

ISSN 0206-5657

**ВІСНИК**  
ЛЬВІВСЬКОГО  
УНІВЕРСИТЕТУ

СЕРІЯ БІОЛОГІЧНА

Випуск 75

2017

**VISNYK** | **ВІСНИК**  
**OF THE LVIV** | **ЛЬВІВСЬКОГО**  
**UNIVERSITY** | **УНІВЕРСИТЕТУ**

**Series Biology** | **Серія біологічна**

**Issue 75** | **Випуск 75**

Scientific journal | Збірник наукових праць

Published 3–4 issues per year | Виходить 3–4 рази на рік

*Published since 1962* | *Видається з 1962 року*

Ivan Franko | Львівський національний  
National University of Lviv | університет імені Івана Франка

2017

Друкується за ухвалою Вченої ради  
Львівського національного університету  
імені Івана Франка  
Протокол №29/12 від 28 грудня 2017 р.

Свідоцтво про державну реєстрацію серія  
КВ №14810-3581Р від 28 жовтня 2008 р.,  
перереєстровано як фахове видання України  
(наказ МОН №528 від 12.05.2015 р.). Видання  
включене до Thomson Scientific Master Journal  
List (список ISI)

У “Віснику Львівського університету. Серія біологічна” опубліковані статті з актуальних проблем біології. Для наукових працівників, аспірантів і студентів старших курсів.

Papers on current problems in biology are published in the Visnyk. For scientific staff, Ph. D. students and Bachelors.

**Редакційна колегія:**

д-р біол. наук, проф. *В. Федоренко* – головний редактор; д-р біол. наук, проф. *В. Манько* – заступник головного редактора; *Н. Цимбалюк* – секретар; д-р біол. наук, проф. *С. Волгін* (Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки); канд. біол. наук, проф. *С. Гудзь*; д-р біол. наук *А. Бабський*; канд. біол. наук, доц. *І. Хамар*; д-р біол. наук *М. Козловський* (Інститут екології Карпат НАН України); канд. біол. наук, доц. *З. Мамчур*; д-р біол. наук, проф. *Н. Сибірня*; д-р біол. наук, проф. *Д. Санагурський*; канд. біол. наук, проф. *С. Гнатуш*; чл.-кор. НАН України, д-р біол. наук, проф. *Р. Стойка*; д-р біол. наук, проф. *Л. Тасенкевич*; д-р біол. наук, проф. *О. Терек*; д-р біол. наук, проф. *Н. Федірко*; д-р біол. наук, проф. *Й. Царик*; д-р біол. наук, проф. *Ю. Чорнобай* (Державний природознавчий музей НАН України); д-р біол. наук, проф. *Г. Антоняк*; д-р біол. наук *Б. Осташ*, канд. біол. наук *О. Головачов*; канд. біол. наук *М. Ватаманюк*; канд. біол. наук *О. Ватаманюк*; д-р біол. наук, проф. *М. Доліба*; д-р біол. наук *А. Лужецький*; канд. біол. наук, проф. *І. Медина*.

Dr. Biol. Sci., Professor *V. Fedorenko* – Editor-in-Chief

Dr. Biol. Sci., Professor *V. Manko* – Assistant Editor

*N. Tymbalyuk* – Managing Editor

Відповідальні за випуск: *В. Федоренко, Н. Цимбалюк*

**Адреса редколегії:**

Львівський національний університет  
імені Івана Франка, біологічний факультет  
вул. Грушевського, 4  
Львів 79005, Україна  
тел.: (032) 239-47-86

**Editorial office address:**

Ivan Franko National University  
of Lviv, Biology faculty  
4, Hrushevskiy St.  
Lviv 79005, Ukraine  
tel. (032) 239-47-86

E-mail: [biovisnyk@franko.lviv.ua](mailto:biovisnyk@franko.lviv.ua)

<http://www.lnu.edu.ua/faculty/biologh/wis/wis.htm>

Редактор: *Л. СІДЛОВИЧ*

Комп'ютерна верстка: *В. ДЕМЧУК*

**АДРЕСА РЕДАКЦІЇ, ВИДАВЦЯ І ВИГОТОВЛЮВАЧА:**

Львівський національний університет  
імені Івана Франка  
вул. Університетська, 1, Львів 79000, Україна  
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої  
справи до Державного реєстру видавців,  
виготівників і розповсюджувачів видавничої  
продукції. Серія ДК №3059 від 13.12.2007 р.

Формат 70x100/<sub>16</sub>  
Ум. друк. арк. 15,3  
Тираж 100 прим. Зам.

