

ВПЛИВ НОВИХ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН – ПОХІДНИХ N-ОКСИД ПІРИДИНУ НА РУХОВУ АКТИВНІСТЬ І ЕНЕРГЕТИЧНИЙ СТАН ІНФУЗОРІЙ *TETRAHYMENA PYRIFORMIS* W

О.П. Васецька

ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки мені академіка Л.І.Медведя МОЗ України», м. Київ, Україна

РЕЗЮМЕ. Метою досліджень було визначити функціональний стан інфузорій *Tetrahymena pyriformis* W за параметрами рухової активності та енергетичними затратами на рух за гострої дії регуляторів росту рослин – похідних N-оксид піридину, їх комплексів з органічними кислотами та солями металів.

Матеріали та методи дослідження. У роботі використані N-оксид-2,6-диметил піридин, N-оксид-2-метил піридин та їхні комплекси з органічними кислотами (буришиновою, малеїновою) або солями металів ($ZnCl_2$, ZnI_2 , $CoCl_2$, $MnCl_2$) – всього 13 речовин, синтезованих в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України. Дослідження проведені на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis* W. в ізотоксичних дозах – на рівні токсичних концентрацій – LK_{50} , LK_{16} і недіючих концентрацій (LK_0). Оцінювали рухову активність і енергетичний стан інфузорій за допомогою автоматизованого лазерного доплерівського спектрометра.

Результати та висновки. Показано, що досліджені метильні похідні N-оксид піридину та їх комплекси з органічними кислотами або солями металів пригнічують рухову активність інфузорій і збільшують енерговитрати на рух з найбільшим ефектом у концентраціях відповідних LK_{50} . Найбільший токсичний вплив на життєздатність інфузорій чинили N-оксид-2,6-диметилпіридину, N-оксид-2-метилпіридину та їхні комплекси з буришиновою кислотою і солями металів $CoCl_2$ і $ZnCl_2$. Таким чином, для оцінки токсичності ксенобіотиків і життєздатності інфузорій *Tetrahymena pyriformis* W. доцільно рекомендувати показники рухової активності та енерговитрат на одиницю шляху, що мають найбільшу критеріальну значущість.

Ключові слова: токсичність, регулятори росту рослин, похідні N-оксид піридину, *Tetrahymena pyriformis* W.

У зв'язку з інтенсифікацією хімізації народного господарства спостерігається забруднення навколишнього середовища різноманітними поллютантами, які мають високу біологічну активність, що може призвести до зміни розвитку та функціонування екосистем і нанести значну шкоду довкіллю і здоров'ю людини. Сьогодні серед засобів захисту рослин одне із важливих місць посідають регулятори росту рослин (РРР). Вони широко використовуються для стимулювання росту і розвитку рослин, підвищення їхньої стійкості до несприятливих умов навколишнього середовища (засухи, холоду, вилягання), інфекційних та паразитарних хвороб [1-5]. В останнє десятиріччя широке застосування в Україні знайшли синтетичні РРР – метильні похідні N-оксид піридину (івін, потейтин, зеастимулін, агростимулін, бетастимулін, триман-1, тетран та інші). Асортимент та сфера використання РРР постійно розширюється [6], оскільки їхнє застосування в нових технологіях сприяє

виробництву екологічно чистої сільсько-господарської продукції [7-10].

В Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України на сьогодні синтезовано понад 20 нових комплексів N-оксид-2-метил піридину і N-оксид-2,6-диметил піридину з органічними кислотами або солями металів, що проявили високу ауксинову або цитокінінову активність і є перспективними РРР на різних сільсько-господарських культурах. Показано, що вони мало або помірно токсичні, проявляють мембранотропну активність, інтенсифікують білок-синтетичні процеси в організмі лабораторних тварин. Виявлені ефекти не залежали від дози і часу дії. Криві залежності токсичного впливу від дози мали в більшості випадків нелінійний – U і бімодальний характер [1, 11, 12].

Токсичність похідних N-оксид піридину для об'єктів навколишнього середовища, зокрема гідробіонтів, ще не достатньо досліджена. Але відомо, що значна кількість поллютантів спроможна чинити нега-

тивну дію на різні організми водного середовища. Так, показано, що Флотореагент РА-14 (ізодецилоксипропіламіацетат) у високих концентраціях, як і більшість ПАВ, викликає лізис інфузорій, а у низьких концентраціях – токсичний ефект [13, 14]. Солі важких металів чинять виражену токсичну дію на ціанобактерії *Cyanochoyctis SP* на рівні низьких доз ($1,5 \text{ мкг/л}^{-1}$), із зниженням температури водного середовища токсичність важких металів значно збільшується [15]. Токсичний вплив важких металів, деяких пестицидів та РРР встановлено і для інфузорій *Tetrahymena pyriformis* [11, 12, 16–20]. Показано, що РРР за гострого впливу на інфузорії є помірно або малотоксичними речовинами, за хронічного впливу криві залежності росту інфузорій від концентрації мають моно-, бі- або полімодальний вигляд. Доведено високу зіставність даних щодо гострої токсичності РРР для лабораторних щурів, визначеної експериментально та за методом експресного біотестування на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis W.*, що відкриває можливість екстраполяції гострої токсичності з інфузорій на ссавців [11, 12].

У зв'язку з цим актуальним є дослідження токсичних властивостей нових РРР - похідних N-оксид піридину, їхніх комплексів з органічними кислотами та солями металів для одноклітинних організмів, зокрема інфузорій, та визначення їх небезпечності для довкілля і людини.

