

S.I. Jadko, T.V. Vorobyova, A.A. Svash, D.A. Klymchuk
N.G. Kholodny Institute of Botany of the NAS of Ukraine, Kiev

PRO-ANTIOXIDANT STATUS LEAVES PLANTS ALISMA PLANTAGO-AQUATICA L. UNDER OSMOTIC STRESS

Under PEG-induced osmotic stress in leaves of aerial-aquatic and terrestrial *Alisma plantago-aquatica* L. plants early increasing of H_2O_2 content with following increasing of ascorbat peroxidase (AP) and catalase (Cat) activities take place. In aerial-aquatic plants which have lower initial level of antioxidant activity the content of H_2O_2 and AP and Cat activities under stress increased more than in terrestrial plants. Interconnection between early increasing of H_2O_2 content, AP and Cat activities and relative content of water have been established too.

Key words: *Alisma plantago-aquatica* L., H_2O_2 , ascorbat peroxidase, catalase, osmotic stress

С.І. Жадько, Т.В. Воробйова, О.О. Сиваш, Д.О. Климчук
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ

ПРО-АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАТУС ЛИСТКІВ РОСЛИН ALISMA PLANTAGO-AQUATICA L. ЗА ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ

При поліетиленкліколі (ПЕГ)-індукованому осмотичному стресі у листках повітряно-водних та суходільних рослин *Alisma plantago-aquatica* L. відбувається раннє збільшення вмісту H_2O_2 з подальшим підвищенням активності аскорбат пероксидази (АП) і каталази (Кат). У повітряно-водних рослин, які мають нижчий початковий рівень антиоксидантної активності (АО), вміст H_2O_2 і активність АП і Кат при стресі зростали при більшому діапазоні, ніж у суходільних. Також встановлено взаємозв'язок між раннім збільшенням вмісту H_2O_2 , активністю АП, Кат і відносним вмістом води.

Ключові слова: *Alisma plantago-aquatica* L., H_2O_2 , аскорбат пероксидаза, каталаза, осмотичний стрес

Рекомендує до друку
О.Б. Столяр

Надійшла 15.02.2011

УДК 636.4:612.41:612.017

Р.Я. ІСКРА

Інститут біології тварин НААН України
вул. Василя Стуса, 38, Львів, 79034

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КРОВІ СВИНОМАТОК І НОВОНАРОДЖЕНИХ ПОРОСЯТ ЗА ВПЛИВУ ЦИТРАТУ НАНОХРОМУ

Досліджували вплив цитрату нанохрому в дозах 20- і 100 мкг/кг комбікорму на кількість клітин крові, їх співвідношення та функціональну активність у свиноматок та новонароджених поросят. Встановлено, що за дії нанохрому в дозах 20- і 100 мкг/кг комбікорму на 5 добу після опоросу в крові свиноматок зменшується кількість еритроцитів, проте збільшується в крові поросят. За введення до раціону нанохрому в дозі 100 мкг Cr^{3+} /кг в крові свиноматок знижується вміст лімфоцитів та зростає – сегментоядерних нейтрофільних гранулоцитів. На 20-добу після опоросу свиноматок за дії нанохрому в дозі 100 мкг Cr^{3+} /кг збільшується загальна кількість лейкоцитів в крові, проте знижується їх функціональна активність.

Ключові слова: поросята, свиноматки, нанохром, кров

Хром (Cr^{3+}) – життєво необхідний мікроелемент для людини і тварин, сприяє нормалізації обміну вуглеводів, жирів і білків в організмі [1, 2]. Він підтримує нормальну функцію інсуліну, сприяє транспорту глюкози з крові в клітини печінки, м'язів і жирової тканини [3]. Дослідження показали, що хром корисний при лікуванні інсулінорезистентності та цукрового діабету у людей [4]. Крім цього, він є одним із активних гіпохолестеринемічних мікроелементів [5].

