

4. Географія рідного краю. Чернівецька область/ Жупанський Я.І., Заячук М.Д., Скрипник Я.П. – Чернівці: Рута, 2000. – 159 с.
5. Гуцулак В.Н. Природные условия средней части Прут-Днистровского междуречья. – Черновцы: ЧГУ 1978. – 111с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
7. Методы почвенной микробиологии и биохимии. / Под ред. Д.Г. Звягинцева, Москва. – 1980. – 224 с.
8. Методика паспортизации природных кормовых угодий / И.А. Цаценкин, О.Н. Чижиков, Н.А. Антипин, М.В. Кавер, М. – 1967. – 127 с.
9. Навчально-кращезнавчий атлас /під редакцією Я.Ш. Жупанського. – Чернівці – 2000.–24 с.
10. Одум Ю. Экология. – М.: Мир, 1986. – Т. 1. – 328 с.
11. Одум Ю. Экология. – М.: Мир, 1986а. – Т. 2. – 376 с.
12. Почвенно-микробиологический мониторинг лесоболотных экосистем западной Сибири / И.Д. Гродницкая, Н.Д. Сорокин // Почвоведение. – 2004. – №8. – С. 945 – 951.
13. Руденко С.С., Филичук Т.В., Ситнікова І.О. Екологічний паспорт пасовищної екосистеми. Методична розробка до курсової роботи для студентів 2-го курсу екологічних спеціальностей. – Чернівці: Рута, 2003. – 30 с.
14. Carter, M.R., Kunelius, H.T. Influence of non-inversion loosening on permanent pasture productivity // Can. J. Soil Sci. – 1998. – Vol.78. – P. 237-239.
15. Charmley E., Jannasch R.W., Boyd J. Grazing behaviour and weight change of cattle turned out to pasture in spring // Can. J. Anim. Sci. – 2003. – Vol. 83. – P. 801-808.
16. Jannasch R.W., Charmley E., Rodd A.V. The effect of spring turnout date on weight gain by cattle on native pasture // Can. J. Anim. Sci. – 2002. – Vol. 82. – P. 575-585.
17. Papadopoulos, Y.A., McKenzie, D.B., McRae et. al. Evaluating the performance of alfalfa cultivars in rotationally grazed pastures // Can. J. Plant Sci. – 2005. – Vol. 85. – P. 147-150.

I.K. Kurdysch, A.O. Roy, S.S. Rudenko, O.Y. Buzhdygan

Institute of microbiology and virology of Ukraine
Chernivtsy National University named by Yrjy Fedkovich

MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PASTURE SOILS IN CHERNIVTSY EGION

Analysis of agrochemical and microbiological properties of burozem and taupe soils of pasture ecosystems in Chernivtsy region was made, correlation between agrochemical and microbiological properties of this soils were discovered.

Key words: *pasture ecosystems, microbiological characteristics, agrochemical analyse*

Рекомендує до друку

Надійшла 23.02.2006

В.В. Трубітко

І.В.ВІДАТ

УДК 579.26: 620.193

С.В. ПРИХОДЬКО, І.М. КУРМАКОВА, О.П. ТРЕТЯК

Чернігівський державний педагогічний університет ім. Т.Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів, 14038

**КІНЕТИКА ПРОЦЕСУ ІНГІБУВАННЯ РОСТУ АСОЦІАЦІЇ
СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ
ПОХІДНИМИ ТРИАЗОЛОАЗЕПІНУ**

Ключові слова: *сульфатвідновлювальні бактерії, мікробно індукована корозія, інгібітори, біоцидна дія, похідні триазолоазепіну.*

Сульфатвідновлювальні бактерії (СВБ) є одним з основних чинників мікробно індукованої корозії (МІК) металів [1]. СВБ приймають безпосередню участь в процесі МІК і розглядаються як замісники кисню в катодній деполаризації заліза в умовах анаеробіозу. Деполаризація заліза під дією СВБ здійснюється завдяки наявності у них ферменту гідрогенази, відповідного за 42

споживання та засвоєння водню в реакції сульфатредукції: $\text{SO}_4^{2-} + 8\text{H} = \text{S}^2 + 4 \text{H}_2\text{O}$. Крім того, на корозійний процес впливають також і продукти метаболізму СВБ (H_2S , HS^- , S^{2-}), які не тільки значно стимулюють МПК, але й викликають наводнення сталі [2-4, 15].

