

9. Лугаускас А. Ю., Микульскине А. И., Шляужене Д. Ю. Каталог микромицетов-биодеструкторов. — М.: Наука, 1987.—340 с.
10. Методи експериментальної мікології. Справочник / Под ред. В. И. Билай. — Киев: Наук. думка, 1989.—550 с.
11. Руденко А. В., Коваль Э. З. Медицинские и санитарные аспекты микодеструкции пищевых продуктов и промышленных материалов // Вісник Одеського національного університету.—2001.—6, вип. 4.—С. 266—269.
12. Савельев Ю. В. Полиуретаны, обладающие биологической активностью // Доповіді НАН України.—1997.—№ 11.—С. 147—151.
13. Савельев Ю. В., Греков А. П., Коваль Э. З., Веселов В. Я. Биостойкость линейных полиуретанов // Укр. хим. журн.—1997.—63, № 5/6.—С. 70—73.
14. Савельев Ю. В., Робота Л. П., Руденко А. В., Коваль Э. З. Полимерные материалы, стойкие к биокоррозии в условиях замкнутого пространства: пути создания. // Космічна наука і технологія. Додаток.—2003.—9, № 2.—С. 24—26.
15. Середницький Я. А., Коваль Э. З., Теодорович Д. О. и др. Устойчивость к грибной коррозии и биологическому обрастанию некоторых полиуретановых эластомеров // Микробиол. журн.—1978.—40, № 1.—С. 20—25.
16. Черноукова З. Г., Новоспасская Н. Ю., Емельянов Д. Н., Смирнов В. Ф. Новые олово- и цинксодеждающие полимеры для защиты материалов от биоразрушений // V Междунар. научно-практическая конф. «Современные проблемы биологических повреждений материалов. Биоповреждения — 2002», Пенза, 19—20 ноября 2002 г. — Пенза: Дом науч.-техн. пропаганды, 2002.—С. 118—120.
17. Molitoris H. P. Fungi in space-related research // Укр. ботан. журн.—1990.—47, № 5.—С. 70—77.
18. Taylor G. R. Henney M. R., Ellis W. Z. Changes in the fungal autoflora of Apollo Astronauts // Appl. Microbiol.—1973.—26, N 5.—P. 804—813.
19. Wang Daxi, Li Snuyuan, Ying Yu., et al. Theoretical and experimental studies of structure and inhibition efficiency of imidazoline derivatives // Corr. Sci.—1999.—41, N 10.—P. 1911—1919.

CONCEPTUAL ASPECTS IN CREATION OF FUNGUS-RESISTANT POLYURETHANS HAVING SPECIAL PURPOSE

A. V. Rudenko, Yu. V. Saveliev, E. Z. Koval, L. I. Lenova, E. M. Voloschuk

Based upon peculiarities of the structure of synthesized polyurethanes which allows one to include additional groups and heteroatoms in the process of construction of fungus-resistant variants, the passive way of protection by means of introducing the Zn, Cu, Sn ions of metals (they were inaccessible for micromycetes) into the structure of macromolecules is used. The synthesized polyurethanes, the macromolecule of which contains the fragments of Sn, Zn, Cu and Pb acetylacetonates, manifested the contact fungicide action on those micromycete strains which were detected in the orbital station. It should be noted that its activity was demonstrated in inhibiting the process of spore sprouting and vitality maintaining during 3 to 10 days, with lysis of cell wall to follow.

УДК [578.864+633.11]:57.043:577.359

© Л. Т. Міщенко, В. В. Тороп, І. А. Міщенко

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ВПЛИВ КЛИНОСТАТУВАННЯ НА ЕЛЕКТРОПРОВІДНІСТЬ ТКАНИН ВІРУСІНФІКОВАНИХ ЛИСТКІВ ПШЕНИЦІ

Подаються результати дослідження електропровідності тканин інтактних листків пшениці сорту Апогей, інфікованої вірусом смугастої мозаїки та вирощеної за умов модельованої мікрогравітації. Показано, що вимірювання електропровідності може бути ефективним для виявлення фізіологічних змін у рослинах, спричинених впливом дії абіотичного та біотичного чинників.