Вміст хрому в крові приблизно в 2-3 рази вищий, ніж у плазмі [6]. Концентрація хрому в плазмі відображає вплив як Cr^{3+} так і Cr^{6+} , у той час як концентрація у клітинах крові відображає, в основному, вплив Cr^{6+} . Це тому, що Cr^{6+} має здатність проникати в еритроцити. Відомо, що зв'язування і поглинання Cr^{3+} еритроцитами людини є дуже повільним. Концентрація внутрішньоклітинного Cr^{3+} більш ніж на три порядки менша, ніж концентрація Cr^{6+} [7].

Є дані, що в хворих на цукровий діабет підвищується концентрація хрому в плазмі, еритроцитах і тромбоцитах та знижується – в поліморфноядерних і мононуклеарних лейкоцитах. Такі зміни концентрацій хрому в плазмі та клітинах крові при гіперглікемії можуть бути результатом внутрішньоклітинного та позаклітинного перерозподілу елементу [8].

Вважається, що Cr^{3+} впливає на кровотворення та володіє імуномодуючим ефектом. На імунну функцію Cr^{3+} , очевидно, впливає в комплексі з інсуліном або кортизолом, а це може відбуватися шляхом регуляції дії посередників – відповідних цитокінів [3, 9].

На сьогодні використання у тваринництві органічних сполук хрому у вигляді наночастинок, в яких присутність елементу зведена до мінімуму із збереженням його високої біологічної активності, є перспективним науковим напрямком. Високо реакційні наночастинок в організмі виступають як стимулятори перебігу фізичних і хімічних процесів. Тому метою наших досліджень було з'ясувати вплив різних доз цитрату нанохрому на гематологічні та імунологічні показники крові свиней.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені у приватному агропромисловому підприємстві «Агропродсервіс» Тернопільської області на 9 свиноматках великої білої породи та народжених від них поросятах. Було сформовано три групи тварин – контрольна і дві дослідних, по 3 свиноматки у кожній. Годівля тварин проводилася комбікормом, збалансованим за мікроелементним та вітамінним складом, з вільним доступом до кормів і води.

Свиноматкам дослідних груп за 10 діб до опоросу до кормів додавали цитрат нанохрому в дозах 20 $\text{мкгCr}^{3+}/\text{кг}$ комбікорму (перша дослідна група) і 100 $\text{мкгCr}^{3+}/\text{кг}$ (друга дослідна група). Цитрат нанохрому був одержаний методом електроімпульсної аквананотехнології [10]. Свиноматкам контрольної групи задавався комбікорм без добавки цитрату нанохрому. Матеріалом для дослідження була кров свиноматок, отримана з вушної вени та кров поросят, отримана з передньої порожнистої вени. У свиноматок всіх груп кров відбирали за 10 діб до опоросу та на 5-ту і 20-у добу після опоросу. У поросят трьох груп кров відбирали у 5-ти і 20-ти добовому віці. Тривалість досліді – 30 діб.

У досліджуваній крові свиней визначали кількість еритроцитів та лейкоцитів. Цитологічний аналіз клітин проводили шляхом фарбування фіксованих метанолом висушених мазків за методом Романовського-Гімза, функціональну активність лейкоцитів визначали за НСТ-тестом [11].

Результати досліджень та їх обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено, що при згодовуванні свиноматкам цитрату нанохрому в дозах 20- і 100 $\text{мкгCr}^{3+}/\text{кг}$ комбікорму змінюються гематологічні показники в тварин. Так, у крові свиноматок першої та другої дослідних груп на 5 добу після опоросу спостерігається вірогідне зменшення кількості еритроцитів, відповідно на 28,9 та 12,0 %, порівняно показниками тварин контрольної групи (табл. 1). При цьому у новонароджених поросят першої та другої дослідних груп на 5 добу життя спостерігається збільшення кількості еритроцитів, відповідно на 16,6 та 14,0 % порівняно з контролем. Очевидно нанохром, який згодовувався свиноматкам транспортувався через плаценту у кров плода та через молоко

