea medievală „Farfuria turcului”, peștera „Răposaiilor”, cetățuia de origine tracică „La șanțuri”, „Valea Bradului”, „Izvorul Verde”. Au fost descrise principalele puncte de vizitare din cadrul itinerarului selectat. Au fost abordate problemele ecologice ale rezervației peisajere „Rudi-Arionești” ce reprezintă una dintre destinațiile de bază ale traseelor ecoturistice din raioanele Dondușeni și Soroca, precum și propuse soluții de rezolvare a lor.

Cuvinte-cheie: turism, ecoturism, rezervație peisajeră, mănăstire, izvor, cetățuie.

**THE PERSPECTIVES OF TOURISM SUSTAINABLE DEVELOPMENT IN THE „RUDI-ARIONESTI”
LANDSCAPE RESERVE, REPUBLIC OF MOLDOVA**

In the results of these studies have been elaborated the ecotourism itinerary of „Rudi-Arionesti” landscape reserve, which are representative and accessible for ecotourists: „Rudi” monastery, „La trei cruci” Roman fortress, „Farfuria turcului” medieval settlement, „Raposaiilor” cave, „La santuri” Thracian origin fortress, „Valea Bradului”, „Izvorul Verde”.

It have been described the main points for visitation within the selected route. It have been emphasized the ecological problems of „Rudi-Arionesti” landscape reservation which represents one of the basic destinations of ecotourism routes from Donduseni and Soroca districts and have been proposed solutions of its solving.

Keywords: tourism, ecotourism, protected area, landscape reserve, monastery, fortress.

Introducere

Ca noțiune, ecoturismul ecologic este una dintre cele intrate recent în vocabularul nostru și care reprezintă de fapt cea mai valoroasă formă de manifestare a turismului durabil. Pentru ecoturism mai des este preferată formula „turism care nu dăunează naturii”. Ecoturismul încorporează întotdeauna activități diverse în mijlocul naturii (drumeții, escaladarea formațiunilor calcarogene, ascensiunea complexelor rupestre, observarea viețuitoarelor în habitatul lor natural etc.), dar poate include și activități culturale.

De obicei, este considerat ca fiind un produs derivat al dezvoltării durabile, datorită faptului că zonele ecologice fragile și ariile naturale pot fi protejate cu ajutorul banilor obținuți în urma desfășurării activităților de ecoturism. Ecoturismul este o formă de turism în care principalul obiectiv este observarea și conștientizarea valorii naturii și a tradițiilor locale și care trebuie să îndeplinească următoarele condiții: să contribuie la conservarea și protecția naturii; să utilizeze resursele umane locale; să aibă caracter educativ – respect pentru natură conștientizat de către turiști și de către comunitățile locale; să aibă impact negativ nesemnificativ asupra mediului natural și sociocultural [1, p.30].

Strategia de realizare a unui ecoturism durabil presupune: respect și grijă față de modul de viață al comunităților umane; creșterea nivelului de viață al habitatelor umane; conservarea ecosistemelor naturale, a biodiversității acestora; reducerea exploatării resurselor epuizabile și păstrarea capacității de susținere a Terrei; schimbarea atitudinii individuale în favoarea dezvoltării durabile; posibilitățile comunităților de a-și păstra propriul mediu ambiant, paralel cu realizarea cadrului național pentru dezvoltare și conservare integrate [2, p.19].

Astfel, ecoturismul are drept scop promovarea conservării prin intermediul unui regim de management durabil în cadrul unei politici de „protejare prin folosire”, având ca obiectiv crearea unei industrii a turismului „verde” și creșterea gradului de conștientizare din punct de vedere ecologic și sociocultural, precum și comportamentul turiștilor [3, p.68].

Dacă ecoturismul nu e planificat și controlat cu grijă, el poate da naștere unor tulburări foarte serioase în ce privește conservarea mediului [2, p.18].

În urma studiilor efectuate am alcătuit un model ecoturistic-recreativ al unei regiuni din raioanele Dondușeni și Soroca care se recomandă a fi inclus în ofertele ecoturistice atractive ale Republicii Moldova. La alcătuirea modelului ecoturistic-recreativ al regiunii propuse s-a luat în considerare diferențierea teritorială a resurselor atractive și a activității recreative. Inventarierea și analiza resurselor a reprezentat una dintre etapele primordiale în procesul de planificare a produsului. Resursele naturale și culturale sunt atracțiile produsului ecoturistic. Astfel, au fost realizate un inventar complet și o analiză a resurselor. Un accent deosebit s-a pus pe caracteristicile unice și pe zonele de importanță națională. Toate resursele au fost inventariate pentru atractivitatea lor, capacitatea de a atrage vizitatorii, accesibilitate, integritate și contribuție la protecția mediului și a culturii.

Material și metode

În calitate de obiect pentru studiu au servit resursele naturale și culturale de pe teritoriul ariei protejate de stat „Rudi-Arionești”.

În vederea realizării lucrării au fost utilizate următoarele metode: măsurarea, descrierea, analiza și sinteza, compararea, inducția și deducția, fotografică, geografică-cartografică, excursii, analiza bibliografiei cu conținut turistico-recreativ de caracter general și cu referință la Republica Moldova.

Un deosebit interes s-a acordat aprecierii indicatorilor de determinare a resurselor turistice care au dat posibilitatea de a cunoaște întregul potențial turistic al regiunii luate în studiu [4,5].

Studiul floristic-faunistic a fost efectuat sezonier cu descrierea stării biocenotice a ecosistemelor studiate și colectarea mostrelor de plante superioare, pentru determinare [5]. Apartenența sistematică a speciilor de plante a fost stabilită după T.Gheideman [6]. Gradul de raritate și periclitare a speciilor de floră și faună a fost stabilit conform Cărții Roșii a Republicii Moldova [7].

Rezultate și discuții

Itinerariul turistic al rezervației peisajere „Rudi-Arionești” va include următoarele obiective-țintă ale vizitării: mănăstirea „Rudi”, cetățuia „La trei cruci”, așezarea medievală „Farfuria turcului”, peștera „Răpoșailor”, cetățuia „La șanțuri”, „Valea Bradului” și „Izvorul Verde”.

Inițial se va face o descriere generală a rezervației peisajere „Rudi-Arionești”, după care se va purcede la vizitarea fiecărui obiectiv în parte. Informația succintă ce va fi prezentată ecoturistilor este descrisă după cum urmează mai jos în această lucrare.

Date generale referitoare la rezervația peisajeră „Rudi-Arionești”

Rezervația peisajeră „Rudi-Arionești” este situată la o distanță de 15-20 km de orașul Otaci, între comunele Unguri și Tătărauca-Nouă (raionul Dondușeni). Această arie protejată de stat are o suprafață de 916 ha. Ea include trei defileuri împădurite: Rudi (r. Soroca), Arionești și Tătărauca-Nouă (r. Dondușeni). Lungimea lor atinge 2-5 km, adâncimea – 250 m, lățimea maximă – 500 m.

Rezervația peisajeră „Rudi-Arionești” reprezintă ponoare adânci în care s-au dezgolit depunerile pleozoi-cului, mezozoi-cului și ale cainozoi-cului. Sunt izvoare și cascade. Pădurea este bogată în diferite componente floristice și faunistice. Protecția speciilor luate sub ocrotirea statului este legată de menținerea și limitarea activităților de gestionare a sectoarelor de pădure și a celor aridizate de stâncării ce conțin elemente de vegetație petrofilă de stepă. Astfel, „Rudi-Arionești” este un peisaj geografic de un farmec deosebit din valea Nistrului de Mijloc.

Fauna. În rezervație se întâlnesc așa mamifere, ca: căprioara (*Capreolus capreolus*), pârșul de pădure (*Dyromus nitedula*), bursucul (*Meles meles*), nevăstuica (*Mustela nivalis*), jderul de pădure (*Martes foina*), ariciul comun (*Erinaceus europaeus*) etc.; din păsări – merla (*Turdus merula*), hoitarul (*Neophron percnopterus*) etc.

În prezent, dintre cele 7 specii de reptile întâlnite în rezervația peisajeră „Rudi-Arionești” mai răspândite sunt șarpele de casă (*Natrix natrix*) și șarpele de apă (*Natrix tessellata*). Alte 5 specii sunt considerate rare și incluse în Cartea Roșie a Republicii Moldova, dintre care 2 (șarpele lui Esculap (*Elaphe longissima*) și șarpele de alun (*Coronella austriaca*)), pot fi considerate absolut rare pe întreg arealul lor. Ele sunt incluse în Cartea Roșie Internațională și protejate de către stat aproape în toate țările. Toate aceste specii există în formă de populații mici, izolate.

Diversitatea specifică a vertebratelor terestre în rezervația peisajeră „Rudi-Arionești” este următoarea: 38 specii de mamifere, 140 specii de păsări, 7 specii de reptile, 7 specii de amfibieni (în total 192 specii). Numărul speciilor de vertebrate terestre incluse în Cartea Roșie a Moldovei care populează rezervația peisajeră

„Rudi-Arionești”: 3 specii de mamifere, 14 specii de păsări, 3 specii de reptile, o specie de amfibieni (în total 21 de specii). Mamiferele, reptilele și amfibienii sunt prezentate prin specii sedentare, care se reproduc, iar numărul speciilor de păsări include și păsările migratoare. Numărul celor care cuibăresc este de 6-7 specii.

Vegetația. În vegetația landsaftului predomină pădurile. În văgăuni edificatorul comunităților de plante este stejarul-pedunculat (*Quercus robur*). În văgăunile umede cresc: carpenul (*Carpinus betulus*), teiul (*Tilia cordata*), frasinul (*Fraxinus excelsior*), paltinul (*Acer pseudoplatanus*). În al doilea strat al arboretului se întâlnesc jugastrul (*Acer campestre*), mărul-pădureț (*Malus sylvestris*), sorbul (*Sorbus torminalis*), iar în cel arbustiv – alunul (*Corylus avellana*), cornul (*Cornus mas*), sângerul (*Sunda sanguinea*), dârmozul (*Viburnum lantana*).

În locurile umbrite cresc: piciorul-căprii (*Aegopodium podagraria*), pochivnicul (*Asarum europaeum*), firuța (*Poa nemoralis*). Pe locurile stâncoase cresc arbuștii: dracila (*Beroens vulgaris*), bârcoacea (*Cotoneaster melanocarpus*), caprifoiul (*Lonicera xylostuum*) – plante rare care se întâlnesc în astfel de biotopuri. Pe pietrele din pădurile umbroase, mai ales prin crăpături, cresc: acul-pământului sau strașnicul (*Asplenium trichomanes*), spinarea-lupului sau ruginița (*Asplenium ruta-muraria*), năvalnicul sau limba-cerbului (*Phyllitis scolopendrium*), iarba-dulce sau feriguța (*Polypodium vulgare*), feriguța-de-stâncă (*Cystopteris fragilis*).

Landsaftul include pajști de stepă petrofită, unde domină bărboasa (*Bothriochloa ischaemum*) și păiușul (*Festuca valesiaca*), în unele cazuri pirul-crestat (*Agropyron pectinatum*). Se întâlnesc fabaceele: ghizdeiul (*Lotus corniculatus*), trifoiul (*Trifolium medium*, *T. alpestre*), lucerna (*Medicago romanica*), coroniștea (*Coronilla varia*). Pe locurile mai însorite cresc: imortela (*Helichrysum arenarium*), pesma (*Centaurea orientalis*), salvia (*Salvia nemorosa*).

Mănăstirea „Rudi”. În mijlocul canionului „Rudi”, pe malul stâng al râului Bulboaca, mergând pe un drum de pădure, se înalță mănăstirea „Rudi”.

Primul schit a fost înălțat în 1777. Aproximativ în același timp a fost construită și biserica de vară – biserica Sfintei Treimi. Apariția bisericii și mănăstirii „Rudi” este legată de legenda existenței în localitate a unui izvor, cu apă „făcătoare de minuni”. Lăcașul cu cupola și cu planul în formă de trifoi prezintă tradiția vechii arhitecturi moldovenești din sec. XVI de tip treflat. Biserica mănăstirii „Rudi” a fost declarată în anul 1921 monument istoric de către Comisia monumentelor istorice din Basarabia. În jurul bisericii sunt amplasate casa starețului, trapeza, chiliile și depozitele. În afara ansamblului mănăstiresc se află doar livada și prisaca.

Închisă la 1846 prin decizia autorităților eparhiale, mănăstirea este reînființată în 1921. În această perioadă se construiesc 8 chilii pentru frați, o bucătărie, depozite, un bloc de piatră cu trei balcoane, toate acoperite cu șindrilă; între 1930 și 1935 aici a fost ridicată o școală de teologie, care în 1940 a fost transferată la Bălți. Mănăstirea a servit pe drept școală de dascăli, școală de pădurari, școală de tip sanatorial pentru copii. Închisă din nou în 1940 de sovietici, este iarăși redeschisă de călugări în 1992. Din 1999 devine mănăstire de călugărițe [8]. Pe teritoriul mănăstirii se află rămășițele unei stânci de toltre. Nu departe de mănăstire se află o cascadă pitorească. Dă o priveliște uimitoare pădurii de lângă mănăstire și un pârâu.