Мета досліджень. Визначити функціональний стан інфузорій *Tetrahymena pyriformis W* за параметрами рухової активності та енергетичними затратами на рух за гострої дії регуляторів росту рослин – похідних N-оксид піридину, їх комплексів з органічними кислотами та солями металів.

Матеріали та методи дослідження. У роботі використані N-оксид-2,6-диметилпіридин, N-оксид-2-метилпіридин та їхні комплекси з органічними кислотами або солями металів (всього 13 речовин), синтезованих в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, що проявили високу рїстрегулюючу активність і рекомендовані до впровадження в практику сільського господарства України в якості РРР на різних сільськогосподарських культурах.

Дослідження проведені на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis W.* Інфузорії

Tetrahymena pyriformis W., як тест-система *in vitro*, широко використовуються в токсикології в якості альтернативного тест-об'єкта для дослідження токсичності багатьох полютантів водного середовища, пестицидів, важких металів, витяжок з полімерних матеріалів, консервуючих добавок та дезінфекційних засобів, органічних і неорганічних сполук [21, 22]. Як правило, в більшості випадків дослідження на інфузоріях проводиться за критерієм „загибель клітин” для визначення параметрів гострої і хронічної токсичності та прогнозування їх небезпечності для довкілля і людини. Крім критерію „загибель клітин”, важливою характеристикою функціонального стану інфузорій є їхня рухова активність та енергетичні витрати на підтримання життєздатності клітин.

Дослідження рухової активності та енергетичного стану інфузорій *Tetrahymena pyriformis W.* проводили в ізотоксичних дозах: на рівні токсичних концентрацій - $ЛК_{50}$, $ЛК_{16}$ і недіючих концентрацій ($ЛК_0$), що були визначені раніше [11].

Рухову активність і енергетичний стан інфузорій оцінювали за допомогою автоматизованого лазерного доплерівського спектрометра (АЛДС), який дозволяє реєструвати наступні характеристики життєздатності популяцій рухливих мікроорганізмів:

- частку рухомих клітин (рухливість) в популяції, %;
- швидкість поступального руху клітин, мкм/сек;
- частоту рухів, Гц,
- середні енерговитрати клітин на рух у в'язкому середовищі, ум.од.

Крім цього, визначали витрати енергії клітинами на одиницю шляху за формулою:

$C = A/V$, де C - витрати енергії інфузоріями на одиницю шляху за секунду, A – загальна енергія (ум.од.), V - швидкість руху (мкм/сек).

Культивування інфузорій проводили в живильному середовищі з наступним складом: пептони - 20 г, глюкоза 5 г, NaCl - 1 г, дріжджовий екстракт - 1 мл, дистильована вода - 1 л, рН - 7,2. Інкубацію здійснювали при температурі 22°C. Дослідження проводили в стаціонарній фазі росту інфузорій *Tetrahymena Pyriformis W.*

Для дослідження токсичних властивостей РРР в суспензію клітин інфузорій вносили досліджувану речовину, розчинену у середовищі інкубації в об'ємі, необхідному для відповідної кінцевої концентрації (мг/мл). В якості контрольної проби використовували культуру, що не містила досліджуваних речовин. Інкубація культури інфузорій з РРР тривала протягом 30 хв при кімнатній температурі 20-22°C [21]. Після цього вимірювали на АЛДС. Всі показники рухомості автоматично реєструвались і усереднювались. Час проведення вимірів становив 10 сек. Кількість вимірів – 5. Статистичну обробку проводили за допомогою загальноприйнятих методів математичної статистики: розраховували середнє арифметичне (М), похибку репрезентативності (m), критерій t-Стюдента і вірогідну різницю отриманих результатів (Р) [23]. Ступінь вираженості токсичних ефектів досліджуваних речовин визначали за зміною рухової активності клітин і енерговитратами на рух.

Робота виконана на базі ДП „Міжвідомчий НТЦ „Агробіотех” НАН України. Висловлюємо щиру вдячність за консультативну допомогу в проведенні досліджень на АЛДС канд. біол. наук Власенко В.В.

Результати дослідження та їх обговорення. Характер змін рухової активності та енерговитрат на рух інфузорій *Tetrahymena rugiformis* W. за впливу метильних похідних N-оксид піридину та їх комплексів з органічними кислотами наведений в табл. 1.

Як видно із табл. 1, за впливу N-оксид-2,6-диметилпіридину із збільшенням діючої концентрації збільшувалась частка рухомих інфузорій, і в найбільшій із досліджуваних концентрацій 34 мг/мл (на рівні ЛК₅₀) приблизно втричі перевищувала даний показник контролю. Частота і швидкість рухів інфузорій в найменшій із досліджених концентрацій речовини незначно (на 11 %) збільшувались. З підвищенням діючої концентрації вказані показники знижувались з найбільшим ефектом (на 51,4 %) в концентрації відповідній ЛК₅₀. Загальні енерговитрати на рухову активність інфузорій були найбільшими за впливу N-оксид-2,6-диметилпіридину в концентрації 9 мг/мл (ЛК₀), що обумовлено збільшенням швидкості руху. По відно-

шенню до контролю витрати енергії на одиницю шляху в залежності від діючої концентрації, зростали на 25% – 91,7%.