© Львівський національний університет  
імені Івана Франка, 2017

ОГЛЯД

УДК 577.161.6

**СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО РОЛЬ УБІХІНОНУ В ПРОЦЕСАХ  
МЕТАБОЛІЗМУ КЛІТИНИ**

**В. Дзюба<sup>1</sup>, О. Кучменко<sup>1,2</sup>**

*<sup>1</sup>Мелітопольський державний педагогічний університет  
імені Богдана Хмельницького  
вул. Гетьманська, 20, Мелітополь 72300, Україна  
e-mail: dziuba-v-v@yandex.ua*

*<sup>2</sup>ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології  
імені М.Д. Стражеска» НАМН України  
вул. Народного Ополчення, 5, Київ 03680, Україна  
e-mail: kuchmeb@yahoo.com*

CoQ<sub>10</sub> – вітаміноподібний жиророзчинний хінон, що міститься у клітинах і мембранах усіх живих організмів. Убіхінон відіграє ключову роль у життєдіяльності клітини й організму загалом як компонент ланцюга транспорту електронів у мітохондріях і антиоксидант. Також CoQ виконує низку інших функцій, з чим, імовірно, і пов'язана його локалізація в різних субклітинних фракціях. Убіхінон здатен впливати на активність великої кількості ферментів із різноманітними функціями (антиоксидантними, енергетичними та ін.). Окрім того, він є незамінним кофактором для забезпечення нормальної роботи дигідрооратдегідрогенази та роз'єднуючих білків UCPs. Також убіхінон проявляє властивості регулятора генетичної експресії, завдяки чому він здатен впливати на перебіг запальних процесів і метаболізм ліпідів у клітинах живих організмів. Окрім того, CoQ бере участь в епігенетичній регуляції активності різноманітних генів за допомогою мікроРНК, модифікації гістонів і метилювання ДНК. CoQ<sub>10</sub> є прикладом лікарських засобів метаболічної дії та може бути рекомендований для профілактики й лікування метаболічних порушень за різноманітних патологічних станів.

*Ключові слова:* убіхінон (коензим Q<sub>10</sub>), мікроРНК, активні форми кисню, генетична експресія

**Убіхінон і біоенергетичні процеси**

Убіхінон, що міститься в живих організмах, – це 2,3-диметоксі-5-метил-6-поліпреніл-1,4-бензохінон, а його поліпреніловий боковий ланцюг складається з 6–10 ланок. Усі досліджувані тканини ссавців містять коензим Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>), винятком є тканини шурів (CoQ9 – 90 %, CoQ10 – 10 %, слідові кількості CoQ7 і CoQ8) [1]. Убіхінон може перебувати у трьох станах: повністю окислений убіхінон, семіхінон і повністю відновлений убіхінол. Через свою гідрофобність убіхінон може перебувати лише у трьох фізичних станах: зв'язаний з білками, розчинений у ліпідному бішарі, а також утворюючи міцелярні агрегати. Показано, що більш ніж 84 % убіхінону не зв'язано з білками [18]. Активність компонентів дихального ланцюга чутлива до змін співвідношення убіхінон/убіхінол у пулі [21]. Комплекс I окислює NADH<sup>+</sup> в мітохондріях і відновлює убіхінон у ліпідному бішарі внутрішньої мітохондріальної мембрани. Вважається, що два електрони переносяться на Q<sub>10</sub> за допомогою залізосірнистих кластерів по одному, шляхом двох почергових реакцій [25]. Комплекс II

передає електрони на убіхінон без створення трансмембранного протонного градієнта. Він необхідний для окислювального фосфорилування, однак безпосередньо не бере участі в запасанні енергії [11]. Комплекс III – це свого роду точка перетину відновлених еквівалентів, що надходять від різноманітних дегідрогеназ. Він каталізує перенесення електронів від убіхінолу до водорозчинних цитохромів с-типу, тим самим продукуючи транслокацію протонів крізь мембрану та перетворюючи енергію на електрохімічний протонний градієнт [18].

Окрім безпосередньої участі у процесі утворення АТФ, убіхінон також задіюється в різноманітних регуляційних процесах, пов'язаних з роботою ланцюга переносу електронів. Використання як основного субстрату жирних кислот замість глюкози призводить до додаткової експлуатації убіхінону із пулу та його окислення, що, у свою чергу, може викликати сплеск утворення АФК. Насичення мітохондрій убіхінолом призводить до зворотного транспорту електронів з убіхінолу на комплекс I, що призводить до локальної генерації супероксиду. Очевидно, убіхінон регулює роботу ланцюга переносу електронів залежно від певного субстрату [10].

Ще одна регуляторна функція убіхінону пов'язана з роз'єднуючими білками (UCPs). Ці білки роз'єднують процеси протонування та запасання енергії, в результаті чого утворюється тепло. Ці білки розміщуються на внутрішній мітохондріальній мембрані та здатні транспортувати  $H^+$  усередину мітохондрій, тим самим впливаючи на протонний градієнт і сприяючи виробництву тепла. У ході експериментів було показано, що  $Q_{10}$  є обов'язковим кофактором для функціонування цих білків. Убіхінон здатен транспортувати  $H^+$  від жирних кислот до акцепторних груп UCP [34].