„La trei cruci” reprezintă locul unei vechi cetăți. Este amplasat în partea de nord-est de satul Rudi, pe malul drept al Nistrului. Numele provine de la trei cruci (troițe), aflate cândva pe acest loc. Promontoriul alungit, cu pante abrupte și greu de urcat, s-a format în locul contopirii unei râpi mari cu valea Nistrului. Actualmente, suprafața acestui deal este împădurită. Locuitorii din vechime au ales acest promontoriu pentru ridicarea unei cetăți din anumite considerente. Malurile abrupte îl făceau inaccesibil din două părți. Pentru crearea cetății s-a închis accesul la promontoriu dinspre câmpie prin construirea a trei linii de fortificații. Prima, sau linia exterioară de fortificații, alcătuită dintr-un șanț și un val înalt de pământ, era situată la vreo 200 m de marginea promontoriului. Această linie, în formă de arc, este orientată cu partea prominentă spre câmpie. Cea de a doua linie e analogică cu prima și se află la o distanță de 60 m de aceasta. Linia a treia a fost ridicată la distanța de 30 m de cea de a doua și constă din urmele unui val de pământ cu o înălțime de circa 1 m. Valurile și șanțurile liniilor de fortificații s-au păstrat destul de bine până în zilele noastre. Șanțurile atingeau adâncimea de 2 m, iar valurile – până la 3 m înălțime. S-a constatat că cetățuia a fost fondată cu 2300-2400 de ani în urmă. Actualmente, pe ruinele fostei cetăți romane vechi e pus un indicator și se înalță 3 cruci de lemn.

„Farfuria turcului”. La nord-est de satul Rudi se află urmele unei așezări fortificate medievale, având forma unei farfurii, de unde și provine denumirea ei – „Farfuria turcului” sau „Farfuria turcească”. Această așezare este amplasată în lunca Nistrului unde un defileu adânc se unește lateral cu valea fluviului.

Cetățuia a fost ridicată pe o limbă de pământ, la marginea unui promontoriu. Curtea ei interioară cu diametrul de circa 50 m era înconjurată de un val înalt de pământ și de un șanț adânc. Cetățuia are o formă ovală cu suprafața de 60 x 70 m. În partea de nord a cetățuiei înălțimea valului este de aproximativ 6 m, în partea de sud – de 4 m. Șanțul inelar al cetățuiei, ce împrejmuiește valul din exterior, în mare măsură s-a acoperit cu un strat dens de pământ, însă și acum adâncimea lui atinge 2 m, iar lățimea – 12-14 m. În partea de sud, care e mai înaltă, terasa a fost în mod artificial adusă la nivelul orizontal. Cealaltă parte a curții interioare se înclină brusc de la sud spre nord. În partea de nord-est a cetățuiei se observă o adâncitură, fiind locul de aflare de altădată a bazinului de acumulare a apei.

Cetățuia prezintă centrul fortificat al unei așezări de mari dimensiuni, suprafața ei atingând peste 5 ha. Pe teritoriul ei pot fi găsite diverse obiecte: pietre arse, cioburi de ceramică, oase de animale, cărbune ars etc. Săpăturile arheologice efectuate în cetățuie și în împrejurimi au făcut posibilă depistarea unui material, care demonstrează că ea a fost întemeiată pe la mijlocul sec. X e.n. de către niște coloniști ruși, funcționând în decursul sec. X-XI, iar după alte mărturii – până în sec. XII și începutul sec. XIII.

Peștera „Răpoșailor”

Peștera „Răpoșailor” (peștera de la Rudi) se află sub cimitirul satului Rudi, la 100° sud-est de biserica comunei Rudi și la 225° sud-vest de casa opusă din spatele cimitirului, pe malul drept al unei râpi. Este o peșteră orizontală, formată în calcar sarmațian sedimentar dur, la o adâncime de 12,8 m de la suprafață.

Fauna este reprezentată prin organisme nevertebrate, întâlnite mai des la intrarea în peșteră: acarieni, păianjeni etc. Din mamifere sunt prezente chiroptere, ca: noptarul-de-iaz (*Myotis dasycheme*), rinofildul mic (*Rhinolophus hipposideros*), rinofildul mare (*Rh. ferrumequinum*).

Intrarea în peșteră se prezintă ca crăpătură sub formă de unghi, având o lățime de 1 m. Imediat de la intrare se află „Sala de primire” de o formă dreptunghiulară (5,6 x 2,8 m) și cu înălțimea de 2,70 m. În colțul stâng al acestei săli se observă un coridor cu lățimea de 0,70-0,80 m și înălțimea de 3-4 m, care se lungește pe o distanță de 8,20 m și prin care nimerim în sala a doua ce are o podea cu lățimea de 7 m. Sala se îngustează treptat pe verticală, având înălțimea de 8,50 m și lungimea de 15 m. Aceste săli au o arhitectură ciudată: de la podea au o formă de semicerc, care, pe parcursul de deplasare, se lărgeste, spațiul devenind tot mai mare. De la 2-3 m în sus ele au practic o lățime constantă pe toată distanța. A treia sală este cea mai mică după lungime – 5 m, având lățimea de 7 m. De aici urmează sala a patra care are cele mai mari dimensiuni: lățimea de 5 m și lungimea de 13 m. Deplasându-ne prin aceasta sală nimerim într-un coridor-sală (sala a cincea), cu o lungime de 13 m și lățimea de 3 m. Sala a șasea este numită „Sala Crocodilului” datorită prezenței unei pietre alungite asemănătoare cu un crocodil. De aici peștera se îngustează brusc în toate dimensiunile, cu o cămăruță de unde începe un coridor, care trebuie parcurs în poziție culcată. Fortându-l, se ajunge până într-un punct, unde numai capul mai încape. De aici, la lumina lanternei, se poate vedea că după câțiva metri se lărgeste din nou.

Potrivit afirmațiilor unor săteni, peștera, lungă de peste 1 km, avea în trecut galerii enorme. În urma cutremurului din 1977, configurația acestei peșteri a fost modificată.

„La șanțuri” reprezintă urmele unei cetăți vechi, aflate la 4 km de satul Rudi. Cetățuia are patru rânduri de valuri de pământ și șanțuri, care s-au păstrat până astăzi și au 5 m în înălțime și până la 2 m adâncime. Valul exterior de apărare era ridicat din piatră de calcar, iar celelalte – din pământ. Lângă porțile cetății, în exterior, erau construite bastioane cu valuri de pământ. Ruinele cetății sunt destul de impunătoare prin forța sistemului de fortificații. Arheologii au determinat că pe acest loc au existat succesiv trei așezări. Primii locuitori ai cetății au fost tracii, care s-au situat aici prin sec. VII - VI î. Hr., adică cu 2600 de ani în urmă. După o întrerupere de 100 de ani, în sec. IV - III î. Hr. aici au apărut triburile getice. Între sec. II î. Hr. și sec. I d. Hr. pe locul acesta a mai existat o așezare getică. Cu părere de rău, cercetătorii n-au reușit să stabilească data fondării cetății – între sec. VII și VI î. Hr. sau mai târziu.

Atracție turistică reprezintă **„Valea Bradului”** situată nu departe de satul Arionești, pe malul Nistrului (înspre direcția s. Unguri). În „Valea Bradului” sunt două izvoare – izvorul mare și izvorul mic.

Pe acest loc arheologii au descoperit o așezare omenească străveche – de 40-42 mii de ani. Această concluzie a fost trasă în baza analizei obiectelor din piatră, care au fost datate mai apoi cu perioada paleoliticului târziu. Pe locul localității de astăzi arheologii au descoperit existența a 8 sate învecinate, care au fost părăsite. Trei dintre ele se referă la secolele IV-II î.e.n. Altul este datat cu secolul II î.e.n., iar cele două rămase țin deja de secolele II-IV e.n. Pe locul unde se aflau așezările străvechi sunt și rămășițe ale traiului omenesc, obiecte tipice ale acestui meleg pentru perioadele istorice indicate mai sus.

În defileul Rudi-Arionești există numeroase izvoare, iar pe coasta malului drept al fluviului Nistru se află un izvor, numit „Izvorușul Verde”.

„Izvorul verde” numit mai des „Izvorușul verde” are mai multe legende dedicate tematicii vindecării diverselor boli. Una dintre ele este următoarea: „... Demult, un drumeț cu o mare credință în Dumnezeu, fiind orb și stând la umbra unui pom bătrân, pentru a-și mai trage sufletul, a auzit un murmur cu un sunet cristalin de apă. Atunci, călugărul ce-l însoțea pe orb se sculă și se îndreptă în direcția de unde orbul auziseră murmurul de apă. La câțiva pași, văzu o poieniță verde cu un izvor de apă cristalină și curată. Ajutându-l pe sărmanul om să se apropie de izvor, îi dădu posibilitatea de a bea și a-și uda fața cu apă rece. După un timp ochii orbului s-au deschis. – Văd! Doamne, eu pot să văd! Călugărul văzură cum în fața sa s-a vindecat un orb credincios de la apa unui izvoruș”. Izvorul oferă condiții de asigurare a turiștilor și a populației locale cu apă potabilă de calitate. Amenajarea izvorului prezintă un deosebit interes ecologic, istoric și cultural, reprezentând o adevărată operă monumentală, de utilizare colectivă. În acest punct finalizează itinerarul ecoturistic propus de noi, ecoturiiții având posibilitatea aici să admire fluviul Nistru și păsările de pe el.

Astfel, rezervația peisajeră „Rudi-Arionești” reprezintă un loc al pelerinajului religios, are un potențial turistic înalt: efectuarea observărilor asupra landșaftului, asupra speciilor rare de plante și animale, dar mai ales – pentru efectuarea observărilor asupra păsărilor de pe fluviu, organizarea excursiilor pentru a face observări asupra chiropterelor în peștera „Răpoșaiilor”, vizitarea monumentelor arheologice.

De menționat că această arie protejată de stat se confruntă și cu un șir de probleme ce trebuie soluționate pentru a asigura practicarea unui ecoturism durabil. Astfel, problemele de mediu cu care se confruntă rezervația peisajeră luată în studiu sunt: educația ecologică insuficientă a populației, a turiștilor și vizitatorilor; fluxul necontrolat de turiști și vizitatori, care prin circulație și zgomot perturbă viața florei și faunei; lipsa gunoiștilor amenajate; colectarea plantelor rare, medicinale și decorative; distrugerea florei prin strivire; lipsa indicatoarelor, bornelor de hotar, panourilor de avertisment; lipsa ghizilor pentru turiști și vizitatori; pășunatul ilegal etc. În acest context este necesară implementarea paradigmei „Moștenire naturală bogată pentru generațiile viitoare”, a principiilor managementului ariilor protejate și ale managementului vizitatorilor și turiștilor.

În vederea orientării ecoturismului în aria protejată de stat „Rudi-Arionești” către o direcție durabilă, trebuie dezvoltate mecanisme de finanțare și programe de conservare a biodiversității, revizuirea instrumentelor legislative care au ca temă acest domeniu, conștientizarea în rândul factorilor implicați, educarea la nivel local cu scopul orientării către principiile unei gândiri durabile, consolidarea capacității instituționale în vederea implementării legislației de mediu. Ecoturismul trebuie să promoveze principiile dezvoltării durabile, care să permită localnicilor și furnizorilor de servicii de ecoturism să mențină standarde ridicate de viață. Colaborarea dintre autorități (care dispun de instrumente legislative, economice, sociale), agenți economici (care inițiază proiecte de amenajare și servicii turistice), cei ce pledează pentru protecția mediului și păstrarea moștenirii culturale, prestatori locali de servicii turistice, turoperatori și agenții de turism și, nu în ultimul rând, turiști, ca beneficiari, este absolut necesară pentru dezvoltarea durabilă a turismului în zona ecoturistică „Rudi-Arionești”.

Concluzii

1. Industria turistică din Republica Moldova nu valorifică resursele ecoturistice la adevărata lor valoare.
2. Actualmente, turiștii vizitează zona ecoturistică „Rudi-Arionești” în mod neregulat, de sine stătător și neînsoțiți de ghizi, nerespectând direcțiile itinerariilor. Introducerea practicării ecoturismului dirijat va facilita dezvoltarea turismului durabil și va evita influența negativă asupra componentelor naturale ale rezervației peisajere.
3. Zona turistică cercetată corespunde indicatorilor resurselor turistice și este favorabilă pentru practicarea turismului ecologic.

Referințe:

1. NICULA, V. *Ecoturism și conservarea mediului. Curs pentru anul I master*. Sibiu: Universitatea „Lucian Blaga”, 2008. 104 p.
2. BARBU, R. Ecoturismul și perspectiva dezvoltării durabile. În: *Analele Universității Europene „Drăgan” din Lugoj. Seria Economică*. Lugoj: Nagard, 2009, nr.12, p.17-22. ISBN: 978-973-1900-63-6
3. PFORR, C. The concepts of sustainable development, sustainable tourism and ecotourism: definitions, principles and linkages. In: *Scandinavian Journal of Hospitality and Tourism*, 2001, no.1, p.68-71.