ВСТУП

При створенні автотрофної ланки в контрольованих екологічних системах життєзабезпечення космонавтів при тривалих космічних місіях необхідно здійснювати повний онтогенез здорових сільськогосподарських рослин кількох поколінь. Можлива присутність деяких мікроорганізмів та вірусів в екосистемі орбітальної космічної станції вимагає всебічного вивчення їхньої взаємодії з рослинами-хазяями в умовах модельованої мікрогравітації. Перші дослідження в цьому напрямку проведено з рослинами пшениці різних сортів, інфікованими

вірусом смугастої мозаїки пшениці (ВСМП) [12, 13]. Імунологічними методами виявлено феномен елімінації вірусу після тривалого клиностатування уражених рослин [4, 5].

Для детальнішого вивчення особливостей фізіологічних процесів, що відбуваються в рослинах, інфікованих вірусом, в умовах модельованої мікрогравітації на різних рівнях організації біологічних об'єктів та з'ясування механізмів цих взаємовідносин необхідно застосовувати сучасні прилади, точні експресні методи, що дозволяють проникати в саму сутність досліджуваних процесів і явищ, не пошкоджуючи при цьому рослину. На клітинному

рівні складні фізіолого-біохімічні процеси та їхні адаптивні зміни зобов'язані функціям клітинних мембран та органел. Дія стресових чинників призводить до пошкодження клітинних структур, і в першу чергу цитоплазматичних мембран — найчутливішого і найслабшого ланцюга. Застосовуючи біофізичні методи дослідження, можна дуже швидко отримати дані про ступінь дезорганізації авторегуляторного механізму у межах дії чинників зовнішнього середовища, при яких порушується координація реакцій.

Експрес-метод реєстрації зміни електропровідності (ЕП) застосовується для дослідження різноманітних фізіологічних процесів, що відбуваються в тканинах рослин як в оптимальних умовах, так і за стресових ситуацій [6, 8, 9]. Гравістимульовані зміни ЕП кореня досліджено в роботі [7]. Пошкодження цитоплазматичних мембран тканин рослин-хазяїв до і під час видимих змін в ході реакції надчутливості, індукованої вірусною інфекцією, спостерігали в роботі [15].

Мета нашої роботи — дослідити ЕП тканин інтактних листків рослин пшениці сорту Апогей при взаємодії двох чинників — біотичного (вірусна інфекція) та абіотичного (клиностакування).

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проводили на універсальному клино-статі «Цикл-2» згідно з описаною раніше методикою [13]. Досліджували рослини пшениці суперкарликового сорту Апогей, створеного спеціально для вирощування на орбітальних станціях. Як об'єкт вірусологічних досліджень використовували ВСМП. В дослідних варіантах у фазі двох листків проводили інокуляцію соком хворих рослин на фосфатному буфері рН 7.2, а в контрольних — самим лише буфером. Виявлення антигену ВСМП в інфікованих рослинах здійснювали методом твердофазного імуоферментного аналізу (ІФА), *das-ELISA*, з використанням специфічних діагностичних сироваток та електронної мікроскопії [5]. Для кількісного визначення вмісту вірусу в тканинах листків використовували показники оптичної щільності E продуктів ферментативної реакції, які вимірювали на рідері фірми Termo LabSystems Opsis^{MR} з програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklik (США) при довжинах хвиль 405/630 нм.

Відносну оптичну густину продуктів ферментативної реакції дослідних зразків визначали за формулою $E = E_i/E_k$, де E_i — оптична густина в ІФА інфікованого зразка, E_k — оптична густина в ІФА контрольного зразка здорових рослин.



Рис. 1. Вимірювання електропровідності тканин листків пшениці електроміром Е7-13

Для модельних досліджень використовували різні злакові культури: пшеницю сортів Миронівська-65, Миронівська-67, Колективна-3, Одеська-167; вівси сортів Таращанський, Скакун; ячмені сортів Рось, Таращанський — інфіковані ВСМП; а також томати сорту «Грушка красная», інфіковані вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ).