#### **Функції убіхінону в клітинній мембрані та субклітинних компартментах**

Убіхінон міститься не лише в мітохондріях, а й у цитоплазмі клітин і різноманітних органелах. Наприклад, в апараті Гольджі його концентрація навіть більша, ніж у самих мітохондріях. У плазматичній мембрані убіхінон бере участь в роботі різноманітних дегідрогеназ, зокрема, NADH-цитохром- $b_5$ -редуктази та NADPH-хінон-редуктази. Він здатен стабілізувати плазматичні мембрани, регенерувати інші антиоксиданти, регулювати керамід-залежний шлях, що бере участь у розвитку апоптозу. Убіхінол може інгібувати  $Mg^{2+}$  залежну нейтральну сфінгомеліназу (n-SMазу) на етапі ініціювання апоптозу, тим самим запобігаючи активації каспази [24].

Окрім етапи біосинтезу убіхінону можуть відбуватись у апараті Гольджі та ендоплазматичному ретикулумі. Ubiad1 – позамітохондріальна пренілтрансфераза, що бере участь у синтезі убіхінону в мембранному відсіку Гольджі. Показано, що деградація Ubiad1 призводить до зменшення пулу убіхінонолу в клітинній мембрані й АФК-опосередкованої ліпідної пероксидації. Таким чином, позамітохондріальний убіхінон захищає субклітинні компартменти і клітинні мембрани від окислювального пошкодження [32].

До найбільш досліджених функцій позамітохондріального убіхінону належить його роль у транспортуванні електронів усередині плазматичної мембрани. Трансплазматичний мембранний ланцюг складається із трьох компонентів [22].

NADH-убіхінон-редуктазні ферменти розміщуються з цитозольного боку мембрани та відповідають за регуляцію співвідношення  $NAD^+/NADH$  і відновлення аскорбату.  $CoQ_{10}$  міститься всередині мембрани та виконує функцію переносника. Екто-нікотинаміддинуклеотид оксидази (eNOX) містяться на зовнішньому боці плазматичної мембрани та функціонують як термінальні оксидази, що беруть участь у процесах регуляції росту й диференціювання клітин [22].

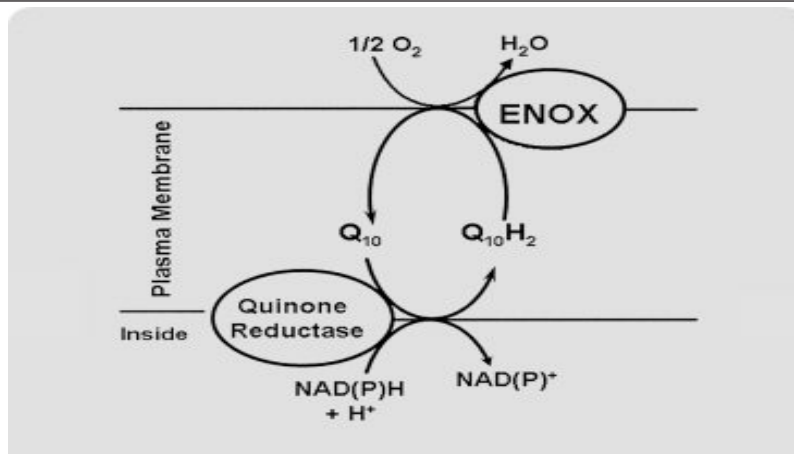


Рис. 1. Схема роботи трансплазматичного мембранного ланцюга переносу електронів [22]

Також убіхінон виконує низку функцій у комплексі Гольджі та плазматичних мембранах. Наприклад, він є незамінним компонентом під час перебігу NADH-оксидоредуктазозалежних реакцій, таких як синтез NO. Ендотеліальна нітрит-оксид синтаза (eNOS) регулює синтез оксиду нітрогену – важливого медіатора багатьох клітинних функцій. eNOS локалізується в апараті Гольджі та у плазматичних мембранах клітин. Припускається, що убіхінон може впливати на ендотеліальну дисфункцію шляхом «ре-спряження» eNOS та модуляції NO-залежної регуляції [23].

На участь убіхінону в електрон-транспортних процесах усередині плазматичної мембрани вказує той факт, що NADH-оксидазна (NOX) активність подавляється в результаті видалення CoQ<sub>10</sub> з клітини та знову відновлюється при введенні убіхінону. Окрім того, окислення семіхінону в плазматичній мембрані сприяє генерації H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, що може виступати як регулятор генної експресії [34].

Під час досліджень було встановлено, що в результаті дисфункції нітрит-оксид синтази всередині клітини збільшується концентрація АФК. Убіхінон, впливаючи на eNOS, керує потоком електронів, котрі від NADH<sup>+</sup> передаються на флавіни FAD і FMN, які, у свою чергу, мають здатність відновлювати молекулярний кисень [23].