Одним з ефективних засобів захисту металів є використання інгібіторів МПК, які поєднують біоцидну дію по відношенню до корозійно-небезпечних мікробних угруповань та властивості інгібіторів корозії металів [5, 9].

Встановлено [6, 18], що похідні триазолоазепіну з метильним замісником у бензеновому кільці є інгібіторами кислотної корозії сталі та виявляють біоцидну дію на асоціативну культуру СВБ. Для визначення перспективності даних речовин, щодо практичного застосування в якості інгібіторів МПК, необхідно з'ясувати механізм їх дії, як інгібіторів росту мікроорганізмів.

Метою нашої роботи було визначити кінетичні характеристики та тип інгібування росту асоціації СВБ похідними триазолоазепіну з метильним замісником у бензеновому кільці.

Матеріал і методи дослідження

Об'єктом дослідження була асоціація СВБ, яка виділена нами з феросфери кородуючої металевій конструкції методом накопичення на середовищі Постгейта "В" [16]. Титр бактерій в одержаній культуральній рідині визначали методом граничних десятикратних розведень [17] і виводили до корозійно-небезпечної концентрації.

В якості інгібіторів росту асоціативної культури СВБ на середовищі Постгейта "В" досліджували похідні триазолоазепіну з метильним замісником у бензеновому кільці (табл. 1). Середовище Постгейта "В" в герметично закритих флаконах засівали семидобовою суспензією СВБ з початковим вмістом бактерій $10^7 \cdot 10^8$ кл./мл. Експозиція 48 годин при температурі 28°C . Біоциди вносили у вигляді етанольного розчину з розрахунку 100 мг/л середовища. Проводили дві серії вимірювань біомаси бактерій: I серія (контроль: без біоцидів) – при початковій концентрації субстрату $16,1 \cdot 10^{-3}$ М (норма), $8,05 \cdot 10^{-3}$ М, $3,22 \cdot 10^{-3}$ М та $3,22 \cdot 10^{-2}$ М; II серія – при відповідній концентрації субстрату з додаванням досліджуваних речовин [8, 10, 14].

Приріст біомаси СВБ на середовищі Постгейта "В" визначали за вмістом білка по методу Лоурі з використанням реактиву Фоліна [12, 19], що дозволило побудувати криві росту культури СВБ та визначити питому швидкість росту бактерій ($V_{\text{сер}}$) за період часу $t_1 - t_0$ за формулою:

$$V_{\text{сер}} = \frac{2,3(\lg C_1 - \lg C_0)}{t_1 - t_0} \quad [8].$$

Графіки Лайнуівера – Берк – залежності $1/V_{\text{сер}}$ $1/[S]$ – будували за даними табл. 2 (мал.). Графічним методом визначали тип інгібування росту бактерій дослідженими сполуками. Розраховували константу Міхасліса (K_m) та константи інгібування (K_i) росту СВБ для досліджуваних речовин за формулою:

$$K_i = \frac{[I]}{\frac{V_{0,\text{max}}}{V_{0,\text{max},I}} - 1},$$

де $[I]$ концентрація інгібітору, моль/л; $V_{0,\text{max}}$ та $V_{0,\text{max},I}$ – максимальна швидкість реакції без та в присутності інгібітору [10, 11, 13].

Експеримент проводився у трикратній повторності. Відносна похибка визначення приросту біомаси не перевищувала 10 %.