Електропровідність ЕП тканин листків пшениці сорту Апогей вимірювали на 14-ту добу після інфікування в мікросименсах (мкСм) електроміром Е7-13 (рис. 1), оснащеним двома голчастими молібденовими електродами, відстань між якими 9 мм [6]. В модельних дослідах визначали зміну EP_3 електропровідності тканин листків за формулою $EP_3 = |EP_i - EP_k|$, де EP_3 — абсолютне значення зміни, EP_i , EP_k — електропровідності тканин листків інфікованих та здорових рослин відповідно.

Вміст сухої речовини визначали ваговим методом на 34-ту добу після інфікування.

Схема дослідю:

- Контроль
 - Інфіковані рослини
 - Контроль, вертикальне клиностакування, радіус обертання контейнерів $R = 1.6$
 - Інфіковані рослини + вертикальне клиностакування, радіус обертання контейнерів $R = 1.6$
 - Інфіковані рослини + горизонтальне клиностакування
 - Інфіковані рослини + вертикальне клиностакування, радіус обертання контейнерів $R = 1.0$
- Кількість рослин у вибірці — по три для кожного варіанту, кількість вимірювань — по десять для

кожної рослини (тридцять для варіанту). В таблицях наведено середні значення та їхні стандартні похибки ($M \pm \sigma$).

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програм Microsoft Excel, AGROSTAT.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В модельних експериментах при апробації методу вимірювання ЕП тканин інтактних листків в комплексі з імунологічним та електронно-мікроскопним методами діагностики нами встановлено його високу чутливість та придатність для виявлення первинних реакцій рослин на стреси, викликані абіотичними та біотичними чинниками. Вже через добу після інокуляції ВТМ томатів сорту «Грушка красная» виявлено істотні зміни в показниках ЕП уражених рослин (рис. 2).

ВСМП — найбільш поширений та шкодочинний специфічний патоген, який інфікує зернові культури, локалізуючись в цитоплазмі молодих листків [1]. Після штучної інокуляції інтенсивна репродукція вірусу починається на 12—14-ту добу. Він діагностується імуноферментними (ІФА), молеку-

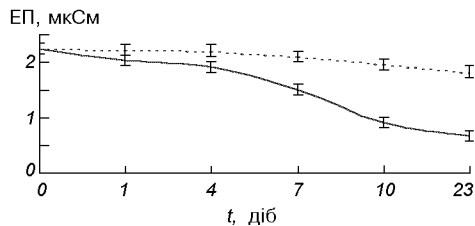


Рис. 2. Визначення ЕП томатів сорту «Грушка красная» в динаміці інфекційного процесу: суцільна лінія — ВТМ-інфікованих, пунктир — контрольних

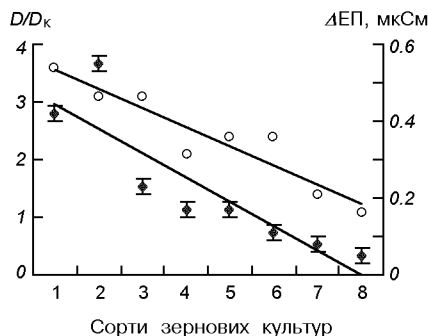


Рис. 3. Зміна ЕП на 5-ту добу та відносна оптична густина продуктів ферментативної реакції в ІФА на 16-ту добу після інфікування ВСМП: 1 — пшениця Миронівська-67, 2 — пшениця Миронівська-65, 3 — пшениця Колективна-3, 4 — пшениця Одеська-167, 5 — овес Таращанський, 6 — овес Скакун, 7 — ячмінь Таращанський, 8 — ячмінь Рось