#### Убіхінон як антиоксидант

Убіхінон – унікальний антиоксидант, оскільки він синтезується ендогенно та наявний у всіх мембранах. Він перевершує інші антиоксиданти як кількісно, так і якісно. Його захисна дія спрямована на ліпіди, білки та ДНК. Однією із найважливіших антиоксидантних властивостей убіхінону є його здатність регенерувати інші антиоксиданти, такі як альфа-токоферол і аскорбінова кислота. Високі рівні АФК сприяють розвиткові різноманітних негативних процесів в організмі, однак їхня концентрація має підтримуватися на певному рівні для забезпечення нормального функціонування клітини. Убіхінон, у свою чергу, може не тільки виступати як антиоксидант, а й бути прооксидантом [7]. Убісеміхінон може брати участь в утворенні супероксид-аніона, котрий перетворюється на пероксид водню. Наявність цих АФК необхідна для регуляції окисно-відновного потенціалу, генної експресії, біосинтезу та фолдингу, коректного функціонування сигнальних систем [19].

У процесі роботи ланцюга переносу електронів у мітохондріях утворюється певна кількість АФК, котрі, за надлишкових концентрацій, можуть викликати окислювальне пошкодження клітини. Оксидативний стрес – це порушення балансу між швидкістю

утворення АФК й антиоксидантним захистом у біологічних системах. Він призводить до деградації таких основних клітинних компонентів, як жири, білки та нуклеїнові кислоти. Є три основних механізми боротьби з окислювальним пошкодженням. Перший – запобігання виробництву та швидка інтоксикація вільних радикалів. Другий механізм – переривання розповсюдження ПОЛ дезактивацією проміжних радикалів ланцюга (убіхінол, частіш за все, також працює за цим принципом). Мобільність молекул дає змогу перехоплювати радикали та перетворювати їх на більш стабільні молекули, тим самим зупиняючи розповсюдження ланцюга ПОЛ. Третій – це усунення та ремонт пошкоджених у результаті окислення молекул, відновлення нормальної структури клітини [21].

Дані останніх 50 років, зібрані в ході експериментів на ліпосомах, мітохондріях, мікросомах, субмітохондріальних частках серця крупної рогатої худоби та ліпопротеїнах крові, показали, що  $\text{CoQ}_{10}$  у відновленій формі (убіхінол) є ефективним антиоксидантом та інгібітором процесів ПОЛ. Ефективність убіхінолу як інгібітора процесів ПОЛ заснована на його комплексному впливі на ці процеси. Дія убіхінолу спрямована на запобігання виробництву ліпідних пероксидних радикалів ( $\text{LOO}\cdot$ ) під час ініціації. Окрім того, убіхінол також демонструє високу ефективність у боротьбі з білковим окисленням, виступаючи в ролі антиоксиданта, «обриваючи» окислювальні ланцюги і тим самим запобігаючи розповсюдженню окислативного пошкодження. Він одночасно інгібує ініціацію самого процесу ланцюгового ПОЛ і заважає ПОЛ на стадії розповсюдження пошкоджувального окислення серед ліпідів та білків, що не характерне для інших антиоксидантів. Однак убіхінол не може захистити від усіх типів окисного пошкодження. Пероксинітрати, котрі утворюються у тканинах із надлишковим виробництвом оксиду нітрогену та супероксиду, можуть пошкоджувати мітохондріальну нікотинаміднуклеотидтрансгідрогеназу. В даному випадку  $\text{CoQ}_{10}$  не є ефективним [7].

У крові ссавців убіхінон міститься в ліпопротеїнах. Насамперед він використовується для запобігання окислення ліпопротеїнів низької густини. Взаємодіючи з ліпопротеїнами крові, убіхінон може впливати на перебіг атеросклеротичного процесу. Однак не завжди позитивні ефекти, отримані в результаті застосування убіхінону, можна пояснити виключно його антиоксидантними властивостями. Дослідження показали, що  $\text{CoQ}_{10}$  також впливає на низку інших регуляторних механізмів клітини [7].

#### **Убіхінон як регулятор генетичної експресії**

Убіхінон був ідентифікований як модулятор експресії генів у клітинах HeLa, CaCo-2 клітинах, моноцитах THP-1, у серці C57BL/6 мишей та деяких тканинах SAMP1 мишей [31].

При дослідженні впливу убіхінону на експресію приблизно 10 000 генів у клітинах кишечника людини CaCo-2 було встановлено, що він підвищував експресію 694 генів у 2 і більше разів. Активність тільки одного гена зменшилася в 1,5–2 рази під впливом убіхінону. Виявлені гени кодують білки, що беруть участь у передачі клітинних сигналів, процесах метаболізму, транспорту, контролюють транскрипційні процеси й ембріональний розвиток, а також беруть участь у патогенезі різноманітних захворювань [13].