Така ж тенденція зберігалась і для N-оксид-2-метилпіридину та комплексу N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою. У разі впливу N-оксид-2-метилпіридину кількість рухомих клітин збільшувалась із збільшенням діючої концентрації та досягала максимуму (в 2,06 раза) в концентрації на рівні ЛК₅₀, а за впливу комплексу N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою в максимальній концентрації кількість рухомих клітин збільшувалась всього в 0,55 раза. Частота та швидкість рухів на рівні ЛК₅₀ знижувалась за впливу N-оксид-2-метилпіридину на 26,6 %, комплексу N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою – на 42,2 %. Загальні витрати енергії на рух були високими в усіх досліджених концентраціях N-оксид-2-метилпіридину і збільшувались на 44,6 % - 64 %, а витрати енергії на одиницю шляху були вищими на 35,4% – 125%, ніж в контролі. Для комплексу N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою загальні витрати енергії на рух були менш вираженими, ніж за впливу N-оксид-2,6-диметилпіридину, а витрати енергії на одиницю шляху збільшувались на 25 % – 47,7 %, ніж в контролі, але в максимальній концентрації на 44 % були меншими, ніж за впливу N-оксид-2,6-диметилпіридину.

За впливу комплексів Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою і N-оксид-2,6-диметилпіридину з малеїною кислотою частка рухомих інфузорій у 2-х менших концентраціях (на рівнях ЛК₀ і ЛК₁₆) незначно знижувалась і становила від 14,1 % до 22,7 %, частота і швидкість рухів практично не змінювалась (у випадку комплексу Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою) або збільшувалась на 22 % - 24 % (у випадку комплексу N-оксид-2,6-диметилпіридину з малеїною кислотою); загальні витрати енергії на рух незначно відрізнялись від контролю. В максимальній концентрації (на рівні ЛД₅₀), як і за впливу інших досліджених речовин, зазначених вище, відбувалось збільшення кількості рухомих інфузорій за впливу комплексів Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою на 26,14 %, N-оксид-

Таблиця 1
Вплив деяких метильних похідних N-оксид піридину та їх комплексів з органічними кислотами на параметри життєздатності популяції інфузорій Tetrahymena Pygiformis W. за експозиції 30 хв.

Хімічна назва речовини	Параметри токсичності (концентрації, мг/мл)	Частка рухомих клітин		Частота рухів		Швидкість руху		Загальні енерговитрати		Енерговитрати на одиницю шляху	
		%	%	Гц	%	мкм/сек	%	ум,од	%	ум,од	%
N-оксид-2,6-диметилпіридин	Контроль (0)	0,148±0,016	100	6,618±0,128	100	18,199±0,352	100	6,508±0,810	100	0,36	100
	LD ₀ (8,89)	0,180±0,020	121,62	7,346±0,205*	111	20,202±0,564*	111	9,744±1,467	149,72	0,48	133,3
	LD ₁₆ (17,79)	0,197±0,015	133,11	6,336±0,173	95,74	17,424±0,476	95,74	7,879±0,464	121,07	0,45	125,0
	LD ₅₀ (34,27)	0,585±0,079*	395,27	3,219±0,185*	48,64	8,852±0,509*	48,64	6,086±1,082	93,52	0,69	191,7
N-оксид-2,6-диметилпіридин з бурштиновою кислотою	Контроль (0)	0,216±0,025	100	5,564±0,257	100	15,301±0,707	100	6,687±0,842	100	0,44	100
	LD ₀ (1,44)	0,263±0,040	121,76	5,965±0,129	107,21	16,404±0,355	107,21	9,080±1,100	135,79	0,55	125,0
	LD ₁₆ (2,88)	0,285±0,110	131,94	5,297±1,161	95,20	14,567±3,193	95,20	7,942±1,925	118,77	0,55	125,0
	LD ₅₀ (5,67)	0,335±0,050	155,09	3,219±0,208*	57,85	8,852±0,572*	57,85	5,716±0,421	85,48	0,65	147,7
Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридин з бурштиновою кислотою	Контроль (0)	0,241±0,049	100	6,500±0,365	100	17,875±1,004	100	5,443±2,512	100	0,30	100
	LD ₀ (2,49)	0,197±0,032	81,74	6,099±0,237	93,83	16,772±0,652	93,83	6,536±3,231	120,08	0,39	130,0
	LD ₁₆ (4,99)	0,186±0,035	77,18	6,188±0,313	95,20	17,017±0,861	95,20	5,642±3,122	103,66	0,33	110,0
	LD ₅₀ (6,87)	0,304±0,038	126,14	5,045±0,652	77,62	13,874±1,793	77,62	9,603±2,400	176,43	0,69	230,0
N-оксид-2,6-диметилпіридин з малеїновою кислотою	Контроль (0)	0,223±0,042	100	4,600±1,016	100	12,649±2,795	100	5,343±2,512	100	0,42	100
	LD ₀ (2,05)	0,199±0,026	89,24	5,713±1,548	124,20	15,710±4,256	124,20	6,711±2,880	125,61	0,43	102,4
	LD ₁₆ (4,09)	0,207±0,035	92,83	5,609±0,750	121,93	15,425±2,064	121,95	6,835±2,991	127,92	0,44	104,8
	LD ₅₀ (5,78)	0,317±0,034	142,15	2,855±0,037	62,07	7,853±0,102	62,08	4,840±0,355	90,59	0,62	147,6
N-оксид-2-метилпіридин	Контроль (0)	0,180±0,023	100	7,361±0,109	100	20,243±0,300	100	9,767±1,495	100	0,48	100
	LD ₀ (9,45)	0,217±0,024	120,56	8,221±0,144*	111,68	22,608±0,396*	111,68	14,669±1,945	150,19	0,65	135,4
	LD ₁₆ (18,9)	0,247±0,035	137,22	6,700±0,345	91,02	18,425±0,524	91,02	14,125±1,435	144,62	0,77	160,4
	LD ₅₀ (26,0)	0,365±0,046*	202,78	5,401±0,158*	73,37	14,853±0,435*	73,37	16,023±1,250*	164,05	1,08	225,0
N-оксид-2-метилпіридин з бурштиновою кислотою	Контроль (0)	0,147±0,016	100	5,654±0,306	100	15,549±0,842	100	4,652±0,175	100	0,30	100
	LD ₀ (3,41)	0,199±0,018	135,37	6,782±0,752	119,95	18,651±2,068	119,95	9,379±2,453	201,61	0,50	166,7
	LD ₁₆ (6,82)	0,189±0,018	128,57	8,236±0,497*	145,67	22,649±1,367*	145,66	12,752±0,729*	274,12	0,56	186,7
	LD ₅₀ (8,52)	0,132±0,018	89,80	3,832±0,383*	67,78	10,538±1,050*	67,77	6,779±0,667*	145,72	0,64	213,3
Ди-N-оксид-2-метилпіридин з бурштиновою кислотою	Контроль (0)	0,172±0,023	100	6,440±0,227	100	17,710±0,624	100	7,136±1,074	100	0,40	100
	LD ₀ (1,64)	0,151±0,018	87,79	6,885±1,659	106,91	18,936±2,562	106,92	7,396±1,998	103,64	0,39	130,0
	LD ₁₆ (3,27)	0,147±0,011	85,47	6,371±0,538	98,93	17,520±1,800	98,93	7,820±0,808	109,59	0,45	150,0
	LD ₅₀ (5,82)	0,091±0,015*	52,91	4,574±0,610*	71,02	12,580±2,228	71,03	7,231±0,785	101,33	0,57	190,0