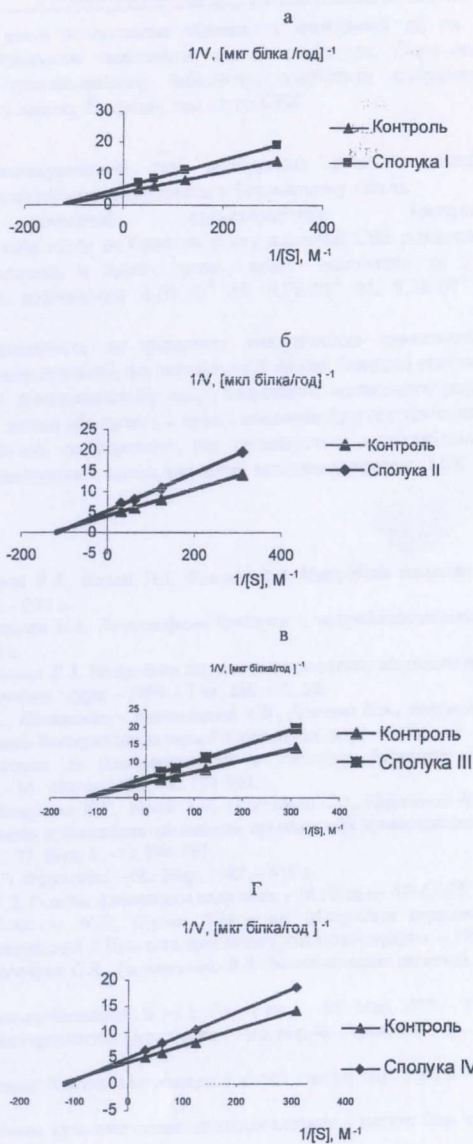


Рис. Залежність питомої швидкості росту бактерій від концентрації субстрату в подвійних зворотних координатах (метод Лайнуїверка – Берк)

Результати досліджень та їх обговорення

Кінетичні криві одержані на основі експериментальних даних за допомогою графічного методу Лайнуївера – Берк, наведено на мал.. Їх аналіз свідчить про неконкурентний тип інгібування росту асоціації СВБ досліджуваними речовинами (табл.1).

Таблиця 1

Кінетичні характеристики та біоцидна дія похідних триазолоазепіну на ріст асоціації СВБ

Сполука		Константа інгібування K_i , М	Характер інгібування	Діаметр зон пригнічення росту асоціації СВБ (мм) при відповідній концентрації речовини [18]		
умовне позначення	формула			0,1 %	0,2 %	2 %
I (метильний замісник в пара-положенні)		$8,69 \cdot 10^{-4}$	неконкурентний	ріст бактерій повністю пригнічено		
II (метильний замісник в орто-положенні)		$9,78 \cdot 10^{-4}$	неконкурентний	21,01±1,0	28,0±2,0	42,7±4,0
III (метильний замісник в мета-положенні)		$9,78 \cdot 10^{-4}$	неконкурентний	25,7±1,9	37,3±2,7	49,3±4,7
IV (два метильних замісника)		$11,10 \cdot 10^{-4}$	неконкурентний	10,0±0,7	10,0±0,9	20,0±1,2

Неконкурентний характер інгібування росту СВБ обумовлено взаємодією біоцидів – похідних триазолоазепіну з ділянками молекули ферменту, які не виконують функцію центру зв'язування субстрату. Це може призводити або до зміни просторової структури ферменту, і як слідство, порушує нормальне зв'язування субстрату, або до зв'язування з фермент-субстратним комплексом.

Визначена константа Міхаеліса дорівнює $8,33 \cdot 10^{-3}$ М, значення констант інгібування росту асоціації СВБ наведено в табл. 1. Повністю пригнічує ріст бактерій сполука I, для якої K_i найменша. Найменшу інгібуючу дію на ріст СВБ проявляє сполука IV що і зумовлює її порівняно слабку біоцидну дію. Виходячи з того, що константа інгібування є величиною зворотною до величини спорідненості ферменту до інгібітору [7], можна зробити висновок про те, що зміна положення метильного радикалу в бензеновому кільці (речовини I – III) з *para*- на *meta*- або *ortho*-, а також введення другого замісника в *ortho*- положення (речовина IV) знижує спорідненість до ферменту відповідної похідної триазолоазепіну. Найбільшу спорідненість до ферменту виявляє *para*-похідна (речовина I), найменшу – речовина IV з двома метильними замісниками у бензеновому кільці.

Таблиця 2

Питома швидкість росту асоціативної культури СВБ при різних концентраціях субстрату без інгібітору (контроль) та в присутності інгібіторів 100 мг/л середовища.