Убіхінон бере участь у придушенні початкових стадій апоптозного каскаду, котрі пов'язані з активністю каспази-3. Також убіхінон впливає на 2 гени гуаніннуклеотидзв'язуючого білка, котрі відіграють важливу роль у розвитку хвороби Альцгеймера. Окрім того, білок mgc3358, синтез якого модулюється убіхіноном, задіяний у розвитку хвороби Хаттінгтона. Також убіхінон здатен уповільнювати втрату дофамінових нейронів під час хвороби Паркінсона [13].

Вчені припускають, що убихінон може впливати на АФК-чутливі внутрішньоклітинні регуляторні шляхи і як антиоксидант, і як прооксидант. Убіхінон не тільки нейтралізує активні форми кисню, а й сам здатен бути джерелом супероксид-аніон радикала, котрий може перетворюватись на пероксид водню. Окрім того, з плазматичною мембраною клітини пов'язана робота NADPH оксидазної системи (Nox) та NADH оксидо-редуктазного комплексу (CNOX), функціонування котрих призводить до утворення  $O_2^-/H_2O_2$ . На рис. 2 схематично показано, як ці АФК здатні впливати на процеси транскрипції у клітині. Впливаючи на велику кількість генів із різноманітними функціями, убихінон виступає як перспективний регулятор клітинних процесів [19, 13].

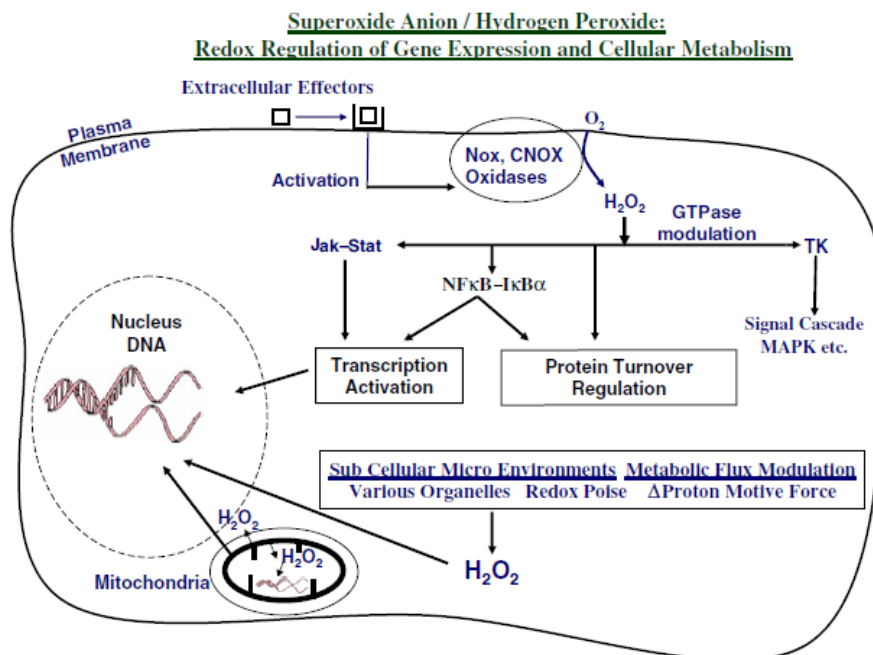


Рис. 2. Окисно-відновна регуляція генетичної експресії та клітинного метаболізму за допомогою супероксид-аніона/гідропероксиду [19]

Нещодавні дослідження показали, що убихінон здатен подавляти експресію гена iNOS, впливаючи таким чином на NO-опосередкований сигнальний шлях. Також він здатен чинити вплив на транскрипційний фактор NF- $\kappa$ B незалежно від своїх антиоксидантних властивостей. Припускається, що убихінон подавляє активність I $\kappa$ B kinase-2 [28].

Застосування  $CoQ_{10}$  у лікуванні остеоартриту призводить до інгібування таких медіаторів запалення як MMP-13, IL-1b, IL-6, IL-15 [17].

Дослідження показали, що убихінон може інгібувати старіння стовбурових клітин, пов'язане з діяльністю D-галактози, впливаючи на Akt/mTOR сигнальний шлях через послаблення експресії генів, які кодують білки p16, p53, та p21 [38].

У ході іншого дослідження було ідентифіковано 272 убихінол-чутливих гени. Серед цих генів були й ті, котрі беруть участь у регуляції запальних процесів (TNF $\alpha$ , CXCL2), а також клітинній диференціації й апоптозі (PMAIP1, NR4A2, CFLAR, MMD) [31].

$CoQ_{10}$  впливає на роботу фактора транскрипції PPAR $\alpha$ , котрий регулює експресію генів, які кодують ферменти і транспортні білки. Таким чином, коректуючи роботу PPAR $\alpha$ ,



CoQ<sub>10</sub> може впливати на метаболізм ліпопротеїнів, протидіяти накопиченню холестерину в макрофагах, а також проявляти протизапальну й антипроліферативну дію [31].