Примітка. * - P ≤ 0,05

2,6-диметилпіридину з малеїною кислотою - на 42,15 %, частота і швидкість рухів за дії вказаних речовин зменшувались на 22,4 % і 37,9 %, відповідно. Загальні енерговитрати в першому випадку збільшувались на 76,43 %, в другому - зменшувались на 9,4 %, але витрати енергії клітинами на одиницю шляху, в порівнянні з контролем, були більше на 130 % за дії комплексу Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою і на 47,6 % за дії комплексу N-оксид-2,6-диметилпіридину з малеїною кислотою.

Частка рухомих інфузорій за впливу комплексу N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою у 2-х менших концентраціях (на рівнях ЛК₀ і ЛК₁₆) збільшувалась на 35,4 % і 28,6 %, частота і швидкість рухів – на 20% і 46%, відповідно. За впливу комплексу Ди-N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою – частота рухомих інфузорій знижувалась на 12,2 % і 14,5 % відповідно до діючих концентрацій; частота і швидкість рухів по відношенню до контролю практично не змінювались. У максимальній концентрації (на рівні ЛД₅₀) кількість рухомих клітин знижувалась значно менше за дії комплексу N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою, ніж Ди-N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою і становила 10,2 % і 47,1 % від контролю; частота і швидкість рухів приблизно знижувались однаковою мірою (на 32% і 29% відповідно). Загальні витрати енергії на рух клітин за впливу комплексу Ди-N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою в усіх досліджених концентраціях практично не відрізнялись від контролю, комплексу N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою значно збільшувались. Виявлений ефект не залежав від діючої концентрації і становив на 174 – 45,7 % більше, ніж в контролі. Разом з тим, витрати енергії клітинами на одиницю шляху обох вказаних речовин мали концентраційну залежність і збільшувались у порівнянні з контролем за впливу максимальної концентрації комплексу N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою на 113 %, комплексу Ди-N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою на 90 %.

Як видно з наведених даних, N-оксид-2,6-диметилпіридину, N-оксид-2-метилпіридину, комплекс N-оксид-2,6-диметилпі-

ридину з бурштиною кислотою із збільшенням концентрації викликають збільшення частки рухомих інфузорій, зменшення частоти і швидкості руху, загальних енерговитрат на рух, при цьому витрати енергії клітинами на одиницю шляху збільшуються. Збільшення частки рухомих клітин можна пов'язати з хемотаксичною реакцією клітин на підвищений вміст хімічного чинника в живильному середовищі. За дії речовин в менших концентраціях зміна частоти і швидкості рухів інфузорій різниця від контролю незначна, але спостерігається збільшення витрат енергії клітинами на одиницю шляху, що свідчить про напруження адаптаційних можливостей інфузорій. За впливу речовин у максимальній дослідженій концентрації поряд із зниженням частоти і швидкості рухів значно збільшуються енерговитрати на одиницю шляху, що свідчить про посилення токсичного ефекту і поглиблення змін життєздатності інфузорій.