матері в організм новонародженого, що підтверджують дані літератури [12]. Крім цього, хром сприяє посиленню секреції молока у самок тварин [13]. Тому, зменшення кількості еритроцитів у крові свиноматок досліджуваних груп можна пояснити зміною напрямку синтетичних процесів в організмі в сторону посилення секреції біологічних складових молока. У зв'язку з цим організм матері використовує менше поживних речовин для власних потреб, що приводить до зменшення кількості еритроцитів у крові до нижньої межі. Таким чином, хром впливає в більшій мірі на еритропоетичну функцію плода та новонародженого організму, ніж на власну.

Збільшення кількості еритроцитів за дії цитрату нанохрому у поросят раннього постнатального віку є позитивним ефектом оскільки забезпечує підвищену фізіологічну потребу ростучого організму в поживних речовинах. Це особливо важливо, оскільки відомо, що в перші дні життя у тварин спостерігається виникнення анемічних захворювань, які характеризуються порушенням кровотворення внаслідок недостатнього споживання заліза з кормом та інтенсивним ростом молодняку в перші тижні життя.

Таблиця 1

Кількість еритроцитів і лейкоцитів у крові свиней за дії цитрату нанохрому ($M \pm m$)

Група тварин	Свиноматки, n=3			Поросята, n=9	
	10 діб до опоросу	5 доба після опоросу	20 доба після опоросу	5-добові	20-добові
Еритроцити, Т/л					
контрольна	5,68±0,46	6,40±0,08	4,26±0,17	5,13±0,22	5,31±0,21
1 дослідна	5,90±0,24	4,55±0,18***	5,26±0,73	5,98±0,27*	5,48±0,25
2 дослідна	5,20±0,31	5,63±0,16**	4,73±0,28	5,85±0,16**	5,39±0,22
Лейкоцити, Г/л					
контрольна	8,16±0,44	7,00±0,76	7,83±0,44	8,78±0,51	8,00±0,45
1 дослідна	7,16±0,72	6,50±1,25	7,83±0,92	8,08±0,72	8,42±0,57
2 дослідна	9,75±0,60	7,33±1,09	9,33±0,24*	9,61±0,45	8,83±0,50

Примітка. У цій і наступних таблицях достовірність різниць показників порівняно до контролю: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01-0,025$; *** - $p < 0,001$.

Кількість лейкоцитів у крові свиноматок і поросят на протязі всього дослідного періоду в контрольних та дослідних групах майже однакова. Однак, на 20 добу після опоросу у свиноматок другої дослідної групи вірогідно збільшується кількість лейкоцитів у крові на 19,1 % стосовно контрольної групи. Підвищення кількості лейкоцитів у свиноматок, очевидно, є базовою захисною реакцією організму на введення до їх раціону нанохрому в дозі 100 мкг Cr^{3+} /кг.

Хоча дослідженнями й не встановлено суттєвого впливу добавок цитрату нанохрому на загальну кількість лейкоцитів у крові свиноматок, проте виявлено деякі зміни у співвідношенні клітин білої крові (табл. 2). Так, спостерігається вірогідне зменшення кількості лімфоцитів у крові свиноматок другої дослідної групи на 5-ту (на 12,6 %) та 20-ту доби (на 20,6 %) після опоросу, порівняно до їх кількості у крові контрольних тварин. Імовірно, зниження рівня лімфоцитів спровокувало введення нанохрому в дозі 100 мкг Cr^{3+} /кг, у зв'язку з його можливою імуносупресорною активністю. Паралельно з цим у крові свиноматок другої дослідної групи відмічалось зростання кількості сегментоядерних нейтрофілів на 5-ту (на 24,7%) та 20-ту доби (на 38,5%) після опоросу.