лярно-генетичними, електронно-мікроскопними методами [1, 5]. В цей період з'являються специфічні візуальні симптоми (хлоротичні плями та світло-зелені смужки). Методом вимірювання ЕП тканин інтактних листків виявлено особливості реакції на вірусну інфекцію у різних за чутливістю сортів зернових культур (рис. 3). Простежувалася пряма залежність (коефіцієнт кореляції $r = 0.81$) між зміною показників ЕП на 5-ту добу та відносною оптичною густиною продуктів ферментативної реакції на 16-ту добу після інокуляції. У чутливих до вірусної інфекції культур та сортів вже на 5-ту добу після інокуляції, ще до появи візуальних симптомів захворювання, істотно зросли показники ЕП, тоді як у толерантних вони не змінилися або дещо знизилися. Зміна ЕП тканин, яка корелює з кількістю патогену, очевидно, зумовлена порушеннями цілісності клітинних стінок рослин-хазяїв під впливом вірусної інфекції у чутливих генотипів та захисними реакціями, що розвиваються у відповідь на біотичний стрес у толерантних сортів. Це узгоджується також з висновками роботи [2]. За зміною ЕП та кількістю вірусного АГ що виявлявся в ІФА, досліджувані зернові культури розмістилися в такому порядку: пшениці Миронівська-67 > Миронівська-65 > Колективна-3 > Одеська-167 > вівси Таращанський > Скакун > ячмені Таращанський > Рось. Толерантність досліджуваних культур і сортів до вірусної інфекції в приведеному ряду зростає.

Після осіннього інфікування зареєстровано статистично достовірне зниження показників ЕП в базальній частині листкової пластинки хворих рослин пшениці, порівняно із здоровими в фазу цвітіння, яке можна використовувати як тестовий показник для попередньої експрес-діагностики вірусних хвороб у польових умовах (рис. 4). В наших дослідженнях, проведених на рослинах пшениці сорту Апогей, на 14-ту добу після інокуляції ВСМП світло-зелений хлороз з'явився лише в нерухомих інфікованих рослинах.

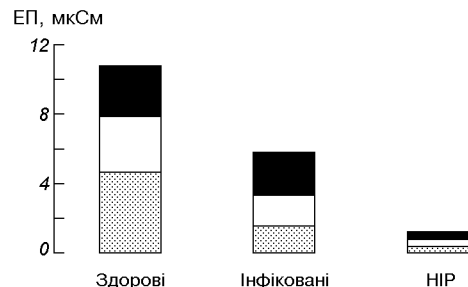


Рис. 4. Показники ЕП в різних ділянках листкової пластинки пшениці сорту Миронівська-65: чорний колір — верхня ділянка, білий — центральна, сірий — базальна ділянка. Найменша істотна різниця (НІР) на рівні 5 % дорівнює 0.40 мкСм

Таблиця 1. ЕП тканин листків пшениці сорту Апогей на 14-ту добу після інфікування

Варіант досліджу	ЕП, мкСм	Зміна ЕП, % до контролів
Контроль	2.4±0.13	100
Інфіковані рослини	1.4±0.17	-41
Вертикальне клиностатування, здорові R = 1.6	1.6±0.12	100
Інфіковані рослини вертикальне клиностатування R = 1.6	1.9±0.15	+16
Інфіковані рослини горизонтальне клиностатування	2.05±0.13	+22
Інфіковані рослини вертикальне клиностатування R = 1.0	1.7±0.12	неістотна

Показники ЕП молодих листків рослин пшениці сорту Апогей, вирощених в умовах мікрогравітації та контрольних (нерухомих) на 14-ту добу після інфікування представлено в табл. 1. Виявлено істотне зниження ЕП тканин молодих інтактних листків рослин сорту Апогей, уражених вірусом, у порівнянні із здоровими — на 42 %, а також клиностатованих — у порівнянні з нерухомими — на 12—33 %, в залежності від радіусу обертання контейнерів.

За умов модельованої мікрогравітації при вертикальному клиностатуванні з радіусом обертання 1.6 показники ЕП інфікованих рослин зросли у порівнянні з контрольним варіантом на 16 %; при горизонтальному клиностатуванні — на 22 %, а при вертикальному клиностатуванні з радіусом обертання 1.0 — істотно не змінилися. Зниження ЕП тканин листків при дії абіотичного чинника (клиностатування) викликане, очевидно, зміною стану клітинних стінок [3]. Вони в умовах мікрогравітації стають тоншими, втрачають кальцій, а отже, змінюється їхня проникність, листки легше втрачають воду, оскільки порушуються і процеси транспірації. У рослин при клиностатуванні збільшується вміст сухої речовини (табл. 2). Через 34 доби після інокуляції виявлено істотне підвищення вмісту сухої речовини в тканинах вірусінфікованих рослин по відношенню до контролю в статичних умовах та, відповідно, їхнє зниження — в умовах клиностатування. Простежується обернена залежність між ЕП тканин листків на 14-ту добу та вмістом сухої речовини на 34-ту добу після інфікування.