4. BRAN, F., SIMON, T., NISTOREANU, P. *Ecoturism*. București: Editura Economică, 2000. 175 p.
5. IVAN, D., DONIȚĂ, N. *Metode practice pentru studiul ecologic și geografic al vegetației*. București: Tipografia Universității din București, 1975. 250 p.
6. ГЕЙДЕМАН, Т. *Определитель высших растений Молдавской ССР*. Кишинев: Штиинца, 1986. 637 с.
УДК 5823\9
7. *Cartea Roșie a Republicii Moldova. Ediția a doua*. Chișinău: Știința, 2001. 288 p. ISBN 9975-67-311-2
8. ILVIȚCHI, L. *Mănăstirile și schiturile din Basarabia: Aspect comparativ arhitectural*. Chișinău: Museum, 1999. 148 p. ISBN 9975-905-25-0

Prezentat la 11.01.2016

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РОСТА И ДРЕВЕСНОЙ
ПРОДУКТИВНОСТИ ОРЕХА ЧЕРНОГО, ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО
И ОРЕХА ГРЕЦКОГО В ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ
БАССЕЙНА НИЖНЕГО ДНЕСТРА**

Наталья КИЧУК

Институт экологии и географии Академии наук Молдовы

В статье рассматриваются особенности роста и древесная продуктивность ореха черного, дуба черешчатого и ореха грецкого в лесных фитоценозах бассейна Нижнего Днестра. Проведенные исследования показали, что деревья ореха черного по высоте и диаметру превосходят деревья дуба черешчатого и ореха грецкого. С увеличением возраста, деревья ореха черного, произрастающие в лесных фитоценозах бассейна Нижнего Днестра, становятся более устойчивыми к воздействию негативных внешних факторов окружающей среды.

Ключевые слова: орех черный, дуб черешчатый, орех грецкий, древесная продуктивность.

**A COMPARATIVE DESCRIPTION OF THE GROWTH AND PRODUCTIVITY OF WOODY PLANTS
OF BLACK, OAK AND WALNUT, WHICH GROW IN FOREST COMMUNITIES OF THE LOWER
DNIESTER RIVER**

The article discusses the features of the growth and productivity of woody plants of black walnut, oak and walnut, which grow in forest communities of the Lower Dniester River. Conducted research proved that black walnut plants superior oak and walnut, not only in height and diameter, but also for wood production. With increasing age, the plants of black walnut growing in the research area become more resilient to the environmental effects.

Keywords: black walnut, oak, walnut, forest phytocenoses, tree production.

**CHARACTERISTICA COMPARATIVĂ A CREȘTERII ȘI PRODUCTIVITĂȚII PLANTELOR
LEMNOASE DE NUC NEGRU, STEJAR PEDUNCULAT ȘI NUC ÎN PĂDURE FITOCENOZELE
BAZINUL NISTRULUI DE JOS**

În articol sunt examinate particularitățile de creștere și dezvoltare a masei lemnoase a plantelor de nuc negru comparativ cu cele ale stejarului pedunculat și nucului obișnuit din pădurile bazinului Nistrului de Jos. Cercetările efectuate au demonstrat că plantele de nuc negru depășesc în creștere plantele de stejar pedunculat și de nuc nu doar prin parametrii înălțime și diametru, dar și prin volumul de masă lemnoasă. Cu înaintarea în vârstă, plantele de nuc negru, care cresc în limitele zonei de cercetare, devin mai rezistente la influența negativă a factorilor de mediu.

Cuvinte-cheie: nuc negru, stejar pedunculat, nuc comun, productivitate lemnoasă.

Введение

Интродукция древесных растений, уходя корнями в глубокую древность, не утратила своего значения, а наоборот, в качестве практической деятельности и научных исследований приобрела новые направления. Главная задача современной интродукции, предполагающей введение в культуру ценных в том или ином отношении растений за пределами их природных ареалов, – это увеличение биоразнообразия посредством обогащения растительных ресурсов данного региона за счет ресурсов мировой флоры.

Орех черный (*Juglans nigra L.*) родом из восточной части Северной Америки. Дерево первой величины, на родине в лучших условиях роста достигает 45-50 м в высоту и 1,5-2,0 м в диаметре [1]. Ствол прямой, малосбежистый, что значительно увеличивает его древесную продуктивность. Ажурная крона высоко поднята над землей, даже при условии свободного роста дерева. С 10-летнего возраста орех черный ежегодно плодоносит. Он считается одной из самых ценных по древесине пород. Его древесина темно-коричневого цвета, твердая, прочная, относится к породам древесин красного дерева [2, 3].

Дуб черешчатый (*Quercus robur L.*) – дерево первой величины, достигающее в благоприятных условиях роста 35-40 м в высоту и 1,0-1,5 м в диаметре ствола. Для лесных фитоценозов бассейна Нижнего Днестра дуб черешчатый является коренной древесной породой. Ствол прямой, при росте в густом лесу хорошо очищен от сучьев на большую высоту [4].

Орех грецкий (*Juglans régia L.*) родом из стран Средней Азии. Дерево первой величины, достигает 30 м в высоту и 1,3 м в диаметре. Ствол мощный, в свободных условиях роста орех грецкий формирует большую низкоопущенную крону. Плодоносит с 6-10 лет [5].

Материалы и методы

Исследования выполнялись с применением полевого и лабораторного методов. В опытных насаждениях была измерена высота 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, доверительный интервал для среднего значения, коэффициент изменчивости. Основные статистические данные были обработаны методом дисперсионного анализа [6].

Результаты исследований

На основе собранного фактического материала рассмотрим динамику роста ореха черного по сравнению с дубом черешчатым и орехом грецким, произрастающими в одинаковых лесорастительных условиях Гербовецкого лесничества (таблица 1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика роста по высоте и диаметру ореха черного, дуба черешчатого и ореха грецкого в насаждениях Гербовецкого лесничества

Древесная порода	Возраст, лет	Средняя высота, м			Средний диаметр, см		
		\bar{X}	$\pm m^*$	C%	\bar{X}	$\pm m^*$	C%
Орех черный	3	1,59	0,6	28,2	1,37	0,3	28,3
	6	2,34	0,6	19,9	2,14	0,3	19,4
	9	3,52	0,6	13,0	3,25	0,4	15,2
	12	4,91	0,5	7,9	4,4	0,4	11,4
	15	9,94	0,7	5,2	9,64	0,6	7,7
Дуб черешчатый	3	1,02	0,4	32,0	1,18	0,3	33,1
	6	1,73	0,5	21,4	1,9	0,3	22,2
	9	2,55	0,5	15,6	2,81	0,4	17,2
	12	4,13	0,7	14,5	3,94	0,4	14,0
	15	7,63	1,3	12,9	7,52	0,8	12,3
Орех грецкий	3	0,87	0,3	29,6	0,94	0,2	27,4
	6	1,61	0,5	22,3	1,53	0,2	17,9
	9	2,52	0,6	18,4	2,6	0,4	14,8
	12	3,87	0,6	11,5	3,73	0,3	12,0
	15	7,0	1,5	17,6	7,1	0,8	13,7

*Доверительный интервал для средних значений высоты и диаметра рассчитывался при значении t на 0,1%-ном уровне значимости.

В 3-летнем возрасте деревья ореха черного в среднем превосходят деревья дуба черешчатого этого же возраста по высоте в 1,6 раза, а деревья ореха грецкого – в 1,8 раза; по диаметру они также в среднем больше 3-летних деревьев дуба черешчатого в 1,2 раза и ореха грецкого в 1,5 раза.

В среднем 6-летние деревья ореха черного по высоте превосходят деревья дуба черешчатого того же возраста в 1,4 раза, а ореха грецкого – в 1,5 раза. По диаметру ствола 6-летние деревья ореха черного в среднем превосходят деревья дуба черешчатого того же возраста в 1,1 раза, а ореха грецкого – в 1,4 раза.

В 9-летнем возрасте деревья ореха черного Гербовецкого лесничества превосходят в среднем по высоте деревья дуба черешчатого и ореха грецкого этого же возраста в 1,4 раза. По диаметру ствола они также в среднем больше 9-летних деревьев дуба черешчатого в 1,2 раза и ореха грецкого – в 1,3 раза.

С 12-летнего до 15-летнего возраста у всех исследуемых пород наблюдается резкий рост как по высоте, так и по диаметру. Деревья ореха черного с 12-летнего до 15-летнего возраста в среднем по высоте увеличиваются в 2 раза, по диаметру в 2,2 раза. Деревья дуба черешчатого этого же возраста в среднем по высоте увеличиваются в 1,8 раза, по диаметру в 1,9 раза. Деревья ореха грецкого с 12-летнего до 15-летнего возраста в среднем по высоте увеличиваются в 1,7 раза, по диаметру в 1,9 раза (рисунки 1, 2).

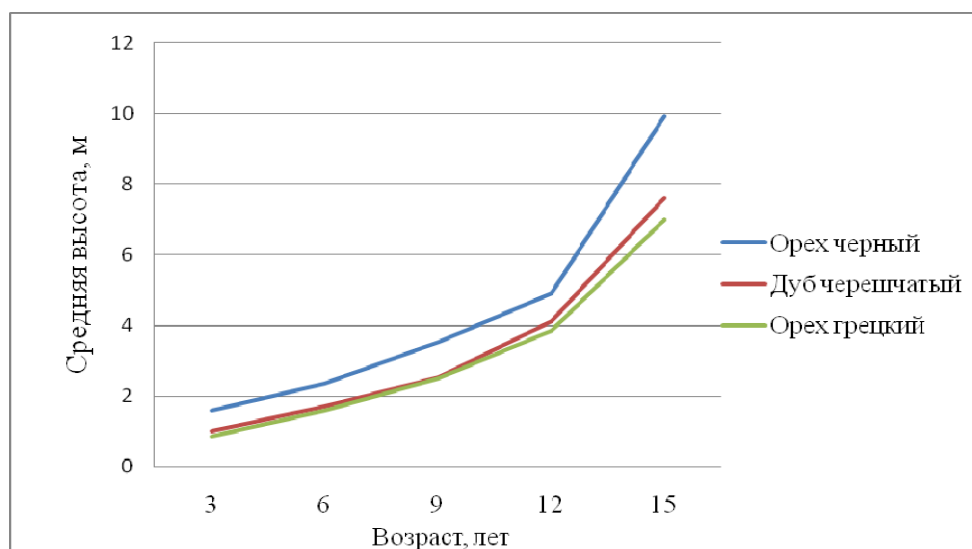


Рис.1. Сравнительная характеристика роста в высоту ореха черного, дуба черешчатого и ореха грецкого в лесных фитоценозах Гербовецкого лесничества.

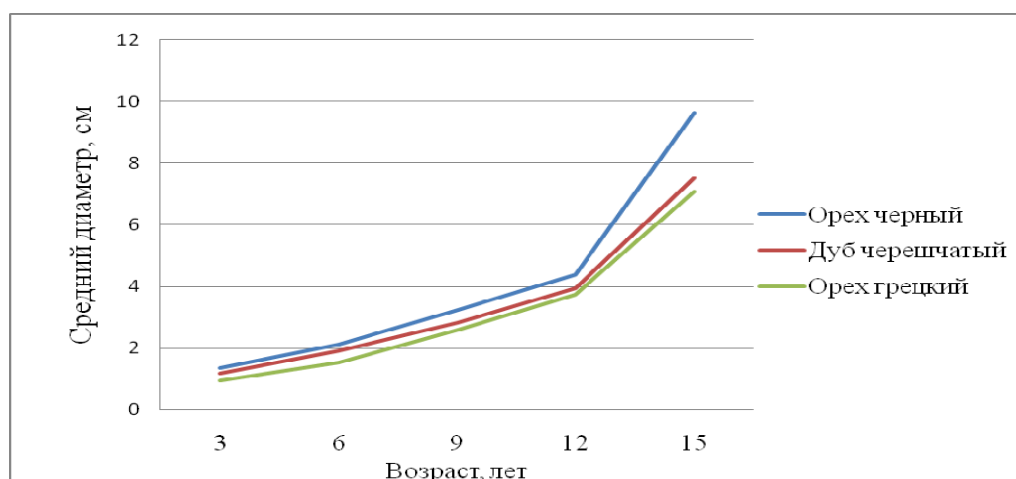


Рис.2. Сравнительная характеристика роста в диаметре ореха черного, дуба черешчатого и ореха грецкого в лесных фитоценозах Гербовецкого лесничества.

В 15-летнем возрасте орех черный в среднем превосходит дуб черешчатый того же возраста по высоте и по диаметру в 1,3 раза, а орех грецкий по тем же параметрам – в 1,4 раза.

У ореха черного, дуба черешчатого и ореха грецкого с 3-летнего до 15-летнего возраста наблюдается тенденция к снижению изменчивости как при измерении высоты, так и при измерении диаметра. У ореха черного с 3-летнего до 15-летнего возраста наблюдается уменьшение изменчивости при измерении высоты на 81,6%, при измерении диаметра – на 72,8%. У дуба черешчатого также отмечено уменьшение изменчивости по высоте на 59,7%, по диаметру – на 62,8%. У ореха грецкого тоже наблюдается уменьшение изменчивости по высоте на 40,5%, по диаметру – на 50,0%. Необходимо отметить, что наибольшее снижение изменчивости наблюдается у ореха черного. Следовательно, можно

заклучить, что с увеличением возраста дерева ореха черного, произрастающие в лесных фитоценозах Нижнего Днестра, становятся более устойчивыми к воздействию внешних факторов окружающей среды.

Рассмотрим лесотехнические характеристики 40-летних деревьев ореха черного, дуба черешчатого и ореха грецкого, произрастающих в лесных фитоценозах Гербовецкого лесничества (таблица 2).