Експерименти на SAMP1 мишах показали, що добавки убіхінону захищають від викликаного віковими факторами зменшення експресії SIRT1 та SIRT3, а це призводить до активації PGC-1 $\alpha$ . Як результат CoQ<sub>10</sub> запобігає пов'язаному з віком зниженню активності комплексу І ланцюга транспорту електронів у мітохондріях, а також збільшенню кількості оксидативних стрес-маркерів [16].

Досліди на тваринах з порушенням процесу біосинтезу убіхінону показали, що зниження вмісту Q<sub>10</sub> впливає на роботу генів, відповідальних за ріст (РНК-полімераза 2) і окисні реакції (цитохром P450 та супероксиддисмутаза). Вчені припускають, що убіхінон і убіхінол сприяють роботі захисних механізмів клітини, впливаючи на генну експресію [9].

Ген mev-1 кодує цитохром у великій підгрупі в другому комплексі ферментів сукцинат-убіхінон-оксидоредуктази. Встановлено, що мутанти mev-1-kn1 гіперчутливі до окисного стресу і передчасної смерті. Можливо, це обумовлено тим, що під впливом аномального гена збільшується продукція супероксидних аніон-радикалів. CoQ10 (але не вітамін E) збільшує тривалість життя лабораторних тварин, пригнічуючи надлишкове напрацювання супероксидних радикалів. Також CoQ10 пригнічує активність гена mev-1, яка призводить до надмірного апоптозу клітин [3, 14].

У ході експерименту на SAMP1 мишах було показано, що добавки убіхінону уповільнювали старіння шляхом активації SIRT1 (впливає на епігенетичне сайленсування генів) та PGC-1 $\alpha$  (бере участь в енергетичному обміні, мітохондріальному біогенезі). Експерименти з використанням клітинної лінії гепатоми людини показали, що при додаванні убіхінолу підвищується експресія SIRT1, SOD2 та PPARGC1A як відповідь на окисний стрес, що виник [39].

Вчені досліджували вплив різноманітних типів харчування на перебіг генетичних процесів у клітинах людей похилого віку. Порівнювали американську дієту з високим вмістом насичених жирних кислот (SFA), середземноморську дієту (Med) і середземноморську дієту з добавками екзогенного убіхінону (Med + CoQ). Порівняно з SFA дієтою у пацієнтів, які вживали дієти Med і Med + CoQ, було виявлено більш низькі рівні експресії генів p65, IKK- $\beta$ , MMP-9, IL-1 $\beta$ , JNK-1, sXBP-1, BiP/Grp78, а експресія гена I $\kappa$ B була вищою. Виходячи з цього, можна зробити висновок, що добавки коензиму, в поєднанні з дієтичним втручанням, можна використовувати з метою профілактики й лікування різноманітних патологічних процесів, що супроводжуються розвитком запальних реакцій та окислювального стресу [37].

### Убіхінон у механізмах епігенетичної регуляції

Під епігенетичною регуляцією розуміють механізми зміни експресії генів, котрі не впливають на послідовність нуклеотидів у ДНК. До таких механізмів належать метилювання ДНК, модифікація гістонів і регуляція за допомогою мікроРНК.

Процес метилювання ДНК полягає у приєднанні метильної групи до цитозину в складі CpG-динуклеотиду в позиції C5 цитозинового кільця. У людини метилювано близько 1 % геномної ДНК. Функція метилювання полягає в активації/інактивації гена. У більшості випадків метилювання промоторних ділянок гена призводить до зменшення його активності [12].

Вчені досліджували вплив убіхінолу на процеси метилювання протизапальних генів. 14-денне вживання препарату екзогенного убіхінолу призвело до зменшення експресії генів PMAIP1, MMD, CXCL2 у моноцитах людини. Ці три гени кодують хемокіни, котрі

беруть участь у запальних процесах і диференціюванні моноцитів крові в макрофаги. Однак дослідження показали, що кількість метильованих острівців на генах PMAIP1 та MMD змінилася слабо. Метилування більшості острівців гена CXCL2 також не було залежним від добавок убіхінолу; застосування препарату, навпаки, призвело до зменшення кількості метильованих острівців. Теоретично, експресія даного гена мала би підсилитись, однак у результаті впливу убіхінолу активність CXCL2 знизилася більш ніж у 10 разів [12]. В іншому експерименті досліджували вплив убіхінолу на метилування генів, що відповідають за метаболізм ліпідів. Вчені намагалися встановити взаємозв'язок між зміною кількості метильованих острівців на промоторних ділянках генів ABCA1, ACSL1, ACYP1 та експресією цих генів. У ході досліджень на клітинах печінки мишей було встановлено, що убіхінол здатен впливати на експресію цих генів, однак не шляхом метилування-диметилування CpG-острівців на промоторних ділянках. Припускається, що зміни в експресії генів можуть бути обумовлені або метилуванням інших (не промоторних) ділянок генів, або модифікацією білків-гістонів [29].