Токсичний вплив на інфузорії комплексів Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою і N-оксид-2,6-диметилпіридину з малеїною кислотою, N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою і Ди-N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою у 2-х менших концентраціях не виражений, про що свідчать незначні різно направлені зміни досліджених показників та збільшення енерговитрат на рух. На рівні середньолетальних концентрацій для комплексів Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з бурштиною кислотою і N-оксид-2,6-диметилпіридину з малеїною кислотою, як і для інших вище зазначених сполук, характерним є збільшення кількості рухомих інфузорій, для комплексів N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою і Ди-N-оксид-2-метилпіридину з бурштиною кислотою, як і в менших концентраціях, спостерігається більш виражене зниження частки рухомих клітин, зниження частоти і швидкості рухів та збільшення витрат енергії клітинами на одиницю шляху, що вказує на підвищення токсичної дії цих речовин.

Характер змін досліджених показників життєздатності інфузорій *Tetrahymena rugiformis* W. за впливу комплексів метильних похідних N-оксид піридину з солями металів наведений в табл. 2.

Таблиця 2

Вплив комплексів деяких метильних похідних N-оксид піридину з солями металів на параметри життєздатності популяції інфузорій Tetrahymena Pygiformis W за гострої дії. Час експозиції 30 хв.

Хімічна назва речовини	Параметри токсичності (концентрації, мг/мл)	Частка рухомих клітин		Частота рухів		Швидкість руху		Загальні енерговитрати		Енерговитрати на одиницю шляху	
		%	%	Гц	%	мкм/сек	%	ум.од	%	ум.од	%
Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридин з ZnCl ₂	Контроль (0)	0,234±0,028	100	7,064±0,306	100	19,426±0,842	100	9,629±1,332	100	0,50	100
	LD ₀ (1,56)	0,328±0,023*	140,17	3,561±0,141*	50,41	9,793±0,388*	50,41	5,156±0,308*	53,55	0,53	106,00
	LD ₁₆ (3,12)	0,154±0,015*	65,81	2,996±0,145*	42,41	8,239 ±0,399*	42,41	4,881±0,145*	50,69	0,59	118,00
	LD ₅₀ (5,54)	0,100±0,038*	42,74	1,600±0,175*	22,65	4,468±0,599*	23,00	3,892±0,255*	40,42	0,87	174,00
Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридин з ZnI ₂	Контроль (0)	0,222±0,027	100	6,589±0,232	100	18,120±0,638	100	9,084±1,624	100	0,50	100
	LD ₀ (0,87)	0,343±0,032*	154,50	5,520±0,268*	83,78	15,180±0,737*	83,77	9,384±0,581	103,30	0,62	124,00
	LD ₁₆ (1,74)	0,329±0,026*	148,20	5,446±0,268*	82,65	14,977±0,737*	82,65	9,748±0,883	107,31	0,65	130,00
	LD ₅₀ (2,76)	0,458±0,027*	206,31	3,465±0,141*	52,59	9,530±0,388*	52,59	7,398±0,627	81,44	0,78	156,00
Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридин з CoCl ₂	Контроль (0)	0,207±0,011	100	6,975±0,348	100	19,181±0,096	100	9,073±0,867	100	0,47	100
	LD ₀ (3,55)	0,355±0,080	171,50	5,022±0,081*	72,00	13,810±0,223*	72,00	6,880±0,256*	75,83	0,50	106,38
	LD ₁₆ (7,1)	0,244±0,028	117,87	3,338±0,499*	47,86	9,180±1,372*	47,86	5,015±0,247*	55,27	0,55	117,02
	LD ₅₀ (11,93)	0,353±0,112	170,53	2,551±0,405*	36,57	7,015±1,114*	36,57	4,700±0,414*	51,80	0,67	142,55
Ди-N-оксид-2-метилпіридин з ZnCl ₂	Контроль (0)	0,176±0,015	100	6,396±0,320	100	17,589±0,880	100	7,218±0,941	100	0,41	100
	LD ₀ (1,49)	0,216±0,017	122,73	3,709±0,235*	57,99	10,200±0,646	57,99	5,000±0,551	69,27	0,49	119,51
	LD ₁₆ (2,98)	0,089±0,024*	50,57	4,347±0,218*	67,96	11,954±0,599*	67,96	5,723±0,667	79,29	0,48	117,07
	LD ₅₀ (3,83)	0,072±0,006*	40,91	3,323±0,569*	51,95	9,137±0,915*	51,95	7,118±1,169	98,61	0,78	190,24
N-оксид-2-метилпіридин з CoCl ₂	Контроль (0)	0,209±0,013	100	6,678±0,308	100	18,365±0,847	100	8,315±0,905	100	0,45	100
	LD ₀ (4,26)	0,298±0,088	142,58	5,653±0,151*	84,65	15,546±0,415*	84,65	6,877±0,278	82,71	0,44	97,78
	LD ₁₆ (8,52)	0,215±0,050	102,87	4,439±0,977	66,47	12,207±2,262*	66,47	5,838±0,866	70,21	0,48	106,67
	LD ₅₀ (13,35)	0,281±0,061	134,45	2,358±0,172*	35,31	6,485±0,473*	35,31	4,072±0,553*	48,97	0,63	140,00
N-оксид-2-метилпіридин з MnCl ₂	Контроль (0)	0,241±0,049	100	6,900±0,225	100	18,782±0,619	100	7,543±0,512	100	0,40	100
	LD ₀ (4,83)	0,352±0,059	146,06	5,386±0,272*	78,86	14,811±0,748*	78,86	7,505±0,737	99,50	0,51	127,50
	LD ₁₆ (9,66)	0,355±0,024	147,30	4,451±0,378*	64,51	12,116±0,941*	64,51	6,530±0,483	86,57	0,54	135,00
	LD ₅₀ (13,92)	0,293±0,015	121,58	3,593±0,242*	52,87	9,930±0,666*	52,87	5,950±0,532	78,88	0,60	150,00