Слід вказати, що на 5 добу після опоросу за дії цитрату нанохрому у крові свиноматок другої дослідної групи збільшення кількості нейтрофілів відбувається на тлі зменшення кількості лімфоцитів, що не відображається на загальній кількості лейкоцитів у цей віковий період. Проте, на 20 добу після опоросу кількість лейкоцитів в крові свиноматок другої дослідної групи збільшується, що очевидно відбувається за рахунок збільшення кількості нейтрофілів та еозинофілів на тлі зниження кількості лімфоцитів. Невірогідне зростання кількості еозинофілів, очевидно, зумовлене реакцією організму на введення нанохрому в дозі 100 мкг Cr^{3+} /кг, а еозинофіли виступають регуляторами адаптаційного механізму, запобігаючи його гіперактивації. Еозинофіли, як і нейтрофільні гранулоцити, є фагоцитами й цитотоксичними клітинами. Однак діяльність цих лейкоцитів має спеціалізований характер і

тісно пов'язана з функціонуванням імунної системи тварин. В умовах повноцінної у функціональному плані імунної системи підвищення вмісту нейтрофілів, є першою реакцією організму на введення патогенного чинника, а в подальшому, очевидно, може бути причиною розвитку лейкоцитозу на початкових етапах.

Таблиця 2

Лейкоцитарна формула крові свиней за дії цитрату нанохрому, % (M±m)

Група тварин	Лімфоцити	Базофіли	Еозинофіли	Моноцити	Нейтрофіли	
					Паличкоядерні	Сегментоядерні
Свиноматки, n=3						
10 діб до опоросу						
контроль	59,7±2,90	1,0±0,01	3,3±0,88	1,0±0,01	3,0±0,57	34,0±4,04
1 дослідна	64,3±3,75	1,5±0,5	2,3±0,33	1,0±0,02	2,7±0,33	29,3±3,75
2 дослідна	61,7±2,06	1,0±0,01	2,7±0,88	1,0±0,01	1,0±0,01	23,7±1,76
5 доба після опоросу						
контроль	63,7±1,76	1,7±0,66	3,0±0,57	1,5±0,5	2,3±0,88	28,3±0,88
1 дослідна	63,0±4,93	1,7±0,33	4,3±0,33	1,0±0,01	3,0±0,57	31,0±1,73
2 дослідна	55,7±1,20**	1,0±0,01	5,7±0,88	1,5±0,5	2,0±0,57	35,3±1,20**
20 доба після опоросу						
контроль	68,0±2,30	2,0±0,01	3,3±1,20	1,0±0,03	2,5±0,50	26,0±2,30
1 дослідна	65,0±2,00	3,0±0,02	2,3±0,88	1,0±0,01	1,5±0,50	30,0±2,08
2 дослідна	54,0±2,88**	1,7±0,33	5,0±1,50	1,0±0,02	3,0±1,52	36,0±2,08*
Поросята, n=9						
5-добові						
контроль	62,0±2,11	1,8±0,31	3,3±0,41	1,17±0,17	2,4±0,29	30,2±1,82
1 дослідна	61,3±2,89	1,7±0,25	2,7±0,61	1,0±0,01	2,4±0,51	32,0±2,02
2 дослідна	63,3±2,15	1,2±0,20	2,8±0,36	1,3±0,21	1,8±0,31	31,1±1,29
20-добові						
контроль	65,2±2,12	1,4±0,24	2,4±0,44	1,7±0,33	2,5±0,43	29,3±1,60
1 дослідна	64,3±2,22	1,3±0,33	3,0±0,52	1,2±0,25	2,0±0,41	29,8±1,72
2 дослідна	65,2±1,53	1,6±0,40	2,1±0,35	1,0±0,01	2,0±0,38	29,6±1,16