Таблица 2

Лесотехнические характеристики 40-летних деревьев ореха черного, дуба черешчатого и ореха грецкого в лесных фитоценозах Гербовецкого лесничества

Параметры	Орех черный	Дуб черешчатый	Орех грецкий
Возраст, лет	40	40	40
Высота, м	19,39	16,51	12,63
Диаметр, см	19,1	15,93	13,01
Расстояние до нижней ветки, м	8,3	3,1	2,3
Деловых, %	97,2	30,5	-
Полуделовых, %	2,8	33,0	43,7
Дровяных, %	-	36,5	56,3
Деревья с деформацией ствола, %			
не выражена	87,8	-	-
слабая	6,7	6,7	-
средняя	5,5	38,8	40,2
значительная	-	54,5	59,8

Деревья ореха черного в 40-летнем возрасте превосходят деревья ореха грецкого того же возраста по высоте на 34,9%, а дуба черешчатого – на 14,9%. Отмечено также превосходство деревьев ореха черного по диаметру: ореха грецкого – на 31,9%, дуба черешчатого – на 16,6%. Расстояние до нижней ветки у 40-летних деревьев ореха черного в 3,6 раза больше, чем у ореха грецкого, и в 2,7 раза больше, чем у дуба черешчатого. Деловых стволов у исследуемых деревьев ореха черного в 3,2 раза больше, чем у дуба черешчатого. В то же время у ореха грецкого деловых стволов не наблюдается. Наибольшее количество дровяных стволов отмечено у ореха грецкого. У 87,8% 40-летних деревьев ореха черного не обнаружено деформированных стволов. При этом, более чем у 50% 40-летних растений дуба черешчатого и ореха грецкого отмечена значительная деформация стволов.

Возраст технической спелости древесины у ореха черного составляет 45-50 лет, тогда как у дуба черешчатого – 90-95 лет [7-9].

Деревья ореха черного на исследуемой территории оказались более устойчивыми к поздневесенним заморозкам по сравнению с орехом грецким [10].

У ореха черного в лесных фитоценозах Нижнего Днестра не обнаружено болезней и вредителей, что значительно отличает его от дуба черешчатого и ореха грецкого, которые ежегодно в той или иной степени подвергаются воздействию характерных для них болезней и вредителей [11].

Выводы

1. В ходе проведения исследований установлено, что деревья ореха черного по высоте и диаметру превосходят деревья дуба черешчатого и ореха грецкого.

2. С возрастом дерева ореха черного, произрастающие в лесных фитоценозах бассейна Нижнего Днестра, становятся более устойчивыми к воздействию негативных внешних факторов окружающей среды.

3. 40-летние деревья ореха черного, произрастающие в Гербовецком лесничестве, формируют более продуктивные стволы, чем деревья дуба черешчатого и ореха грецкого того же возраста и в тех же лесорастительных условиях.

4. Принимая во внимание ценные свойства древесины, успешный рост ореха черного на исследуемых территориях, древесную продуктивность, считаем целесообразным рекомендовать разведение данной древесной породы в лесных фитоценозах бассейна Нижнего Днестра.

Литература:

1. ГАРБУЗОВ, Г.А. *Черный орех и другие целители*. Санкт-Петербург, 2005. 128 с.
2. КУЧИН, В.П. Черный орех. В: *Лесное хозяйство*, 1951, № 2, с.58-59.
3. ШВИДЕНКО, А.И., ЦЫГАНКОВ, П.А. *Культура ореха черного*. Львов, 1978. 92 с.
4. ПЯТНИЦКИЙ, С.С. *Курс дендрологии*. Харьков, 1960, с.330-339.
5. ОГИЕВСКИЙ, В.В., БРАУДЕ, И.Д., ДЬЯЧЕНКО, А.Е. и др. *Лесные культуры*. Москва: Лесхозбумиздат, 1949, с.467-475.
6. ДОСПЕХОВ, В.А. *Методика полевого опыта*. Москва: Колос, 1979, с.377-381.
7. ГОРДІЕНКО, М.І., ГОРДІЕНКО, Н.М. *Лісівничі властивості деревних рослин*. Київ, 2005, с.580-605.
8. МАЯЦКИЙ, И.Н., ЯКОВЕНКО, Н.А., МАЯЦКАЯ, А.С. Рост и продуктивность насаждений ореха черного в Молдавии. В: *Сельское хозяйство Молдавии*, 1982, № 10, с.48-49.
9. СТОВБЧАТЫЙ, М.Н. *Биоэкологические основы восстановления коренных типов лесных фитоценозов и реконструкции неудовлетворительных по составу и состоянию насаждений методом лесных культур* / Дисс. ... с.-х. наук. Киев, 2006. 196 с.
10. КИЧУК, Н.И. Биоэкологические особенности ореха черного и перспектива его выращивания в пойме реки Днестр. В: *Материалы Международной конференции «Управление бассейном реки трансграничной реки Днестр и водная рамочная директива Европейского союза»*. Кишинев, 2008, с.162-165.
11. КИЧУК, Н.И. Особенности ореха черного, перспектива его выращивания на территории Приднестровья. В: *Материалы Международной конференции «Міжнародна співпраця і управління транскордонним басейном для оздоровлення річки Дністер»*. Одесса, 2009, с.117-121.

Prezentat la 16.01.2016

ESTIMAREA COMPLEXULUI MINERAL LA SPORTIVII ÎNOTĂTORI

Ecaterina ERHAN, Liuba TURUTA

Universitatea de Stat din Moldova

Acest articol este consacrat studiului complexului mineral la sportivii înotători înainte și după un efort fizic pe veloergometru și antrenament în bazinul de înot. Rezultatele obținute arată că ionii de calciu și magneziu la sportivii înotători înainte de efort sunt în limitele normale, dar după un efort pe veloergometru valoarea ionilor scade.

Cuvinte-cheie: sportivi înotători, calciu, magneziu, fier, oxigen.

DETERMINATION OF MINERAL COMPLEX AT SPORTSMEN SWIMMERS

This article is dedicated to the study of mineral complex at sportsmen swimmers before and after a physical training on veloergometru and training in the swimming pool. The obtained results show that ions of calcium and magnesium at sportsmen swimmers before training are in normal limits, but after the training on veloergometru the value of ions decreases.

Keywords: sportsmen swimmers, calcium, magnesium, iron, oxygen.

Introducere

Este evident faptul că obiceiurile alimentare ale unui sportiv pot determina în mod decisiv calitatea de executare a unui exercițiu fizic. Substanțele mineralele sunt foarte necesare pentru organismul omului, dar mai ales pentru organismul unui sportiv de performanță. Ele prezintă componente metabolizate în decursul activității vitale a organismului; fiind ingerate odată cu hrana, constituie elementele de structură a scheletului și a țesuturilor moi, dar și factori ce reglează numeroase funcții fiziologice. Anumiți ioni au în organism locuri speciale de depozitare, de unde pot fi utilizate în perioadele în care aportul lor în alimente este insuficient.

Organismul omului, ca și majoritatea organismelor animale, are proprietatea de a menține aproximativ constantă concentrația ionilor minerali în lichidele corpului, realizând astfel așa-numitul „mediu intern” constant. Ei contribuie la reglarea activității celulare în raport cu necesitățile organismului, cum ar fi reglarea echilibrului acido-bazic, contractia musculară, stimularea sau inhibarea activității enzimelor, excitabilitatea nervoasă, coagularea sângelui, transportul oxigenului etc. [1].

Elementele minerale, numite bioelemente, se regăsesc aproximativ în toate celulele și participă activ la menținerea homeostaziei generale. Apariția unui dezechilibru acut al acestor minerale poate duce la efecte deosebit de grave asupra sănătății.

Pentru organismul unui sportiv deosebit de important este conținutul mineralelor de calciu, magneziu și fier, care reprezintă complexul mineral testat în cercetarea dată. Printre elementele care intră în organismul uman, **calciul**, din punct de vedere cantitativ, ocupă locul 5, după elementele de bază: oxigen, hidrogen, carbon și azot. Calciul este considerat „regele bioelementelor” în organismul uman. Cantitativ, calciul se găsește în medie 99% în oase și țesuturi tari și 1% în sânge, în celulele și țesuturile moi [2].

Celulele produc permanent energie și în rezultatul acestor procese se formează elementele nocive – reziduuri, de natură acidă. Calciul este considerat element primordial în eliminarea acestor toxine. Prin eliminarea resturilor acide, calciul ionizat susține pH-ul sângelui în stare slab alcalină, ceea ce este foarte important pentru menținerea vieții, deoarece coborârea pH-ului sângelui până la 6,8 finalizează cu deces. Deci, una dintre funcțiile principale ale calciului este menținerea organismului în stare semialcalină, adică menținerea vieții.

Calciul este necesar pentru coagularea normală a sângelui, contractarea și relaxarea mușchilor inimii și a mușchilor scheletici, pentru reglarea funcției fermentative și, parțial, secreția insulinei. Un rol important îi revine acestui element pentru transmiterea impulsurilor nervoase, iar insuficiența lui provoacă iritarea nervilor.

Calciul este deosebit de important pentru organismul sportivilor, deoarece în timpul antrenamentului ei pierd o cantitate enormă de calciu prin transpirație. Norma de calciu în serul sangvin este de 2,2-2,6 mmol/l.

Un alt element necesar organismului uman, dar mai ales sportivilor, este **magneziul**. Funcția lui primară constă în participarea la dezvoltarea conductibilității și contractilității mușchilor. Magneziul intervine în reacțiile fiziologice (metabolismul glucidelor, lipidelor și proteinelor) și în activitățile enzimatică, în permeabilitatea celulară, coagularea sangvină. Mai mult de jumătate din cantitatea totală de magneziu se găsește în

oase, un sfert se găsește în mușchi, iar restul se repartizează în inimă, ficat, rinichi, tubul digestiv și în plasma sanguină [3].

Necesitatea de magneziu este mult mai mare în cazul sportivilor. Norma ionului de magneziu în serul sangvin este de 0,66 - 1,07 mmol/l.

Fierul prezintă al treilea ion testat în cercetarea noastră. Ionul de fier este necesar pentru formarea hemoglobinei, mioglobinei și a unor enzime. Cu ajutorul fierului se asigură nutriția mucoaselor, secreția gastrică, respirația celulară. Fierul ajută la procesul de creștere, mărește rezistența la îmbolnăviri, mai ales la infecții, transportă diferite substanțe chimice implicate în metabolismul energetic, are acțiune antioxidantă, asigură funcția reproductivă. Norma ionului de fier este de 9,0-30,4 mmol/l [4].

Luând în considerare actualitatea temei abordate, ne-am propus drept scop estimarea complexului mineral la sportivii înotători.

Material și metode

Cercetările au fost efectuate pe 12 sportivi de performanță (6 băieți și 6 fete) care practicau proba nautică. Experiențele au fost repartizate în 3 loturi:

Lotul I a fost format din tineri nesportivi care formau lotul martor.

Lotul II a inclus băieți sportivi cercetați în stare de repaus și la un efort fizic pe veloergometru.

Lotul III a inclus fete sportive cercetate în stare de repaus și la un efort fizic pe veloergometru.

Rezultate și discuții

Aprecierea nivelului de calciu în testările efectuate de noi au arătat că, în stare de repaus, la băieții nesportivi și la sportivii înotători nivelul ionului de calciu este în limitele normei, respectiv $2,36 \pm 0,04$ mmol/l (tinerii nesportivi) și $2,24 \pm 0,03$ mmol/l (înotători) (*a se vedea* Tabelul).

După efortul fizic efectuat pe veloergometru nivelul de calciu s-a micșorat nesemnificativ până la $2,14 \pm 0,04$ mmol/l la tinerii nesportivi și până la $2,01 \pm 0,02$ mmol/l la înotători.

După executarea efortului de înot la sportivii înotători nivelul de calciu a crescut. Calciul considerat element mineral primordial în eliminarea toxinelor de natură acidă, după părerea noastră, în cazul dat susține pH-ul sângelui în stare slab alcalină în timpul înotului. De aceea, efortul de înot poate fi îndeplinit un timp mai îndelungat, iar oboseala survine mult mai târziu în comparație cu efortul pe veloergometru. De asemenea, în timpul înotului organismul nu transpiră și elementele minerale nu sunt eliminate prin transpirație [5].

Testarea nivelului de calciu la fetele nesportive și la fetele înotătoare denotă că în stare de repaus valoarea calciului la fetele nesportive este în limitele normei ($2,29 \pm 0,06$ mmol/l), iar la fetele înotătoare valorile medii ale calciului sunt sub limitele normei ($2,07 \pm 0,06$ mmol/l).

Tabel

Complexul mineral al lotului experimental

Lotul experimental	Calciu (mmol / l)			Magneziu (mmol / l)			Fier (mkmol / l)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
băieți nesportivi	$2,36 \pm 0,04$	$2,14 \pm 0,04$		$0,71 \pm 0,03$	$0,66 \pm 0,03$		$17,07 \pm 0,41$	$19,61 \pm 0,19$	
băieți sportivi	$2,24 \pm 0,03$	$2,01 \pm 0,02$	$2,48 \pm 0,03$	$0,63 \pm 0,03$	$0,59 \pm 0,01$	$0,75 \pm 0,06$	$15,70 \pm 0,21$	$17,71 \pm 0,31$	$18,80 \pm 0,04$
fete nesportive	$2,29 \pm 0,06$	$2,01 \pm 0,08$		$0,68 \pm 0,02$	$0,63 \pm 0,02$		$16,69 \pm 0,29$	$19,43 \pm 0,24$	
fete sportive	$2,07 \pm 0,06$	$1,94 \pm 0,05$	$2,60 \pm 0,05$	$0,65 \pm 0,03$	$0,60 \pm 0,02$	$0,70 \pm 0,04$	$14,94 \pm 0,42$	$17,71 \pm 0,40$	$19,00 \pm 0,05$

Notă: 1 – în repaus; 2 – după veloergometru; 3 – după înot.