Примітка. * - P ≤ 0,05

Як видно із табл. 2, комплекси Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $ZnCl_2$ і Ди-N-оксид-2-метилпіридину з $ZnCl_2$ в найменшій концентрації збільшували частку рухомих клітин, із збільшенням концентрації діючих речовин кількість рухомих інфузорій знижувалась і в максимальній концентрації зменшення даного показника становило 57,3 % і 59,1 %, відповідно. Частота і швидкість рухів, загальні енергозатрати клітин на рух були зниженими в більшості через вплив Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $ZnCl_2$ ніж Ди-N-оксид-2-метилпіридину з $ZnCl_2$. У максимальній концентрації (відповідній LK_{50}) зниження вказаних показників у порівнянні з контролем для Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $ZnCl_2$ становило відповідно 77,4; 77,4 і 59,6 %, для Ди-N-оксид-2-метилпіридину з $ZnCl_2$ – 48,1; 48,1 і 1,4 %. Витрати енергії клітинами на одиницю шляху за впливу вказаних комплексів з $ZnCl_2$ збільшувались на 74 % і 90 %, відповідно.

Вплив на інфузорії комплексу Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з ZnI_2 в порівнянні з комплексом Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $ZnCl_2$ був дещо менш вираженим. У всіх досліджених концентраціях даної речовини частка рухомих клітин була вищою за контроль на 48,2 – 106,3 %, але частота і швидкість рухів знижувалась і в концентрації 2,76 мг/мл (LK_{50}) були нижчою за контроль на 47,4 %. Разом з тим, загальні енерговитрати на рух у менших концентраціях мали тенденцію до збільшення, а в максимальній концентрації знижувались на 18,56 %. Із збільшенням діючої концентрації речовини витрати енергії клітинами на одиницю шляху збільшувались і в максимальній концентрації були на 56 % вищими, ніж в контролі.

Комплекси Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $CoCl_2$ і N-оксид-2-метилпіридину з $CoCl_2$ збільшували частку рухомих клітин у всіх досліджених концентраціях: перша речовина – на 17,87 – 71,5 %, друга – на 2,87 – 42,58 %, ступінь вираженості змін не залежав від діючої концентрації. Із збільшенням концентрації вказаних речовин частота і швидкість рухів, загальні енерговитрати на рух знижувалась, а витрати енергії клітинами на одиницю шляху збільшувались і в максимальній концентрації, відповідній LK_{50} , становили: для

комплексу Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $CoCl_2$ – 63,4; 63,4; 48,2 і 42,55% відповідно, для комплексу N-оксид-2-метилпіридину з $CoCl_2$ – 64,7; 64,7; 51,0 і 40,0% відповідно. За цими показниками можна вважати, що обидва комплекси з $CoCl_2$ за дослідженими критеріями чинять однаково токсичну дію на інфузорії.

За гострого впливу на інфузорії комплексу N-оксид-2-метилпіридину з $MnCl_2$ в усіх досліджених концентраціях частка рухомих клітин була вищою за контроль на 21,58 – 47,30 %, частота і швидкість рухів інфузорій, загальні енерговитрати на рух знижувались залежно від діючої концентрації і були найбільш вираженими в максимальній концентрації (на рівні LK_{50}) і відповідно становили на 47,13; 47,13 і 21,12 % нижче, ніж в контролі. Із збільшенням діючої концентрації речовини витрати енергії клітинами на одиницю шляху збільшувались і в максимальній концентрації становили на 50 % вище, ніж в контролі.

Як видно з наведених даних, із збільшенням діючої концентрації комплекси Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $ZnCl_2$ і Ди-N-оксид-2-метилпіридину з $ZnCl_2$ знижують частку рухомих інфузорій, а Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з ZnI_2 , Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $CoCl_2$, N-оксид-2-метилпіридину з $CoCl_2$ і N-оксид-2-метилпіридину з $MgCl_2$ збільшують частку рухомих інфузорій без чіткої концентраційної залежності. Для всіх досліджених комплексів метильних похідних N-оксид піридину з солями металів характерним є зниження частоти і швидкості рухів, загальних енерговитрат на рух, вираженість змін залежала від діючої концентрації. Витрати енергії клітинами на одиницю шляху зростали із збільшенням діючої концентрації. Найбільший токсичний вплив на життєздатність інфузорій чинили комплекси Ди-N-оксид-2-метилпіридину з $ZnCl_2$, Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $ZnCl_2$, і Ди-N-оксид-2,6-диметилпіридину з $CoCl_2$.

Таким чином, виходячи з одержаних даних, найінформативнішими в оцінці токсичного впливу досліджених речовин є показники зниження рухової активності та збільшення енерговитрат на одиницю шляху, які можуть бути одним із критеріїв

токсичності ксенобіотиків для інфузорій та оцінки їхньої життєздатності.

Висновки

1. Досліджені метильні похідні N-оксид піридину та їхні комплекси з органічними кислотами (бурштиною, малеїною) та солями металів ($ZnCl_2$, ZnI_2 , $CoCl_2$, $MnCl_2$) пригнічують рухому активність інфузорій і збільшують енерговитрати на рух з найбільшим ефектом у концентраціях, відповідних LK_{50} .