МікроРНК – малі, некодуєчі молекули РНК, котрі виступають як негативний регулятор експресії на посттранскрипційному рівні. МікроРНК приєднуються до певної ділянки мРНК-мішені, що призводить до її блокування та/або деградації. На сьогоднішній день тільки в організмі людини виявлено більш ніж 1800 мікроРНК, однак їхня більша частина вивчена недостатньо. Багато авторів у своїх наукових дослідженнях показали, що СоQ може впливати на роботу (активуючи або подавляючи) більш ніж 40 різноманітних мікроРНК [6].

Експерименти на клітинах пупкової вени людини свідчать, що убіхінол проявляє протизапальну дію, впливаючи на активність мікроРНК-146а, її білок-мішень IRAK-1 та медіатор запалення ІЛ-6. Убіхінол, інгібуючи синтез мікроРНК-146а та прозапального цитокіна ІЛ-6, посилював синтез протизапального білка IRAK-1. Як результат – у клітинах спостерігалось згасання запальних процесів [26].

У дослідженнях *in vitro* на моноцитах людини було показано, що убіхінон інгібував експресію мікроРНК-146а, однак ці дані не були статистично значимими (активність мікроРНК-146а знизилася слабо). Подібне дослідження, проведене *in vivo* на печінці щурів, підтвердило ці результати. Виходячи з цього, вчені зробили висновок, що СоQ відповідає за тонку регуляцію перебігу запальної реакції шляхом помірнього зниження експресії мікроРНК-146а [30].

У ході досліджень *in vitro* з використанням людських макрофагів було встановлено, що СоQ<sub>10</sub> підсилював зворотний транспорт холестеролу, тим самим гальмуючи розвиток атеросклеротичного процесу. Дослідження показали, що кількість мікроРНК-378 зворотно корелює з експресією гена ABCG1 та відтоком холестерину. Це пов'язано з тим, що убіхінон інгібував синтез мікроРНК-378, котра мала би подавляти експресію ABCG1. У результаті збільшення кількості ABCG1 індукувався зворотний транспорт холестеролу за участю ліпопротеїнів високої густини [6]. Подібний експеримент *in vivo* було проведено на мишах. Впливаючи на роботу мікроРНК-378, убіхінол відміняв сайленсування А1(ABCA1) та G1(ABCG1). Надлишкова експресія мікроРНК-378 подавляла зворотний транспорт холестеролу, однак інгібування синтезу цієї мікроРНК сприяло підсиленню зворотного транспорту холестеролу за участю ліпопротеїнів [35, 36].

#### **Убіхінон і регуляція активності ферментів**

Будучи прооксидантом, сильним антиоксидантом, регулятором генетичної експресії та сигнальної трансдукції, убіхінон здатен впливати на активність великої кількості ферментів, що функціонують у клітинах.

У ході досліджень впливу убіхінолу на клітини серця людини, пошкоджені в результаті ішемії, було встановлено, що застосування  $\text{CoQ}_{10}$  сприяло індукції активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази. Підвищувати активність антиоксидантних ферментів убіхінол здатен за рахунок зменшення витоку електронів із дихального ланцюга, а також редукції процесів утворення АФК. Окрім того, убіхінол може безпосередньо виступати як антиоксидант, а також регенерувати інші антиоксиданти (аскорбінова кислота, альфа-токоферол) [15].

За експериментальної ішемії міокарда у собак  $\text{CoQ}_{10}$  сприяє нормалізації рівня АТФ, лактату і креатинфосфату, запобігає порушенню скоротливої здатності міокарда. Убіхінони суттєво знижують вміст ендогенних перекисних ліпідів у мітохондріях серця, встановлено концентраційну залежність антиоксидантної дії  $\text{CoQ}_{10}$  і рівня ПОЛ у мітохондріях [3, 4].

На додаток до своєї біоенергетичної й антиоксидантної ролі, убіхінон також виступає як кофактор дигідрооратдегідрогенази. Цей фермент каталізує окислення дигідроорату до орорату в FMN-групі, котра редукується до FMNH<sub>2</sub>. Потім FMNH<sub>2</sub> повторно окислюється за допомогою убіхінону, котрий перетворюється на убіхінол. Сам продукт реакції, орорат, є проміжною сполукою для синтезу піримідинів шляхом перетворення в рибонуклеотид. Вважається, що збільшення концентрації убіхінону в клітинах підсилює синтез піримідинів [20].

Гамма-глутамілтрансфераза (ГГТ) – фермент, що бере участь в обміні амінокислот і метаболізмі медіаторів запалення. Дослідження з використанням сироватки крові людини показали, що застосування убіхінолу зумовлює зниження активності ГГТ. Припускається, що, впливаючи на ГГТ, убіхінол сприяє зниженню окислювального стресу [27].