După îndeplinirea efortului pe veloergometru, valorile medii ale calciului au scăzut la ambele loturi de fete până la $2,01 \pm 0,08$ mmol/l (la fetele nesportive) și până la $1,94 \pm 0,05$ (la sportivele înotătoare).

Testarea ionului de magneziu din serul sangvin la loturile de băieți a arătat că până la efort fizic nivelul de ion la băieții nesportivi este în limitele normei – $0,71 \pm 0,03$ mmol/l, iar la sportivii înotători valorile sunt sub limitele normei, respectiv $0,63 \pm 0,03$ mmol/l .

După realizarea efortului fizic pe veloergometru valorile ionului de magneziu au scăzut la loturile testate: $0,66 \pm 0,03$ mmol/l (la băieții nesportivi) și, respectiv, $0,59 \pm 0,01$ mmol/l (la sportivii înotători).

Ca și în cazul ionului de calciu, nivelul ionului de magneziu în urma realizării antrenamentului de înot crește evident. La testarea nivelului de magneziu la fetele nesportive și înotătoare se constată că în stare de repaus valorile magneziului din serul sangvin la primele sunt la limita de jos a normei – $0,68 \pm 0,02$ mmol/l, iar la sportivele înotătoare valorile sunt sub limitele normei – $0,65 \pm 0,03$ mmol/l. În urma îndeplinirii efortului fizic pe veloergometru nivelul de magneziu a scăzut la ambele loturi cercetate: respectiv, $0,63 \pm 0,02$ mmol/l și $0,60 \pm 0,02$ mmol/l.

În cazul cercetării ionului de fier din serul sangvin, se constată o situație inversă, în comparație cu ionii de calciu și magneziu. Testarea nivelului de fier la loturile de băieți a arătat că până la efort fizic valorile sunt în limitele normei, și anume: la băieții nesportivi – $17,07 \pm 0,41$ mkmol/l, iar la sportivii înotători – $15,70 \pm 0,21$ mkmol/l.

După efectuarea efortului fizic pe veloergometru se stabilește o creștere a nivelului de fier la loturile cercetate, și anume: la nesportivi – $19,61 \pm 0,19$ mkmol/l, iar la înotători – $17,71 \pm 0,31$ mkmol/l.

Majorarea valorilor elementului mineral de fier în urma efortului efectuat, după părerea noastră, poate fi explicată prin faptul că în timpul efortului fizic, din cauza reducerii nivelului de oxigen, crește nivelul hemoglobinei pentru a compensa această scădere și, ca urmare, crește și nivelul de fier.

Dacă urmărim manifestarea ionului de fier la loturile de fete, putem observa că în stare de repaus la fetele nesportive valorile fierului seric sunt în limitele normei – $16,69 \pm 0,29$ mkmol/l, iar la sportivele înotătoare valorile sunt mai mici, însă totuși se încadrează în limitele normei – $14,94 \pm 0,42$ mkmol/l. După efectuarea efortului pe veloergometru nivelul fierului crește la ambele loturi cercetate – $19,43 \pm 0,24$ mkmol/l (la fetele nesportive) și, respectiv, $17,71 \pm 0,40$ mkmol/l (la sportivele înotătoare).

Deci, organismul omului are proprietatea de a menține aproximativ constantă concentrația ionilor minerali în lichidele corpului, realizând astfel așa-numitul „mediu intern” constant. Reglarea concentrației sărurilor în organism joacă un rol deosebit de important în procesele fiziologice, hotărâtoare pentru buna funcționare a organelor și țesuturilor. Ele contribuie la reglarea activității celulare în raport cu necesitățile organismului, cum ar fi reglarea echilibrului acido-bazic, contracția musculară, stimularea sau inhibarea activității enzimelor, excitabilitatea nervoasă, coagularea sângelui, transportul oxigenului [6].

Concluzii

Cercetările efectuate în domeniul estimării complexului mineral la sportivii înotători permit formularea următoarelor concluzii:

1. Determinarea ionilor de calciu și magneziu a demonstrat că la sportivii înotători în stare de repaus nivelul ionilor se regăsește la pragul de jos al normei față de lotul martor, la care valorile se încadrează în limitele normei.
2. După efortul fizic pe veloergometru valorile ionilor de calciu și magneziu scad la băieții nesportivi și la sportivii înotători. Disfuncțiile schimbului de substanțe minerale la sportivi pot fi clasificate ca profesionale sau profesional asociate, legate de eforturile fizice și psihoemoționale.

Referințe:

1. APOSTU, M. *Influența efortului fizic asupra echilibrului hidromineral*. București: Alexandru 27, 2003. 196 p.
2. ALEXANDRESCU, C. Rația alimentară a sportivului. În: *Cultura fizică și Sport*. București, 2003, nr.3, p.112-120.
3. GODOROZEA, M., PINTILEI, S. Particularitățile alimentației sportive raționale. În: *Perspective moderne ale impactului societății contemporane asupra educației fizice și sportului*. Ed. a 7-a. Chișinău, 2006, p.311-313.
4. CIOCHINĂ, T., ERHAN, E. Rolul unor minerale în organismul sportivilor de performanță. În: *Conferința științifică internațională studențească „Probleme actuale ale teoriei și practicii culturii fizice”*. Ed. a 17-a. Chișinău, 16-17 mai 2013, p.401-409.
5. ГОЛЬБЕРГ, Н.Д., ДОНДУКОВСКАЯ, Р.Р., ТОПАНОВА, А.А. и др. Питание юных спортсменов с учётом наследственной предрасположенности к нарушениям метаболизма. В: *Современные проблемы физической культуры и спорта*. Том 2. Санкт-Петербург, 2008, с.229-232.
6. ВОВЧАНЫЦЯ, Ю.Л. Железодефицитная анемия – актуальная проблема современной спортивной медицины. В: *Conferința științifică internațională studențească „Probleme actuale ale teoriei și practicii culturii fizice”*. Ed. a 14-a. Chișinău, 23 aprilie 2011, vol.2, p.160-163.

Prezentat la 14.04.2015

SINTEZA DIRIJATĂ A BAZELOR SCHIFF CARE CONȚIN HIDRAZINOBENZOTIAZOL, 4-AMINOTRIAZOL, LIZINĂ ȘI COMPUȘII LOR COORDINATIVI

Anastasia PAHOLNIȚAIA

Universitatea de Stat din Moldova

Lucrarea prezintă o revistă a bazelor Schiff care conțin hidrazinobenzotiazol, 4-aminotriazol, lizină și compușii coordinați cu acești liganzi descrise în literatura de specialitate. Compușii coordinați ai elementelor 3d cu acești liganzi au diferită compoziție, structură și proprietăți. Liganzii și compușii coordinați manifestă activitate antitumorală, antibacteriană, antituberculoasă, antiinflamatoare. Compușii coordinați ai cuprului cu acești liganzi manifestă activitate antitumorală sporită în comparație cu bazele Schiff corespunzătoare.

Cuvinte-cheie: baze Schiff, complecși, cupru, cobalt, nichel, activitate biologică.

DIRECTED SYNTHESIS OF SCHIFF BASES THAT CONTAIN HYDRAZINOBENZOTHIAZOLE, 4-AMINOTRIAZOLE, LYSINE AND COORDINATION COMPOUNDS WITH THESE LIGANDS

The paper presents a review of the Schiff bases that contain hydrazinobenzothiazole, 4-aminotriazole and lysine and coordination compounds with these ligands described in the literature. 3d metal coordination compounds with these ligands have different composition, structure and properties. Both ligands and coordination compounds manifest antitumor, antibacterial, and antituberculous activities. Copper(II) coordination compounds with these ligands manifest better antitumor activity than corresponding Schiff bases.

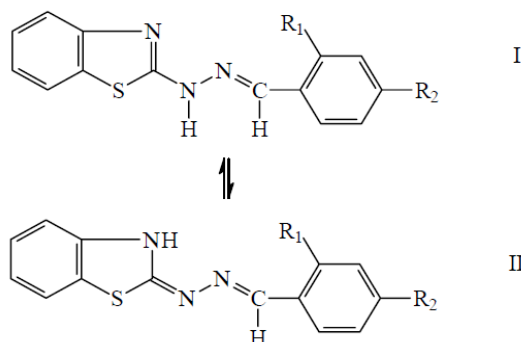
Keywords: Schiff bases, complexes, copper, cobalt, nickel, biological activity.

Introducere

În ultimii ani a crescut interesul față de hidrazone datorită capacităților lor de chelatare și proprietăților lor farmacologice [1-3]. Hidrazonele tiazolului și benzotiazolului prezintă o clasă interesantă de liganzi care conțin un set de atomi donori, precum azotul, sulfură și oxigenul, care lărgesc spectrul de proprietăți coordinațive și farmaceutice [4-7].

Rezultate și discuții

Hidrazonele obținute în baza 2-hidrazinobenzotiazolului cu aldehide aromatice manifestă activitate antituberculoasă, antimicrobiană, antitumorală [8-10] și antiinflamatoare [11]. Compușii coordinați ai elementelor 3d cu bazele Schiff obținute în baza hidrazinobenzotiazolului au compoziție, structură și proprietăți diferite. Proprietățile chimice și fizico-chimice ale produșilor de condensare a aldehydelor aromatice cu 2-hidrazinobenzotiazol pot exista în două forme tautomere cu următoarea structură:



$R_1: -NH_2, R_2: -H; R_1: -H, R_2: -OCH_3$ sau $R_1: -OH, R_2: -H$

Fig.1. Tautomeria bazelor Schiff.

Acești compuși dețin atomi donori care pot forma cu ionul central legături chimice, fiind bi- sau tridentăți. Chelații liganzilor tridentăți sunt diferiți în proprietățile lor magnetice și stereochemice.

STUDIUL SPECTROFOTOMETRIC AL COMPUȘILOR COORDINATIVI AI COBALTULUI(II), NICHELULUI(II) ȘI CUPRULUI(II) CU TIOSEMICARBAZONA ALDEHIDEI 5-(METILENTRIMETILAMONIU)SALICILICE

Angela SÎRBU

Universitatea de Stat din Moldova

Tiosemicarbazona aldehidei 5-(metilentrimețilamoniu)salicilice ($[H_2L]Cl$) are structură ionică, este solubilă în apă și formează cu ionii de cobalt(II), nichel(II) și cupru(II) compuși colorați caracterizați spectral prin maximum de absorbție la 390 nm, 373 nm și 375 nm, respectiv. Raportul molar de combinare metal:ligand este 1:1 pentru cupru și nichel și 1:2 pentru cobalt. Prin studiul spectrofotometric au fost determinate condițiile optime de formare a complexelor, absorbțivitatea molară și stabilitatea speciei dominante. În baza studiului realizat a fost propusă o metodă de determinare a conținutului de cupru și cobalt cu reactivul ionic nou.

Cuvinte-cheie: compus coordinativ, cupru, cobalt, proprietăți optice, tiosemicarbazonă.

SPECTROPHOTOMETRIC STUDY OF COORDINATIVE COMPOUNDS OF COBALT(II), NICKEL(II) AND COPPER(II) WITH 5-(METHYLENTRIMETHYLAMONIUM)SALICYLALDEHYDE THIOSEMICARBAZONE

The 5-(methylenetrimethylamonium)salicylaldehyde thiosemicarbazone ($[H_2L]Cl$) has an ionic structure, water soluble, forming colored compounds with cobalt(II), nickel(II) and copper(II), spectral characterized by maximum absorption of 390 nm, 373 nm and 375 nm. Molar ratio of metal:ligand is 1:1 for copper and nickel, and 1:2 for cobalt. The optimal conditions, molar absorptivity and stability of the dominant species were determined by spectrophotometric study. Based on this study has been proposed a method of determination copper and cobalt with new ionic reagent.

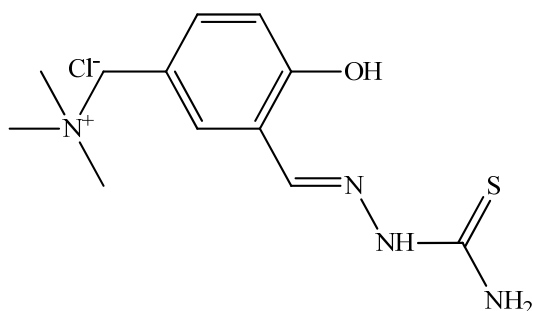
Keywords: coordinative compounds, copper, cobalt, optical properties, thiosemicarbazone.

Introducere

Tiosemicarbazonele sunt cunoscute datorită posibilității lor de a forma compuși coordinativi cu metalele de tranziție care se deosebesc după structură, compoziție și proprietăți. În rezultatul complexării tiosemicarbazonelor cu unele metale se amplifică proprietățile antineoplastice, bacteriostatice, antivirale și fungice [1,2]. Datorită capacității de a forma cu ionii multor metale compuși stabili, colorați, solubili sau puțin solubili, tiosemicarbazonele au fost propuse în calitate de reactivi organici analitici pentru determinarea, preconcentrarea și separarea microcantităților de metale în diferite sisteme [3-5]. Pentru dezvoltarea chimiei coordinative în soluție cu liganzi derivați ai tiosemicarbazidelor este necesar ca constantele de stabilitate, care ajută la optimizarea condițiilor pentru aplicații biologice și analitice ale produșilor, să poseze valoare înaltă.