2. Найбільший токсичний вплив на життєздатність інфузорій чинили N-оксид-2,6-диметилпіридин, N-оксид-2-метилпіридин та їхні комплекси з бурштиною кислотою і солями металів $CoCl_2$ і $ZnCl_2$.

3. Для оцінки токсичності ксенобіотиків і життєздатності інфузорій *Tetrahymena pyriformis* W. доцільно рекомендувати показники рухової активності та енерговитрат на одиницю шляху, що мають найбільшу критеріальну значущість.

ЛІТЕРАТУРА

1. New plant growth regulators: basic research and technologies of application. Monograph. [Editors S.P.Ponomarenko, H.O.Iutynska]. – Kyiv: Nichlava, 2011. – 210 p
2. Пономаренко С.П. Новий напрямок у рослинництві – застосування природних полікомпонентних регуляторів росту рослин з біозахисним ефектом / С.П. Пономаренко, В.А. Циганкова, Я.Б. Блюм, А.П. Галкін // Наука та інновації.– 2013.– Т. 9, №5.– С.69–77.
3. Регуляторы роста растений в ряду производных никотиновой кислоты // Научный журнал КубГАУ №100(06) . – 2014. – С.1–11.
4. Підвищення регуляторами росту імунітету рослин до патогенних грибів, шкідників і нематод / В.А. Циганкова, Я.В. Андрусевич, О.В. Бабаянц [та ін].// Фізіологія та біохімія культурних рослин.–2013.– Т.45, №2.– С.138–147.
5. Бабаянц О.В. Роль регуляторів росту в іммуно-захисних реакціях рослин на болізни, вызванних патогенними організмами. / О.В. Бабаянц, В.А. Цыганкова, С.П. Пономаренко, А.И. Медков // Посібник українського хлібороба.- 2014.– №1.– С.161–165.
6. Доповнення до Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. Спеціальний випуск журналу „Пропозиція”. — К.: Юнівест Медіа, 2017. – 528 с.
7. Титов В.Н. Регуляторы роста растений как биологический фактор снижения уровня тяжелых металлов в растении / В.Н. Титов, Д.Г. Смыслов, Г.А. Дмитриева, В.И. Болотова // Вестник ОрелГАУ.– 2011.– №4 (31).– С.4-7.
8. Коротченко И.С. Влияние регулятора роста растений «Рибав-Экстра» на степень токсичности тяжелых металлов для тест-растений / И.С. Коротченко, Н.Н. Кириенко // Вестник ОрелГАУ. – 2013. –№9. – С.117–122.
9. Пономаренко С.П. Біостимулятори росту. Шлях до екологічно чистої сировини для виготовлення продуктів дитячого харчування / С.П. Пономаренко // Захист рослин. –1998. – № 4. – С. 21.
10. Зінченко В.О. Вплив синтетичних стимуляторів росту рослин на урожайність та якість бульб картоплі в умовах радіоактивного забруднення / В.О. Зінченко, І.М. Євтушок, М.А. Присяжний // Вісник державної агро-екологічної академії. – 2000. – Спецвипуск, жовтень. – С. 322–324.
11. Васецька О.П. Гостра токсичність нових регуляторів росту рослин – похідних N-оксид піридину / О.П.Васецька // «Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки», Київ. –2016. – №3 (75). – С.5–11
12. Васецкая О.П. «Парадоксальные» эффекты в токсикологии, механизмы и методические подходы к их прогнозированию (по данным литературы и собственных исследований) / О.П.Васецкая, П.Г.Жминько // «Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки», Київ. – 2015. – №1/2 (68/69). – С.54–66
13. Присный А.В. Механизмы устойчивости инфузорий к химическим повреждениям и их преодоление летальными концентрациями синтетических поверхностно активных веществ (СПАВ) / А.В.Присный, Ю.Л.Волынкин, Н.Н.Кампос // Научные Ведомости, 2009. – № 11(66). – С. 45–54.
14. Лукин А.А. Токсичность некоторых СПАВ после разложения их в воде / А.А. Лукин // Вторая всесоюзная конференция по рыбохозяйственной токсикологии, посвященная 100-летию проблемы качества воды в России: Санкт-Петербург, ноябрь 1991 г. – Санкт-Петербург, 1991. – Т. 1. – С. 340.
15. Богачева А.С. Чувствительность цианобактерий *Cynochocystis* SP к токсическому действию солей тяжелых металлов / А.С. Богачева, В.В.Шилов, Е.В.Полозова // Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии. Российская научная конференция с международным участием. — Санкт-Петербург 19-20 мая 2011 года. – Санкт-Петербург, Фолиант. – 2011. – С.26.
16. Nilson Jytte R. *Tetrahymena* in cytotoxicology: With special reference to effects of heavy metals and selected drugs / Jytte R. Nilson // Eur.J.Protstol. – 1989. – 25, №1. – P. 2–25.
17. Seth R. Influence of some factors on the toxicity of y-HCN to *Tetrahymena pyriformis*: [Pap.]I-st Eur. Congr. Protozool., Reading, Apr.5 – 10th, 1992. / R.Seth, DM.Saxina // Eur.J.Protstol. – 1992. – 28, №3. – P. 356.
18. Богдан А.С. Токсиколого-гигиеническая оценка инсектицида метоксихлора на *Tetrahymena pyriformis* / А.С.Богдан // Тез.Всес.конф.”Акт.вопросы токсик., гиг.прим.пестицидов и полимер.мат-лов в н/х”, Киев, 30-31 окт. 1990 г. – К. – 1990. – С. 51.
19. Garad U. Toxic effects of monocrotophos on *Paramecium caudatum* / U. Garad, S.N.Desai, P.V. Desai // African J. of Biotechnology. – 2007. – V. 6 (19). – P. 2245–2250.