Варіант досліду	Швидкість росту СВБ ($V_{\text{ср}}$, мкг білка/год) при різних концентраціях субстрату (кальцій лактат)			
	$3,22 \cdot 10^{-3}$ М	$8,05 \cdot 10^{-3}$ М	$16,1 \cdot 10^{-3}$ М	$32,2 \cdot 10^{-3}$ М
Контроль	0,071	0,125	0,167	0,192
Сполука I (замісник в пара-положенні)	0,052	0,089	0,119	0,147
Сполука II (замісник в орто-положенні)	0,051	0,093	0,125	0,143
Сполука III (замісник в мета-положенні)	0,051	0,088	0,122	0,138
Сполука IV (два метильних замісника)	0,053	0,096	0,128	0,156

Таким чином, нами встановлена залежність інгібуючої дії на ріст СВБ похідних триазолоазепіну з метильним замісником від їх структури. *Пара*-метильний замісник в бензеновому кільці триазолоазепіну забезпечує найбільшу спорідненість інгібітора до ферменту і, відповідно, високу біоцидну дію щодо СВБ.

Висновки

1. Встановлено неконкурентний тип інгібування росту асоціації СВБ похідними триазолоазепіну з метильним замісником в бензеновому кільці.
2. Розраховані кінетичні характеристики: константа Міхаеліса ($8,33 \cdot 10^{-3}$ М) та константи інгібування росту асоціації СВБ похідними триазолоазепіну з метильним замісником в *пара*-, *орто*-, *мета*- положенні та з двома метильними замісниками, які дорівнюють $8,69 \cdot 10^{-4}$ М, $9,78 \cdot 10^{-4}$ М, $9,78 \cdot 10^{-4}$ М та $11,10 \cdot 10^{-4}$ М відповідно.
3. Найбільшу спорідненість до ферменту має похідна триазолоазепіну з метильним замісником в *пара*-положенні, що забезпечує її високі біоцидні властивості.
4. В ряду похідних триазолоазепіну зміна положення метильного радикалу в бензеновому кільці з *пара*- на *мета*- або *орто*-, а також введення другого замісника в *орто*- положення знижує спорідненість до ферменту, що узгоджується з послабленням біоцидної дії до асоціації СВБ. Важливим є також вивчення механізму процесу МПК за участю зазначених похідних.

1. Андреев Е.И., Бидай В.И., Коваль Э.З., Козлова И.А. Микробная коррозия и ее возбудители. – К.: Наук. думка, 1980. – 285 с.
2. Андреев Е.И., Козлова И.А. Литотрофные бактерии и микробиологическая коррозия. – К.: Наук. думка, 1977. – 164 с.
3. Андреев Е.И., Козлова И.А. Микробная коррозия: современное состояние проблемы и перспективы ее развития // Микробиол. журн. – 1994. Т.56, №2. – С. 28.
4. Антоновская Н.С., Пиляшенко – Новохатный А.И., Козлова И.А., Андреев Е.И. Коррозия стали в грунте под действием бактерий цикла серы // Микробиол. журн. – 1985. – Т. 47, №3. – С.13–18.
5. Бочаров Б.В. Защита от биоповреждений с помощью биоцидов // Актуальные вопросы биоповреждений. – М.: Наука, 1983. – С. 174–202.
6. Демченко А.М., Назаренко К.Г., Макей А.П., Приходько С.В., Курмакова И.Н., Третяк А.П. Синтез, противокоррозионная и биоцидная активность производных триазолоазепина // Журн. прикладной химии. 2004. – Т. 77, Вып. 5. – С. 794–797.
7. Диксон М., Узбб Э. Ферменты. – М.: Мир, 1982. – 816 с.
8. Иерусалимский Н.Д. Основы физиологии микробов. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 146 с.
9. Козлова И.А., Коптева Ж.П., Пуриш Л.М и др. Микробная коррозия и защита подземных металлических сооружений // Практика противокоррозионной защиты. – 1999. – №3 (13). – С. 21–27.
10. Курский М.Д., Костерин С.А., Рыбальченко В.К. Биохимическая кинетика. – К.: Вища шк., 1977. – 264 с.
11. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т.: Пер. с англ. – М.: Мир, 1985. – Т. 1. – 367 с.
12. Методы общей бактериологии: Пер. с англ. / Под ред. Ф. Герхардта и др. – М.: Мир, 1984. – Т.2. – 472 с.
13. Мейцлер Д. Биохимия: Химические реакции в живой клетке: Пер. с англ. – М.: Мир, 1980. – Т. 2. – 606 с.
14. Перт С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток: Пер. с англ. – М.: Мир, 1978. – 331 с.
15. Погребова И.С., Пуриш Л.М., Козлова И.А., Туовинен О.Х. Электрoхимические аспекты ингибирования процесса микробной коррозии стали в присутствии сульфатредуцирующих бактерий // Вопросы химии и химической технологии. – 1999. – №1. – С. 268–270.
16. Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. – Л.: Наука, 1974. – 196 с.
17. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова – М.: Изд-во МГУ 1983. – 215 с.