Досліджуючи вплив різних способів підживлення на ріст розсади в контейнерах, автори роботи [14] також виявили, що зразки з більшою сухою вагою мали меншу ЕП. Отже, зниження ЕП листків, уражених вірусною інфекцією, може бути зумовлене процесами старіння всього організму: на тканинному рівні — підвищенням вмісту сухої речовини,

Таблиця 2. Вміст сухої речовини в тканинах листків пшениці сорту Апогей на 34-ту добу після інфікування

Варіант	Вміст сухої речовини, %	Зміна вмісту, % до контролів
Контроль	15.7±0.05	100
Інфіковані рослини	18.6±0.03	+16
Вертикальне клиностатування, здорові R = 1.6	18.0±0.04	100
Інфіковані рослини вертикальне клиностатування R = 1.6	16.0±0.02	-13
Інфіковані рослини горизонтальне клиностатування	14.8±0.02	+22
Інфіковані рослини вертикальне клиностатування R = 1.0	17.8±0.04	неістотна

а на клітинному рівні — зміною проникності мембран та ультраструктурними перебудовами, що відбуваються внаслідок запрограмованої смерті клітин (апоптозу) [1].

В нашому досліді при горизонтальному та вертикальному клиностатуванні з радіусом 1.6 показники ЕП тканин листків інфікованих рослин істотно перевищували контроль і практично не відрізнялись від тих, що були зареєстровані для здорових нерухомих рослин. Слід зазначити, що у вірусінфікованих рослин за умов клиностатування не тільки не погіршуються, а навіть поліпшуються деякі елементи продуктивності.

Автори роботи [2] вважають, що у природних умовах вирішальна роль у взаємодії фітовірусів і рослин-хазяїв повинна належати останнім, у яких індукція апоптозу, що контролюється генами надчутливості, призводить до локалізації вірусу, некротизації інфікованих клітин, елімінації патогенів та розвитку стійкості до них.

Спираючись на роботи Є. Л. Кордюм [10, 11], в яких досліджено чутливість до мікрогравітації організмів на субклітинному та клітинному рівнях, ми схилиємось до думки, що репродукція прокаріотів в умовах клиностатування може пригнічуватися, в той час як у еукаріотів при взаємодії абіотичного та біотичного чинників індукуються адаптивні реакції.

ВИСНОВКИ

Отже, виявлено істотне зниження показників ЕП тканин інтактних листків вірусінфікованих рослин суперкарликового сорту Апогей на 14-ту добу після інокуляції по відношенню до контролю в наземних умовах та їхнє підвищення — при горизонтальному та вертикальному клиностатуванні з радіусом обертання 1.6.

Метод вимірювання ЕП тканин інтактних листків ефективний для виявлення фізіологічних змін при дослідженні взаємодії вірусної інфекції з рослинами-хазяями в умовах модельованої мікрогравітації.