Саме тому на 20 добу після опоросу визначали неспецифічну реактивність організму свиноматок та новонароджених поросят, що оцінювали за НСТ-тестом, який визнано як один із найбільш об'єктивних критеріїв оцінки функціонального стану поліморфноядерних лейкоцитів периферичної крові [14]. Він дозволяє оцінити інтенсивність «кисневого вибуху», що відбувається всередині фагоцитуючих клітин, тобто характеризує метаболічні процеси. При дослідженні функціональної активності нейтрофілів за дії цитрату нанохрому на 20 добу після опоросу в свиноматок встановлено її зниження на 14,3 % (табл. 3). Це свідчить про зниження в організмі тварин резервних можливостей окисно-відновних метаболічних процесів нейтрофілів, а відтак зниження їх кілінгової активності. У поросят функціональний стан поліморфноядерних лейкоцитів за дії цитрату нанохрому не змінювався. Вважається, що вплив нанохрому на активність імунного захисту може проходити через регуляцію активності мононуклеарних клітин периферичної крові та активацію цитокінів [9].

Таблиця 3

Неспецифічна реактивність організму свиней на 20 добу після опоросу, НСТ-тест, %

Група тварин	Свиноматки	Поросята
контрольна	9,33±0,33	9,67±0,29
1 дослідна	9,33±0,67	9,17±0,48
2 дослідна	8,00±0,28*	9,89±0,20

Таким чином, зміни гемопоетичних та імунологічних показників свиней, очевидно, є адаптаційними реакціями організму, що забезпечують реалізацію захисної функції крові за введення до раціону високо реакційно здатної сполуки цитрату нанохрому. Цитрат нанохрому в дозі 100 мкг/кг, очевидно, викликає певне напруження імунітету та зміну картини крові у

свиноматок після опоросу, що характеризується підвищенням кількості нейтрофільних гранулоцитів, зниженням лімфоцитів, а також зростанням загальної кількості лейкоцитів в крові, які характеризуються зниженою функціональною активністю.

Висновки

1. Додавання до раціону свиноматок цитрату нанохрому в дозах 20- і 100 мкг Cr^{3+} /кг комбікорму на 5 добу після опоросу веде до зменшення кількості еритроцитів в їх крові та збільшення – в крові поросят
2. За введення до раціону нанохрому в дозі 100 мкг Cr^{3+} /кг комбікорму в крові свиноматок на 5- і 20 доби після опоросу знижувався вміст лімфоцитів та зростав вміст сегментоядерних нейтрофільних гранулоцитів в крові.
3. На 20-добу після опоросу свиноматок за дії нанохрому в дозі 100 мкг Cr^{3+} /кг збільшувалася загальна кількість лейкоцитів в крові та знижувалася їх функціональна активність.