Caracterizarea complexelor posibil activi, de obicei, se efectuează în fază solidă sau în solvenți organici, dar aceste tehnici nu pot furniza informații suficiente despre biotransformările medicamentelor în fluidele biologice. Cu toate acestea, cunoașterea celor mai plauzibile forme chimice ale acestor complecși în soluții apoase, în special la pH-ul fiziologic, este o condiție obligatorie pentru a înțelege mecanismul echilibrului protolitic și ar putea fi utilă pentru obținerea celor mai eficiente și selective chimioterapeutice. Unul dintre dezavantajele esențiale ale reactivilor pe bază de tiosemicarbazone este solubilitatea lor mică în apă, care limitează studiile echilibrului protolitic în soluții apoase. Problema solubilității poate fi rezolvată prin funcționalizarea agenților de coordonare cu grupe ușor ionizabile. În literatura de specialitate sunt disponibile foarte puține informații despre stabilitatea termodinamică a complexelor tiosemicarbazonei aldehidei salicilice și a derivaților ei.

În această lucrare sunt prezentate rezultatele studiului spectrofotometric al procesului de complexare a tiosemicarbazonei aldehidei 5-(metilentrimețilamoniu)salicilice ($[H_2L]Cl$) cu ionii de cobalt(II), nichel(II) și cupru(II) în soluții apoase.



Partea experimentală

I.1. Reactivi și metode de cercetare

Reactivii organici și anorganici de calitate superioară (97-99,99%) au fost procurați de la companiile „Sigma-Aldrich”, „Acros Organics” sau „Alfa Aesar”, fiind folosiți în sinteză fără o purificare prealabilă. Sinteza aldehidei 5-(metilentrimetilamoniu)salicilice a fost efectuată conform [6].

Determinarea carbonului, hidrogenului, azotului și sulfului

Analiza elementală a fost efectuată cu ajutorul analizatorului de elemente automat FlashEATM 1112 de la Institutul de Chimie a Materiei Condensate (Bordeaux, Franța). Acest aparat permite determinarea cantitativă a carbonului, hidrogenului, azotului și sulfului. Analiza constă în combustia probelor solide sau lichide în atmosferă de oxigen, în reactorul de combustie la temperatură ridicată (1700-1800°C). În aceste condiții, carbonul este transformat în dioxid de carbon, hidrogenul în apă, azotul în azot elementar și sulful în dioxid de sulf. Gazele rezultate în urma procesului de ardere au fost transportate cu ajutorul gazului portant (He) în coloana cromatografică de separare, unde au fost separate și detectate secvențial cu ajutorul detectorului de conductivitate termică (TCD). Detectorul TCD generează un semnal proporțional cu cantitatea elementului în proba respectivă. Software-ul dedicat (Eager 300) compară intensitățile elementare cu cele ale unui standard cunoscut cu care se face în prealabil calibrarea și generează un raport pentru fiecare element detectat, pe baza greutății sale.

Spectrele RMN

Spectrele de rezonanță magnetică nucleară au fost înregistrate la spectrometrul de înaltă rezoluție Bruker Avance III, frecvența de lucru 500 MHz; probele au fost solubilizate în DMSO-d₆.

Spectrele IR

Spectrele IR au fost înregistrate la spectrometrul FT-IR PerkinElmer, în domeniul 400 ÷ 4000 cm⁻¹.

Spectrele UV-vis

Spectrele electronice de absorbție au fost înregistrate la spectrofotometrul Cary 300 UV-Vis, în domeniul 200 ÷ 800 nm și cuve de cuarț cu l=1 cm.

I.2. Metode de sinteză

Prepararea ligandului: Tiosemicarbazona clorurii 5-(metilentrimetilamoniu) aldehidei salicilice ([H₂L]Cl), a fost obținută în urma reacției de combinare echimolare. La 10 mmol (0,91 g) de tiosemicarbazidă, dizolvată în 20 ml amestec H₂O/MeOH (1:3), au fost adăugați 10 mmol (2,29 g) de aldehydă 5-(metilentrimetilamoniu) salicilică dizolvați în 20 ml MeOH. Amestecul obținut a fost agitat la temperatura de 65°C timp de 20 min., apoi filtrat și lasat la evaporare lentă, la temperatura camerei. După două zile a fost obținut un produs cristalin de culoare galbenă-pală sub formă de plachete, care au fost separate prin filtrare, spălate cu o cantitate minimă de metanol și uscate în aer. Randamentul – 75-85%. Analiza elementală: Calculat pentru C₁₂H₁₉N₄O₂Cl·2H₂O (M=338,12 g/mol): C, 42.59; H, 6.32; N, 18.50; S, 10.59%. Găsit: C, 42.51; H, 6.30; N, 18.56; S, 10.64%. ¹H RMN (DMSO-d₆): CH₃-3.035 (9H, singlet), CH₂-4.472 (2H, singlet), atomii de hidrogen ai nucleului benzenic: 7.119-7.136 (1H, dublet), 7.350-7.370 (1H, multiplu), 7.889 (1H, singlet), NH₂-8.193-8.237 (2H, dublet), CH-8.365 (1H, singlet), NH-10.825 (1H, singlet), OH-11.503 (1H, singlet). IR: ν(C=N)=1600 cm⁻¹, ν(C=S)=821 cm⁻¹, ν(C-H)=3016 cm⁻¹, 3159 cm⁻¹, ν(OH)=3369 cm⁻¹, ν(NH)=3244 cm⁻¹.

Prepararea soluțiilor de lucru: Soluția inițială de ligand, cu concentrația 3·10⁻³ mol/L, a fost preparată din probe cântărite prin dizolvarea reactivului în apă distilată. Soluțiile sărurilor de cupru, nichel și cobalt au fost preparate prin dizolvarea probelor cântărite de nitrat de cupru(II), cobalt(II) și nichel(II) în apă. Soluțiile de nichel(II) și cobalt(II) au fost standardizate ulterior cu soluții standard de trilon B și sulfat de magneziu în prezența negrului de eriocrom [7], iar soluția de cupru(II) – cu soluție de iodură de potasiu și tiosulfat de sodiu standardizată [8]. Concentrația constantă a ionilor de hidrogen a fost asigurată prin adăugarea unei soluții tampon CH₃COOH + CH₃COONa cu pH-ul respectiv, preparată conform ghidului [9] cu ajutorul pH-metrului I – 160.

II. Rezultate și discuții

Tiosemicarbazona studiată ([H₂L]Cl) are structură ionică, este solubilă în apă și formează soluții stabile în timp. Spectrele electronice de absorbție în domeniul vizibil demonstrează modificări caracteristice în funcție de pH-ul soluțiilor. În mediul acid soluțiile apoase ale reactivului sunt incolore și se caracterizează spectral prin absorbantă maximă la lungimile de undă egale cu 302 nm, caracteristic cromoforului azometinic și cu 328 nm – pentru fragmentul fenolic. În mediul alcalin colorația soluțiilor devine galbenă, care spectral dezvăluie dezvoltarea unei benzi puternice cu maximumul de absorbție 373 nm (Fig.1).

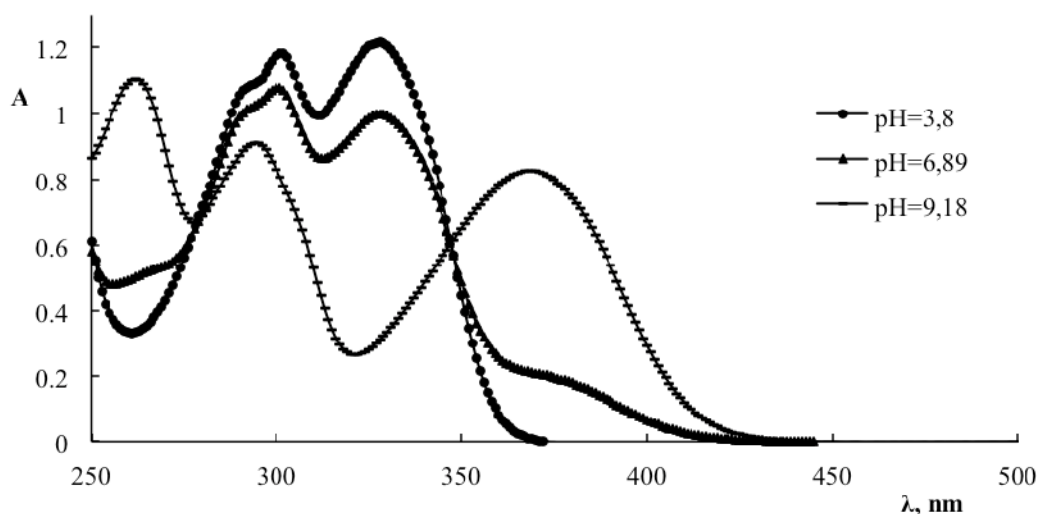


Fig.1. Spectrele electronice de absorbție ale soluțiilor de $[H_2L]Cl$ la $pH=3.80$, $pH=6.89$, $pH=9.18$.

Schimbarea culorii cu variația pH -ului este determinată de disocierea reactivului. Procesul de disociere este atribuit deprotonării grupei fenolice și este redat de pK_1 , în timp ce pK_2 aparține grupei hidrazinice N^2-H a fragmentului tiosemicarbazidic; sarcina negativă este localizată la atomul de sulf prin intermediul echilibrului tautomic tion-tiol. Conform datelor bibliografice, pentru tiosemicarbazona aldehidei salicilice nesubstituite au fost obținute constantele de disociere $pK_1=8.84$ și $pK_2=12.57$ în solvent mixt 30% DMSO/apă [10]. Este remarcabil faptul că pK_2 are o valoare destul de ridicată, de aceea deprotonarea are loc într-un domeniu al pH -ului puternic bazic, unde măsurările devin nesigure și limitează determinarea exactă a constantei. Reieșind din acestea, pentru ligandul raportat a fost determinată constanta $pK_1=7.81$ prin metoda spectrofotometrică.

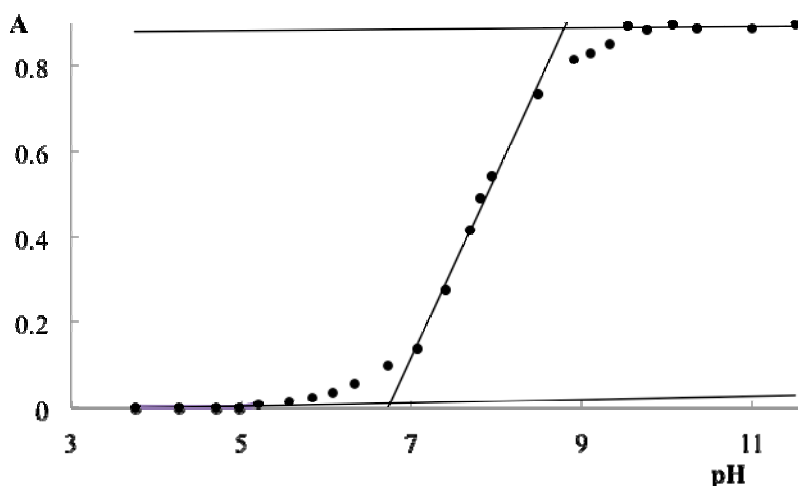


Fig.2. Dependența absorbției ligandului $[H_2L]Cl$ de mediul soluției: $C([H_2L]Cl)=6,0 \cdot 10^{-5} M$, $\lambda=375 nm$.

Adăugarea soluțiilor de săruri ale metalelor la cele de tiosemicarbazona provoacă schimbarea culorii în domeniul de $pH < 7$. În prezența ionilor de cupru(II) și nichel(II) schimbări vizibile se observă când apare o colorație galbenă-verzuie față de soluția incoloră a reactivului liber în aceleași condiții. Soluțiile devin galbene în cazul ionilor de cobalt(II). În spectrele electronice de absorbție apare un maximum la 375 nm, 373 nm și 390 nm, respectiv pentru cupru, nichel și cobalt. Toate acestea vorbesc despre faptul că în condițiile indicate ar putea avea loc formarea unor compuși coordinativi ai $[H_2L]Cl$ cu metale indicate. În Figura 3 sunt redată spectrele electronice de absorbție pentru ligand și complexul cuprului(II).

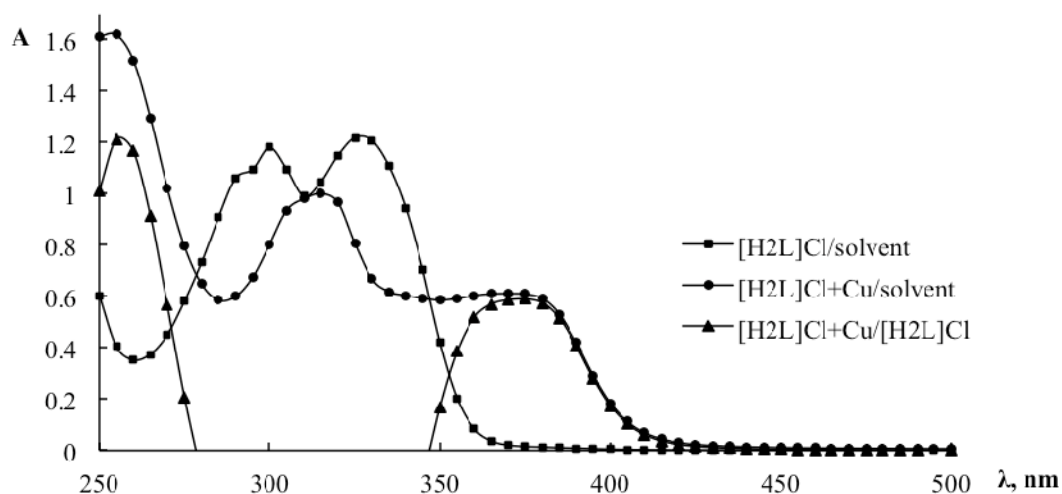


Fig.3. Modificarea spectrului soluției [H₂L]Cl la adăugarea sărurilor de cupru (pH = 5.50, C(Cu²⁺) = C([H₂L]Cl) = 6·10⁻⁵ M).