18. Третьяк А.П., Смыкун Н.В., Приходько С.В., Макей А.П., Курмакова И.Н. Антимикробная активность некоторых производных азепина конденсированного с триазолом и имидазолом // Вісник Одеського національного університету. Серія: Біологія. – 2001. – Т. 6, №4. – С. 313–316.
19. Lowry O.H., Rosebrough H.J., Farr A.L., Randall K.C. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265-275.

S.V. Prichodko, I.N. Kurmakova, A.P. Tretyak
Chernigov State Pedagogical University, Ukraine

KINETICS OF PROCESS INHIBITION OF GROWTH OF ASSOCIATION OF SULPHATE – REDUCING BACTERIA DERIVATIVES OF TRIAZOLAZEPINE

Kinetics of process inhibition of growth of association of sulphate – reducing bacteria derivatives of triazolazepine is explored.

The noncompetitive type of inhibition is set. Dependence of inhibition action from a structure is shown. Most affinity to the enzyme displays derivative with a methylene deputy in para position of benzol ring, that comports with its high antibacterial action.

Ключові слова sulphate – reducing bacteria, bacteria' inducible corozion, inhibitor, biocidus effect, derivatives of triazolazepine.

Рекомендує до друку
М.М. Барна

Надійшла 23.02.2006

УДК: 577:122:58.036.2

О. С. ТАЛАЛАЄВ

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

ВПЛИВ КЛІНОСТАТУВАННЯ НА ЕКСПРЕСІЮ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ БІЛКІВ ТЕПЛОВОГО ШОКУ В ПРОРОСТКАХ ГОРОХУ *PISUM SATIVUM* L.

Ключові слова: білки теплового шоку, шаперонова активність, кліностакування

Різноманітні біотичні та абіотичні стресові фактори впливають на рослині організми протягом їх онтогенезу, викликаючи специфічні фізіологічні реакції, які у більшості випадків ведуть до підвищення толерантності до несприятливих впливів через запобігання та/або усунення пошкоджень, викликаних стресором. Відповідь на стрес є загальною для всіх організмів, та характеризується синтезом певних метаболітів та білків, серед яких особливу роль відіграють білки теплового шоку (heat shock proteins, HSP). HSP функціонують як молекулярні шаперони (від англ. “chaperone” супроводжувати), тобто зв’язують частково денатуровані субстрати, запобігаючи незворотній агрегації та сприяючи коректному фолдингу. Функції HSP як молекулярних шаперонів підтверджена *in vivo* та *in vitro* [12, 13, 14].

Низькомолекулярні білки теплового шоку (small heat shock proteins, sHSP) це клас стресових білків з молекулярною вагою від 12 до 42 кДа, що накопичуються у відповідь на тепловий стрес [9, 10, 12, 14] та характерні як для прокаріотів, так і для еукаріотів. У рослин відповідно до компартменталізації виділяють шість класів рослинних sHSP. Це класи шаперонів цитозолу та ядра (СІ, СІІ та СІІІ), пластид (Р) [2, 4], sHSP ендоплазматичного ретикулуму (ЕР) [4, 10] та мітохондрій [4, 10]. Значення низькомолекулярних білків теплового шоку полягає у формуванні стійкості до стресів [4, 6, 10, 12, 14].