20. Жмінько О.П. Вплив деяких похідних N-оксид піридину на ріст популяції інфузорій *Tetrahymena pyriformis* W. / О.П.Жмінько, М.Г.Проданчук // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – №2. – С.33–37.
21. Комплексная биологическая оценка объектов природного и искусственного происхождения на *Tetrahymena pyriformis* W. // Методические рекомендации. – Минск. – 1996. – 19 с.
22. “Методика експресного біотестування хімічних речовин, синтетичних матеріалів господарського, побутового та медичного призначення й оцінки їх безпеки для людини” / П.Г. Жмінько, М.В.Янкевич, В.Г.Герасимова, К.О.Лисенко, О.П. Жмінько // Реєстр галузевих нововведень, вип.14–15, 2001 року. — №45/14/01.
23. Лапач С.Н. Статистика в науке и бизнесе / С.Н. Лапач, А.В. Губенко, П.Н. Бабич / Киев.: Морион, 2002. – 640 с.

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ - ПРОИЗВОДНЫХ N-ОКСИД ПИРИДИНА НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ИНФУЗОРИЙ TETRAHYMENA PYRIFORMIS W

О.П. Васецкая

ГП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И.Медведа МЗ Украины», г. Киев, Украина

РЕЗЮМЕ. Цель исследований: определить функциональное состояние инфузорий *Tetrahymena pyriformis* W по параметрам двигательной активности и энергетических затрат на движение при остром воздействии регуляторов роста растений – производных N-оксид пиридина и их комплексов с органическими кислотами и солями металлов.

Материалы и методы исследования. В работе использованы N-оксид-2,6-диметил пиридин, N-оксид-2-метил пиридин и их комплексы с органическими кислотами (янтарной и малеиновой) или солями металлов ($ZnCl_2$, ZnI_2 , $CoCl_2$, $MnCl_2$) (всего 13 веществ), синтезированных в Институте биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины. Исследования проводены на инфузориях *Tetrahymena pyriformis* W. в изотоксических дозах – на уровне токсичных концентраций – LC_{50} , LC_{16} и недействующих концентраций (LC_0). Двигательную активность и энергетическое состояние инфузорий оценивали с помощью автоматизированного лазерного доплеровского спектрометра.

Результаты исследований и выводы. Показано, что исследованные метильные производные N-оксид пиридина и их комплексы с органическими кислотами или солями металлов подавляют двигательную активность инфузорий и увеличивают энергозатраты на движение с наибольшим эффектом в концентрациях соответствующих LC_{50} . Наибольшее токсическое воздействие на жизнеспособность инфузорий оказывали N-оксид-2,6-диметилпиридина, N-оксид-2-метилпиридина и их комплексы с янтарной кислотой и солями металлов $CoCl_2$ и $ZnCl_2$.

Таким образом, для оценки токсичности ксенобиотиков и жизнеспособности инфузорий *Tetrahymena pyriformis* W. целесообразно рекомендовать показатели двигательной активности и энергозатрат на единицу пути, имеющих наибольшую критериальную значимость.

Ключевые слова: токсичность, регуляторы роста растений, производные N-оксид пиридина, *Tetrahymena pyriformis* W.

EFFECT OF THE NEW PLANT GROWTH REGULATORS – N-OXIDE PYRIDINE DERIVATIVES ON MOBILE ACTIVITY AND ENERGY STATE OF INFUSORIA TETRAHYMENA PYRIFORMIS W

O. Vasetska

State Enterprise “L. I. Medved’s Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

RESUME. The study objective was to determine the functional state of infusoria *Tetrahymena pyriformis* W by parameters of motor activity and energy consumption for movements under acute effects of plant growth regulators – N-oxide pyridine derivatives, their complexes with organic acids and metal salts.

Materials and methods. 2,6-dimethylpyridine-N-oxide, 2-methylpyridine-N-oxide and their complexes with organic acids (succinic, maleic) or metal salts ($ZnCl_2$, ZnI_2 , $CoCl_2$, $MnCl_2$) – in total, 13 substances, synthesized at the Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine have been used in the work. Studies have been carried out on the infusoria *Tetrahymena pyriformis* W. in isotoxic doses – at the level of toxic concentrations – LC_{50} , LC_{16} and inactive concentrations (LC_0). Motor activity and energy state of infusoria using an automated laser Doppler spectrometer were evaluated.

Results and conclusion. It was shown that the studied N-oxide pyridine derivatives and their complexes with organic acids or metal salts inhibit the motor activity of the infusoria and increase energy consumption for movements with the greatest effect in the concentrations of the corresponding LC_{50} . 2,6-dimethylpyridine-N-oxide, 2-methylpyridine-N-oxide, and their complexes with succinic acid and metal salts of $CoCl_2$ and $ZnCl_2$ were the most toxic for the viability of infusoria.

Therefore in order to assess the toxicity of xenobiotics and viability of infusoria *Tetrahymena pyriformis* W., it is reasonable to recommend parameters of motor activity and energy consumption per unit of the route that have the highest critical significance.

Key words: toxicity, plant growth regulators, N-oxide pyridine derivatives, *Tetrahymena pyriformis* W.

Надійшла до редакції 20.06.2018 р.