1. Бойко А. Л., Силаева А. М., Мищенко Л. Т., Решетник Г. В. Особливості ультраструктурної організації клітин мезофілу озимої пшениці за умов вірусної інфекції // Цитология и генетика.—1997.—31, № 5.—С. 71—78.
2. Колесник Л. В., Щербатенко І. С. Особливості інфекційного процесу і захисних реакцій у протоклонів тютюну, відібраних за стійкістю до вірусу тютюнової мозаїки // Доповіді Національної академії наук України.—2003.—№ 1.—С. 161—166.
3. Кордюм Е. Л., Сытник К. М., Белявская Н. А. и др. Современные проблемы космической клеточной фитобиологии. — М.: Наука, 1994.—293 с.
4. Мищенко Л. Т., Бойко А. Л., Чернок С. О. Вплив клинотатування на показники серологічного аналізу вірусу смугастої мозаїки пшениці в рослинах *Triticum aestivum* L. // Биополимеры и клетка.—1999.—15, № 4.—С. 319—323.
5. Мищенко Л. Т., Кюне Т., Мищенко И. А., Бойко А. Л. Инфекционный процесс вируса полосатой мозаики (ВПМП) в клинотатированных растениях пшеницы Апогей // Космична наука і технологія.—2003.—9, № 5/6.—С. 211—215.
6. Тороп В. В. Застосування електрометричних методів у садівництві // Проблеми моніторингу в садівництві. — К.: Аграрна наука, 2003.—С. 145—154.
7. Behrens H. M., Weisenseel M. H., Sievers A. Rapid changes in the pattern of electric current around the root tip of *Lepidium sativum* L. following gravistimulation // Plant Physiol.—1982.—70.—P. 1079—1083.
8. Fensom D. S. On electrical resistance in situ in higher plants // Canadian J. Plant Science.—1986.—46, N 2.—P. 169—175.
9. Harker F. R., Maindonald J. H. Changes in the cell wall, vacuole and membranes detected using electrical impedance

measurements // Plant physiology.—1990.—106, N 1.—P. 165—171.

10. Kordyum E. L. Biology of plant cells in microgravity and under clinostating // Int. Rev. Cytol.—1997.—171.—P. 1—78.
11. Kordyum E. L. Plant growth and development in microgravity // International conference on plant ontogenesis in natural and transformed environments, July 1—4. — Львів: СПОЛОМ.—1998.—P. 11—13.
12. Mishchenko L. T., Silayeva A. M. Effect of Clinostating on Physiological and Biochemical Characteristics of Wheat Plants Infected by the Streak Mosaic Virus of Wheat (SMVW) // Horticulture & Vegetable Crowing (Lithuania).—1998.—17, N 3.—P. 386—394.
13. Mishchenko L. T., Silayeva A. M., Boyko A. L. Effect of simulated microgravity on the virus-infected wheat plants // Abstracts 31st Scientific Assembly of COSPAR 14—21 July, 1996.—The University of Birmingham, England.—P. 385.
14. Purvis P., Chong C., Lumis G. P. Recirculation of nutrients in container nursery production // Canadian Journ. of plant science.—2000.—80.—P.39—45.
15. Wright K. M. Duncan G. H., et al. Analysis of the N gene hypersensitive response induced by a fluorescently tagged tobacco mosaic virus // Plant Physiology.—2000.—123.—P. 1375—1385.

CLINOROTATION EFFECTS ON VIRUS INFECTED WHEAT LEAF TISSUE ELECTRIC CONDUCTIVITY

L. T. Mishchenko, V. V. Torop, I. A. Mishchenko

We present our results on the electric conductivity of Apogee wheat leaf tissue infected with wheat streak mosaic virus and grown under simulated microgravity conditions. It is shown that the electric conductivity measurements may be effective in the detection of physiologic changes in plants caused by the impact of abiotic and biotic agents.

© Н. Ф. Гамалея, Е. Д. Шишко, О. Б. Горобец

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Е. Кавецького
НАН України, Київ

КЛЕТОЧНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ИЗМЕНЕННОЙ ГРАВИТАЦИИ НА ЦИРКАДИАННУЮ РИТМИКУ ЧЕЛОВЕКА

Однією з найважливіших медико-біологічних проблем, пов'язаних з космічними польотами людини, є порушення нормальної часової організації фізіологічних процесів в організмі космонавта: сну, ритмів «спокій-активність», температурної регуляції, метаболічного гомеостазу. Розробка шляхів запобігання цим несприятливим ефектам чи їхнього усунення вимагає фундаментальних досліджень, направлених на з'ясування характеру впливу факторів космічного польоту на хронобіологічну архітектоніку організму людини. Встановлено, що лімфоцити крові людини містять світлочутливий циркадіанний годинник, і культуру цих клітин можна використати як унікальну модель для досліджень впливу космічних факторів, зокрема зміненої гравітації, на циркадіанну (добову) ритміку людини.

Одной из наиболее серьезных медико-биологических проблем, возникающих в связи с пребыванием
204

человека в космосе, является нарушение нормальной временной структуры всех основных физиоло-