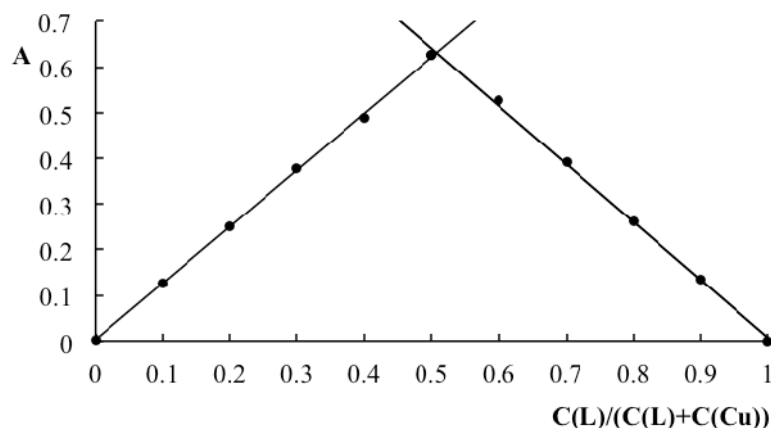


Fig.4. Curba variațiilor continue în sistemul Cu(II) + [H₂L]Cl pentru concentrația sumară C(Cu²⁺) + C([H₂L]Cl)=1.2·10⁻⁴ M, pH=5.45, λ=375 nm.

Prin studiul spectrofotometric al procesului de formare a compușilor coordinativi a fost determinat domeniul optim de formare, raportul molar de combinare, absorbivitatea molară și stabilitatea speciei dominante. Compușii formați sunt stabili în timp și păstrează în soluții o valoare constantă a absorbției timp de cel puțin trei ore. Raportul molar de combinare a fost studiat prin metoda variațiilor continue la diferite concentrații și confirmat prin metoda raporturilor molare. În figurile 4, 5 și 6 aceste experiențe sunt exemplificate prin rezultatele obținute pentru cupru.

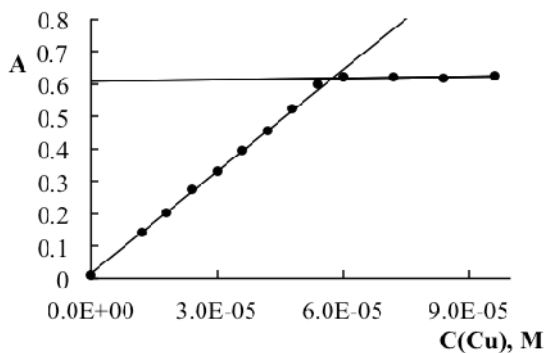


Fig.5. Dependența absorbției la λ=375 nm de concentrația cuprului (pH=5.45, C([H₂L]Cl)_{const}=6·10⁻⁵ M).

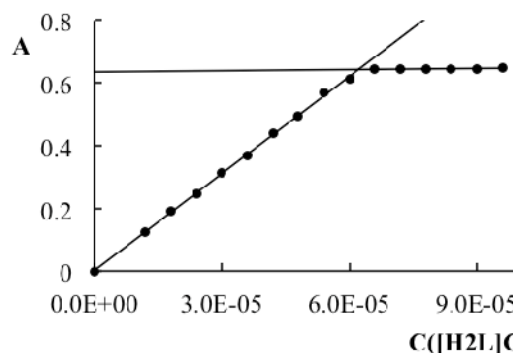


Fig.6. Dependența absorbției la λ=375 nm de concentrația ligandului (pH=5.45, C(Cu)_{const}=6.02·10⁻⁵ M).

Absorbivitatea molară și constantele de stabilitate au fost calculate folosind metoda raporturilor molare și metoda Komari [11]. În Tabelul 1 sunt prezentate valorile parametrilor principali ai compușilor coordinativi cu ionii metalelor cercetate.

Tabelul 1

Caracterizarea complexilor $[H_2L]Cl$ cu cupru(II), nichel(II) și cobalt(II)

Parametrul considerat	Cu(II)	Ni(II)	Co(II)
Maximumul în spectrul electronic (nm)	375	373	390
Raportul de combinare metal:ligand	1:1	1:1	1:2
Domeniul optim de formare (pH)	4.7-5.9	6.0-6.6	5.0-6.1
Absorbivitatea molară (ϵ , $\text{mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}$)	10050	11040	12260
Stabilitatea ($\lg\beta$)	7.69	5.66	12.27

Analiza rezultatelor arată că $[H_2L]Cl$ nu este selectiv. Maximurile în spectrele electronice de absorbție diferă puțin, fiind situate în același domeniu.

Raportul molar de combinare metal:ligand este 1:1 pentru cupru(II) și nichel(II) și 1:2 pentru cobalt(II). Această comportare diferită poate fi explicată de structura generatorilor de complecși, precum și de capacitatea de coordinare a ligandului. Natura legăturilor chimice din reactiv și topologia centrelor de coordinare denotă că tiosemicarbazona studiată poate fi un ligand planar tridentat. Ionii de cupru și nichel au tendința de a forma compuși cu structură plan-pătratică și permite coordinarea unui singur ligand tridentat. Ionul de cobalt formează compuși cu structură octaedrică și raportul de combinare 1:2 pare a fi firesc.

Domeniul de formare a compușilor coordinativi este practic același pentru toți ionii studiați, ceea ce denotă că are loc complexarea cu una din formele deprotonate.

Stabilitatea este mai mare pentru cupru și cobalt. Complecșii acestor metale posedă o absorbivitate molară mare, ceea ce ne permite să testăm reactivul dat pentru determinări spectrofotometrice ale acestor metale.

Curba de etalonare înregistrată pentru fiecare complex la lungimea de undă maximală corespunde liniarității în domeniul de concentrații $(0.6 - 8.4)\cdot 10^{-5}$ M pentru cupru(II), $(0.6 - 7.2)\cdot 10^{-5}$ M pentru cobalt(II) și $(0.7 - 6.2)\cdot 10^{-5}$ M pentru nichel(II).

Pentru determinarea cantitativă a cuprului(II) a fost folosită curba de calibrare a complexului înregistrată la lungimea de undă 375 nm și la pH = 5.45. Pornind de la o soluție standard, care conținea 10^{-2} M de cupru, a fost pregătită o soluție de lucru cu concentrația $C = 3.008\cdot 10^{-4}$ M. În cinci baloane cotate de 25 mL au fost trecute volume diferite de cupru(II), s-a adăugat 5 mL de soluție de reactiv $[H_2L]Cl$ de $6\cdot 10^{-4}$ M și 5 mL soluție tampon cu pH = 5.45 și a fost adăugată apă până la cotă. A fost măsurată absorbanta soluțiilor în cuve de 1 cm la lungimea de undă 375 nm, folosind soluția de comparație preparată din același volum de reactiv și soluție tampon fără a adăuga cupru. Concentrațiile soluțiilor finale au fost determinate din curba de etalonare cu ecuația $A=10719C_x - 0.001$ (Fig.6). Rezultatele analizei sunt prezentate în Tabelul 2. Rezultatul mediu găsit este $m(\text{Cu})_{\text{găsit}}=1.909 \pm 0.036$ mg. Eroarea relativă a analizei este de 0.1% și este cuprinsă în limitele erorii admisibile pentru metoda spectrofotometrică de analiză.

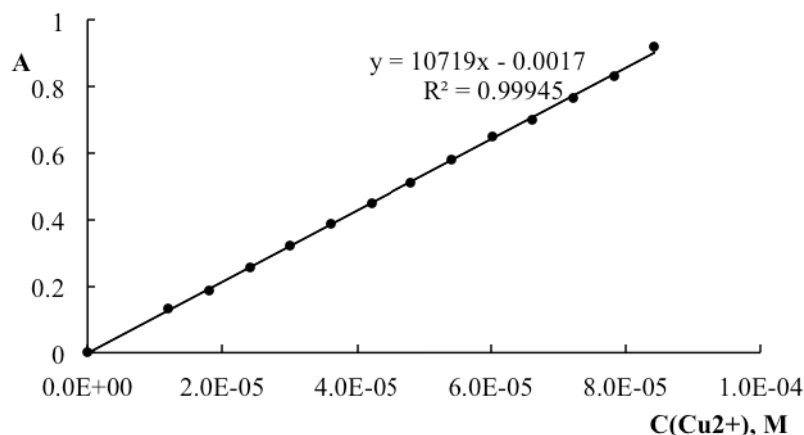


Fig.7. Curba de etalonare pentru $(\text{Cu}^{2+}+[H_2L]Cl)$ la $\lambda=375\text{nm}$. $C([H_2L]Cl)=1.2\cdot 10^{-4}$ M, pH=5.45.

Tabelul 2

Rezultatele determinării cantitative a cuprului(II) prin metoda curbei de etalonare

A_x	$C_x \cdot 10^5 \text{ M}$	$C_x \cdot 10^4 \text{ M}$	$m(\text{Cu})_{\text{introduș}}$, mg	$m(\text{Cu})_{\text{găsit}}$, mg
0.250	2.3444	2.9305	1.911	1.862
0.347	3.2428	3.0026		1.908
0.451	4.2121	3.0086		1.911
0.547	5.1077	3.0400		1.932
0.651	6.0860	3.0430		1.933

Din analiza spectrelor electronice de absorbție ale compușilor coordinativi ai cuprului și cobaltului pot fi alese două lungimi de undă ce pot permite determinarea cantitativă a cuprului și cobaltului în amestec prin metoda spectrofotometrică.

Pentru analiza amestecului au fost selectate două lungimi de undă – 375 nm și 410 nm, la care valorile absorbivității molare a complexilor cercetați diferă: $\epsilon_{375}(\text{Cu}^{2+})=10887 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{410}(\text{Cu}^{2+})=1147 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{375}(\text{Co}^{2+})=12745 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{410}(\text{Co}^{2+})=11055 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Pornind de la soluții standard de cupru și cobalt, au fost preparate soluții de analizat cu un raport diferit de cupru și cobalt. Complexarea a fost asigurată de o concentrație a reactivului $C([\text{H}_2\text{L}]\text{Cl})=1.68 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ și o soluție tampon cu $\text{pH}=5.45$. Soluțiile de analizat au fost măsurate și la $\lambda=375 \text{ nm}$ și $\lambda=410 \text{ nm}$. Rezultatele analizei sunt prezentate în Tabelul 3. Eroarea relativă a analizei 3.2% pentru cobalt și 1.9% pentru cupru satisface erorile admisibile în metoda spectrofotometrică.

Tabelul 3

Rezultatele analizei amestecului de cupru(II) și cobalt(II) cu $[\text{H}_2\text{L}]\text{Cl}$ prin metoda spectrofotometrică

A_{375}	A_{410}	$C(\text{Co}) \cdot 10^4, \text{ M}$	$C(\text{Cu}) \cdot 10^4, \text{ M}$	$m(\text{Co})_{\text{intr}}$, mg	$m(\text{Co})_{\text{găsit}}$, mg	$m(\text{Cu})_{\text{intr}}$, mg	$m(\text{Cu})_{\text{găsit}}$, mg
0.987	0.465	3.1018	2.9440	1.768	1.828	1.906	1.871
0.914	0.454	3.0708	2.9174		1.810		1.854
1.006	0.529	3.1092	2.9602		1.832		1.881
0.849	0.447	3.0705	2.9046		1.810		1.846
1.019	0.590	3.1086	2.9469		1.832		1.872
0.716	0.374	3.0746	2.9741		1.812		1.890
0.881	0.520	3.1406	2.9421		1.851		1.869
					(1.825±0.014)		

Reieșind din rezultatele obținute, putem propune metoda dată pentru determinarea microcantităților de cupru și cobalt în cazul când cantitatea de substanță este prea mică pentru a efectua analize clasice, iar tehnici sofisticate cu limită mică de detecție nu sunt în dotarea laboratoarelor.

Concluzii

Tiosemicarbazona aldehidei 5-(metiltrimetilamoniu)salicilice $[\text{H}_2\text{L}]\text{Cl}$ are structură ionică, este solubilă în apă și formează cu ionii de cobalt(II), nichel(II) și cupru(II) compuși colorați caracterizați spectral prin maximum la 390 nm, 373 nm și 375 nm, respectiv. Raportul molar de combinare metal:ligand este 1:1 pentru cupru și nichel și 1:2 pentru cobalt, determinat prin metoda variațiilor continue la diferite concentrații și confirmat prin metoda raporturilor molare. Stabilitatea este mai mare pentru cupru și cobalt. Complecșii acestor metale posedă o absorbivitate molară mare, ceea ce ne-a permis să testăm tiosemicarbazona dată în calitate de reactiv analitic pentru determinări spectrofotometrice ale acestor metale în apă. Curba de etalonare înregistrată pentru fiecare complex la lungimea de undă maximală corespunde liniarității în domeniul de concentrații $(0.6-8.4) \cdot 10^{-5} \text{ M}$ pentru cupru(II), $(0.6-7.2) \cdot 10^{-5} \text{ M}$ pentru cobalt(II) și $(0.7-6.2) \cdot 10^{-5} \text{ M}$ pentru nichel(II). În baza studiului realizat a fost propusă o metodă de determinare a conținutului de cupru și cobalt cu reactivul raportat în apă. Eroarea relativă a analizelor efectuate se încadrează în limitele erorilor admisibile pentru metodele spectrofotometrice.