1. *Искра Р.Я.* Біохімічні механізми дії хрому в організмі людини і тварин / Р.Я. Искра, В.Г. Янович // Український біохімічний журнал. – 2011. – Т. 83, № 5. – С. 5–12.
2. **Vincent J.B.** The Nutritional Biochemistry of Chromium(III). / J.B. Vincent – Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. – 277 p.
3. **Borgs P.** Immune-endocrine interactions in agricultural species: Chromium and its effect on health and performance / P. Borgs, B.A. Mallard // Domestic Animal Endocrinology. – 1998. – Vol. 15. – P. 431–438.
4. **Antioxidant** effects of chromium supplementation with type 2 diabetes mellitus and euglycemic subjects. / H.H. Cheng, M.H. Lai, W.C. Hou [et al] // J. Agric. Food Chem. – 2004. – Vol. 52 (5). – P. 1385–1393.
5. **Lower** toenail chromium in men with diabetes and cardiovascular disease compared with healthy men. / S. Rajpathak, E.B. Rimm, T.Li [et al] // Diabetes Care. – 2004. – Vol. 27. – P. 2211–2216.
6. **Acute** dichromate poisoning after use of traditional purgatives a report of 7 cases. / R. Wood, P.B. Mills, G.J. Knobel [et al] // South African Medical Journal. – 1990. – Vol. 77. – P. 640–642.
7. **Kortenkamp A.** Uptake of chromium (III) complexes by erythrocytes / A. Kortenkamp, D. Beyersmann, P. O'Brien // Toxicological & Environmental Chemistry. – 1987. – Vol. 14, Issue 1-2. – P. 23–32.
8. **Rückgauer M.** Chromium determinations in blood cells Clinical relevance demonstrated in patients with diabetes mellitus type 2 / M. Rückgauer, A. Zeyfang // Biological Trace Element Research. – 2002. – Vol. 86, № 3. – P. 193–202.
9. **Pechova A.** Chromium as an essential nutrient: a review / A. Pechova, L. Pavlata // Veterinarni Medicina. – 2007. – Vol. 52 (1). – P. 1–18.
10. *Патент 29856 UA.* МПК (2006): B01J 13/00, B82B 3/00. Спосіб отримання аквахелатів нанометалів «Ерозійно-вибухова нанотехнологія отримання аквахелатів нанометалів» / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. – Опубл. 25.01.2008; Бюл. № 2/2008.
11. *Довідник:* Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / Влізко В.В., Федорук Р.С., Макара І.А. [та ін.]. – Львів: видавництво «ВМС», 2004. – 399 с.
12. **Wallach S.** Placental transport of chromium / S. Wallach, R. L. Verch // J. Amer. Coll. Nutr. – 1984. – Vol. 3. – P. 69–74.
13. **Kim B. G.** Influences of chromium (III) picolinate on pigs under thermal, immune or dietary stress, and on adrenal steroid secretion: Doctoral Dissertations / Kim B. G. – University of Kentucky UKnowledge, 2007. – 560 p.
14. **Effects** of chromium nanoparticle dosage on growth, body composition, serum hormones and tissue chromium in Sprague-Dawley rats / L. Y. Zha, Z. R. Xu, M. Q. Wang [et al] // J. Zhejiang Univ Sci B. – 2007. – Vol. 8(5). – P. 323–330.

Искра Р.Я.

Институт биологии животных НААН Украины, Львов

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КРОВИ СВИНОМАТОК И НОВОРОЖДЕННЫХ ПОРОСЯТ ПРИ ВЛИЯНИИ ЦИТРАТА НАНОХРОМА

Исследовали влияние цитрата нанохрома в дозах 20- и 100 мкг Cr^{3+} /кг комбикорма на количество клеток крови, их соотношение и функциональную активность в свиноматок и новорожденных поросят. Установлено, что при действии нанохрома в дозах 20- и 100 мкг Cr^{3+} /кг комбикорма на 5 сутки после опороса уменьшается количество эритроцитов в крови свиноматок, однако увеличивается в крови поросят. При введении в рацион нанохрома в дозе

100 мкг Cr^{3+} / кг в крови свиноматок снижается содержание лимфоцитов и возрастает – сегментоядерных нейтрофилов. На 20 сутки после опороса свиноматок при действия нанохрома в дозе 100 мкг Cr^{3+} /кг увеличивается общее количество лейкоцитов в крови, однако снижается их функциональная активность.

Ключевые слова: поросята, свиньи, нанохром, кровь

R.Ya. Iskra

Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine

PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF BLOOD sows and newborn piglets UNDER THE INFLUENCE OF NANOCHROME CITRATE

The effect of citrate nano chromium in doses of the 20th 100 μg / kg feed on the number of blood cells, their value and functional activity in blood of sows and newborn piglets was studied. It was found that doses of nano chromium of the 20th 100 μg / kg feed for 5 days after farrowing sows in the blood decreases the number of red blood cells, but increased in the blood of piglets. With the introduction of the diet of nano chromium in doses of 100 μg Cr^{3+} /kg in sows decreased blood lymphocytes and increases - segmented neutrophils. On the 20th day after farrowing sows for actions nano chromium increases the total number of leukocytes in the blood, but reduced their functional activity.

Key words: new-born piglets, sows, nano chromium, blood

Рекомендує до друку

Надійшла 15.02.2011

В.В. Грубінко