Referințe:

1. QUIROGA, A.G., RANNINGER, C.N. Contribution to the SAR field of metallated and coordination complexes. Studies of the palladium and platinum derivatives with selected thiosemicarbazones as antitumoral drugs. In: *Coord. Chem. Rev.*, 2004, vol.248, p.119-133.
2. WEST, D.X., LIBERTA, A.E. Thiosemicarbazone complexes of copper(II): structural and biological studies. In: *Coord. Chem. Rev.*, 1993, vol.123, p.49-71.
3. SINGH, R.B., ISHII, H. Analytical potentialities of thiosemicarbazones and semicarbazones. In: *Critical Rev. Anal. Chem.*, 1991, vol.22 (5), p.381-409.
4. REVENCO, M. et al. Studiul spectrofotometric al procesului de complexare a cobaltului cu tiosemicarbazona 8-chinolinaldehidei. În: *Analele Științifice ale USM. Seria „Științe chimico-biologice”*, Chișinău: USM, 2005, p.532-537.
5. GARG, B., JAIN, V.K. Analytical applications of thiosemicarbazones and semicarbazones. In: *Microchemical Journal*, 1988, vol.38, p.144-169.
6. CHUNHUI, H. et al. Cleavage of C-S bonds with the formation of a tetranuclear Cu(I) cluster. In: *Inorg. Chem.*, 2007, vol.46, p.5537-5543.
7. PRIBIL, R. *Complexonii în chimia analitică*. București: Editura Tehnică, 1961.
8. REVENCO, M., SÎRGHIE, I., CHETRUȘ, P. *Titrimetrie*. Chișinău: USM, 1998. 275 p.
9. ЛУРЬЕ, Ю.Ю. *Справочник по аналитической химии*. 5-издание. Москва: Химия, 1988.
10. ENYEDY, E.A. et al. Complex-formation ability of salicylaldehyde thiosemicarbazone towards Zn(II), Cu(II), Fe(II), Fe(III) and Ga(III) ions. In: *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2012, p.1-13.
11. БУЛАТОВ, М., КАЛИНКИН, И.П. *Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа*. 2-е издание. Ленинград: Химия, 1968.

Notă: Lucrarea a fost efectuată în cadrul Proiectului Instituțional 15.817.02.28F.

Prezentat la 27.04.2016



Academicianul Aurelian GULEA – o personalitate devotată Alma Mater

Când Omul ajunge la etapa realizărilor multiaspectuale, de regulă, în momentul atingerii unui jubileu, se oprește puțin din alergătură, se uită la sine dintr-o parte, examinează toate reușitele, biruințele (în luptă cu insuccesele), își apreciază culmile atinse pe parcursul vieții, face o comparație între „ce este” și „ce ar fi fost dacă”, neapărat se luminează la față și mulțumește Domnului *pentru ziua de ieri, cea de azi, dar, mai ales, pentru cea de mâine.*

Acest Om poate fi asemuit cu Aurelian Gulea, academician, doctor habilitat, profesor universitar, șef al Departamentului Chimie la Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică a USM.

Dacă e să ne referim la rezultatele academicianului Aurelian Gulea, contribuția acestei personalități în dezvoltarea științei și educației universitare nu poate fi cuprinsă și estimată pe deplin, deoarece Domnia Sa se

află și acum în vârful realizărilor, fiind într-o formă fizică, intelectuală și creativă excelentă.

Academicianul Aurelian Gulea a parcurs un drum lung și bogat în realizări. Pe parcursul acestei călătorii în domeniul educației și cercetării Dumnealui a demonstrat perseverență, creativitate, capacitate enormă de a cunoaște lucruri noi și de a atinge scopul urmărit.

Chimia l-a cucerit pe Aurelian Gulea încă de pe băncile școlii medii din satul natal Baraboi și, ca urmare, l-a adus în calitate de participant la olimpiadele republicane, după care și-a urmat studiile la Facultatea de Chimie a Universității de Stat din Moldova.

Calea spre succesul științific și profesional a fost lungă: student la USM, doctorand la Institutul Rădii din Sankt Petersburg, colaborator științific la Institutul de Chimie al AȘM, lector superior la USM, profesor invitat la Universitatea din Algeria, conferențiar universitar, profesor universitar, șef de catedră, director al Departamentului Chimie la Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică a USM, academician coordonator al Secției Științe ale Naturii și Exacte a Academiei de Științe a Moldovei.

Din anii '70 ai secolului trecut și până astăzi viața și activitatea profesională a lui Aurelian Gulea este asociată cu Universitatea de Stat din Moldova. Pe parcursul activității didactico-științifice academicianul Aurelian Gulea a avut mai multe propuneri și invitații atractive și prestigioase, dar Domnia Sa a rămas un patriot fidel al Alma Mater, căreia i-a dedicat 50 de ani de activitate și realizări.

Prin rezultatele științifice valoroase pe care le-a obținut în domeniul chimiei anorganice și coordinative, îndeosebi: realizarea studiilor privind stereochemia, structura electronică și stereodinamica reacțiilor de asamblare a combinațiilor coordinative ale cobaltului și altor metale, aplicarea spectroscopiei de rezonanță magnetică multinucleară în chimia coordinativă, elaborarea noilor tehnologii, sintetizarea preparatelor cu aspect aplicativ în medicină, biotehnologii, agricultură și crearea școlii științifice ***Stereochimia și Stereodinamica reacțiilor de asamblare a combinațiilor coordinative***, Domnia Sa a demonstrat un orizont larg al capacităților de abordare și soluționare originală a diverselor probleme științifice și s-a afirmat ca un cercetător de talie mondială. Acest adevăr este confirmat prin publicațiile sale științifice, printre care 15 monografii și manuale, inclusiv 5 în limbile franceză și engleză, peste 800 de publicații științifice în prestigioase reviste de specialitate intrate în circuitul internațional.

Este substanțială contribuția academicianului Aurelian Gulea la pregătirea specialiștilor de înaltă calificare și a cadrelor științifice: 15 teze de doctor și de doctor habilitat susținute sub conducerea științifică a Domniei Sale, 5 teze de doctor și 2 teze de doctor habilitat în domeniul chimiei anorganice în curs de elabo-

rare, peste 100 de teze de licență și de masterat. Toate acestea constituie un argument convingător privind capacitățile caracteristice unui savant și manager modern și reprezintă o dovadă a unei concepții filosofice superlative față de misiunea omului în general și cea a cercetătorului și conducătorului în special.

Rezultatele prodigioase în strategia de elaborare a inhibitorilor moleculari antitumorali de o nouă generație, design-ul și sinteza chimică a inhibitorilor moleculari cu proprietăți biomedicale au fost apreciate la justa lor valoare la prestigioase expoziții și saloane de inventică internaționale din Belgia, Polonia, Malta, Spania, Franța, SUA, Canada, Elveția, Rusia, România, Coreea de Sud etc.

Pe parcursul activității științifice academicianul Aurelian Gulea a devenit deținător al numeroaselor titluri onorifice de talie mondială: Membru al Academiei de Științe din New York; Membru de Onoare al Consiliului Institutului de Relații Internaționale UNESCO, Paris; Comandor al Ordinului „Meritul Inventiv” al Regatului Belgiei; Titular al Medaliei de Aur pentru Servicii eminente aduse Cauzei Progresului, ICEPEC, Bruxelles; Comandor al Ordinului European de Merit, Bruxelles; deținător al Medaliei Marie-Sklodowska Curie în domeniul Chimiei, Warsovia și altele.

Comunitatea chimiștilor de la Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică a Universității de Stat din Moldova se mândrește că unul din Seniorii facultății, dl Aurelian Gulea, director al Departamentului Chimie, academician, profesor universitar, a fost onorat cu titlul *Doctor Honoris Causa* al Universității „Alexandru Ioan Cuza” din Iași, al Universității din București, al Universității G.Bacovia din Bacău, România. Aceste aprecieri internaționale reprezintă un argument convingător ce denotă importanța și valoarea rezultatelor științifice obținute de către mult stimatul coleg, recunoașterea dlui Aurelian Gulea drept unul dintre cei mai mari reputați chimiști din spațiul românesc.

În condițiile actuale, când științele exacte se confruntă cu diverse probleme de dezvoltare, când posibilitățile de angajare în țară a specialiștilor din ramura dată sunt limitate de nivelul redus al economiei, Domnia Sa a depus un efort enorm întru fondarea unei noi specialități cu perspective mari – *chimia biofarmaceutică*. Specialitatea respectivă este bazată pe rezultatele impunătoare ale Școlii științifice a academicianului Aurelian Gulea. Chimia biofarmaceutică este specialitatea care oferă noi posibilități în studierea proprietăților fizice, chimice și biochimice ale preparatelor farmaceutice, schimbărilor în compoziția acestora în procesul de obținere, prelucrare, păstrare și administrare, precum și în elaborarea metodelor de sinteză dirijată, purificare, standardizare și control al calității și purității preparatelor farmaceutice. Scopul principal al noii specialități constă în sinteza dirijată a substanțelor chimice cu proprietăți fiziologice pronunțate, precum și în utilizarea complexă a metodelor fizice, chimice, fizico-chimice și biochimice în procesul de sinteză, purificare, determinare a calității și efectului biologic al preparatului asupra organismului viu. Dezvoltarea procedurilor de sinteză a unor produse cu efect biologic preconizat și controlul purității și calității acestora va permite soluționarea unor probleme de sănătate umană. Argumentele convingătoare bazate pe rezultatele fundamentale obținute în cadrul cercetărilor, avizele organelor abilitate s-au soldat cu introducerea prin Lege Organică în domeniul de formare profesională Chimie a unei noi specialități – Chimie biofarmaceutică.

Activitatea academică realizată cu succes și rezultatele remarcabile ale omagiatului sunt apreciate cu înalte distincții de Stat – Ordinul *Gloria Muncii* și Titlul *Om Emerit*. Academicianul Aurelian Gulea reprezintă pentru noi un exemplu de dăruire de sine pentru dezvoltarea și prosperarea Republicii Moldova.

În aceste frumoase zile de primăvară, când se trezește la viață întreaga natură, Vă aducem sincere felicitări, Domnule Aurelian Gulea! Pentru noi este o onoare că faceți parte din colectivul Facultății de Chimie și Tehnologie Chimică a Universității de Stat din Moldova. Multă sănătate, prosperitate, optimism, noi realizări științifice ambițioase, perspective îndrăznețe, inspirație pentru alte împliniri frumoase. Vă dorim să fiți sănătos, plin de energie și inspirație, să Vă simțiți mereu apreciat și respectat! Rezultate maxime în tot ceea ce faceți, visele de astăzi să devină realizate, căldură și dragoste în suflet. La mulți ani!!!

Viorica Gladchi,
doctor, conferențiar universitar,
decanul Facultății de Chimie și Tehnologie Chimică
a Universității de Stat din Moldova

Exigență, competență, măiestrie...

În luna florarului, într-un an îndepărtat, în satul Niorcani, raionul Dondușeni din nordul Moldovei, s-a născut Ariadna Strungaru. A urmat calea tradițională, iar în 1968 a absolvit prestigiosul Institut Pedagogic din Tiraspol. Și-a început activitatea în calitate de profesor în școala medie, a colaborat activ la ziarul „Tinerimea Moldovei”. Din 1974 activează în calitate de redactor în secția Poligrafie Operativă a Universității de Stat din Moldova, iar din iulie 2003 îndeplinește funcția de șefa Secției Redactare la Centrul Editorial-Poligrafic al universității.

Venită la USM cu peste 40 de ani în urmă, Ariadna Strungaru muncește cu dăruire de sine, contribuind la perfecționarea producției didactice, metodice și științifice universitare editate în cadrul universității și la alte centre editorial-poligrafice din Republica Moldova.

Profesorii universitari – autori de monografii, manuale, prelegeri, materiale didactice, articole științifice – apreciază înalt exigența și măiestria doamnei Strungaru. Colegii de serviciu o respectă profund pentru calitățile pe care le demonstrează în cadrul activității: corectitudine, exigență, inteligență, competență.

Acest florar aniversar al doamnei Strungaru – 2016 – ne oferă un prilej deosebit de a-i adresa cele mai sincere felicitări și urări de bine, alături de tradiționalul LA MULȚI ANI. Fie ca munca depusă să-i fie răsplătită înșutit, dragostea de viață s-o însoțească mereu, iar energia și dorința de noi realizări care au caracterizat-o dintotdeauna să-i rămână călăuză.

Cineva spunea că orice om pe care îl întâlnim în viața noastră este o carte deschisă din care putem citi și concluziona. Asemenea unei cărți este și doamna Strungaru, reprezentând o personalitate puternică, ce emană căldură, omenie și bunătate.

La Mulți Ani, mult stimata noastră Ariadna Strungaru!!!



***Colegii din cadrul Institutului Cercetare și Inovare,
și al Centrului Editorial-Poligrafic al USM***