На сьогоднішній день не викликає сумнівів важлива роль ліпопротеїнових часток, таких як ліпопротеїни низької густини (ЛПНГ), ліпопротеїни дуже низької густини (ЛПДНГ) та ліпопротеїни високої густини (ЛПВГ), у розвитку патологій серцево-судинної системи, насамперед – атеросклерозу [2]. Атеросклероз – хронічне запальне захворювання стінок судин, пов'язане з окисленням ліпопротеїнів низької густини, відкладанням холестеролу в інтимі судин і запуском апоптотичних процесів у ендотеліальних клітинах [33]. Не один десяток років вчені усього світу розробляють способи боротьби з таким розповсюдженим захворюванням як атеросклероз. Дослідження з використанням  $\text{CoQ}_{10}$  показали, що він є перспективним засобом для боротьби з цим захворюванням. Коензим не тільки гальмує розвиток атеросклерозу, в деяких випадках він навіть сприяє регресові, впливаючи на велику кількість регуляторних механізмів у живому організмі.

Проявляючи антиоксидантні властивості, убіхінол інгібує окислення ЛПНГ. Застосування  $\text{CoQ}_{10}$  сприяло інгібуванню процесів ПОЛ, а також підвищувало активність каталази, супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у тканинах серця, захищаючи клітини від окислювального пошкодження [5].

Суттєві докази вказують на те, що ендотеліальна дисфункція викликана зниженням активності eNOS та підвищенням активності iNOS. Коензим, впливаючи на активності eNOS та iNOS, підвищував біодоступність NO. Припускається, що  $\text{CoQ}$  здатен впливати на процеси атерогенезу, діючи на NO-залежні сигнальні шляхи [33].

Серед ферментів, зв'язаних з ЛПВГ, важливе місце посідає параоксоназа (PON), потужний антиокислювальний фермент, котрий відіграє важливу роль у формуванні антиатерогенних властивостей цих часток, а також бере безпосередню участь у захисті самих ліпопротеїнів [2]. Є три ізоформи PON. Зниження активності PON1 призводить до підсилення оксидативного стресу в організмі та сприяє розвитку багатьох захворювань. Гідролізуючи перекиси ліпідів, PON1 сприяє елімінаванню окислених ЛПНГ, інгібуванню

біосинтезу холестеролу та стимуляції ЛПВГ-опосередкованого зворотного відтоку холестеролу із макрофагів. Саме PON1 запобігає диференціації моноцитів у макрофаги та перетворенню останніх на піністі клітини. Цей ізофермент сприяє регресії атеросклеротичних бляшок завдяки естеразному гідролізу окислених ліпідів. Продемонстровано позитивну кореляцію між вмістом CoQ в ЛПВГ і активністю PON1 [2, 3]. Антиатерогенна дія PON2 обумовлена його впливом на ланцюг переносу електронів у мітохондріях і виробництво АФК. PON2 пов'язана з дихальним комплексом III та CoQ. Дефіцит цього ізоферменту параоксонази призводить до дисфункції мітохондрій і підвищення окислювального стресу, в результаті чого відбувається збільшення окислювальних модифікацій ЛПНГ і підвищення атерогенних властивостей крові [8]. PON3 також асоційована з ЛПВГ та захищає їх від окислювальної модифікації, а також заважає утворенню атеросклеротичних бляшок [2].

Представлені у статті дані аргументують перспективу використання препаратів убіхінону як нових патогенетично обґрунтованих засобів для профілактики та лікування метаболічних порушень за різноманітних патологічних станів.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Донченко Г. В.* Биохимия убихинона (Q). К.: Наук. думка, 1988. 240 с.
2. *Коваленко В. М., Кучменко О. Б.* Молекулярно-генетичні особливості функціонування параоксонази та її значення в розвитку серцево-судинної патології // Укр. кардіолог. журнал. 2014. Т. 5. С. 105–116.
3. *Кучменко О., Мхітарян Л.* Роль убіхінону (коферменту Q) в профілактиці та лікуванні патологій серцево-судинної системи // Журнал Академії медичних наук України. 2005. Т. 11. С. 672–690.
4. *Симоненко В. Б.* Антиоксиданти в комплексной терапии инфаркта миокарда // Клини. медицина. 1998. Т. 11. С. 20–25.
5. *Ahmadvand H., Mabuchi H., Atsushi N.* et al. Effects of coenzyme Q<sub>10</sub> on LDL oxidation *in vitro* // Acta Med. Iran. 2013. Vol. 41. N 1. P. 12–18.
6. *Allen R., Vickers K.* Coenzyme Q<sub>10</sub> increases cholesterol efflux and inhibits atherosclerosis through microRNAs // Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol. 2014. Vol. 34. N 9. P. 1795–1797.
7. *Bentinger M., Brismar K., Dallner G.* The antioxidant role of coenzyme Q // Mitochondrion. 2007. Vol. 7s. P. 41–50.
8. *Devarajan A., Bourquard N., Hama S.* et al. Paraoxonase 2 deficiency alters mitochondrial function and exacerbates the development of atherosclerosis // Antioxid. Redox Signal. 2011. Vol. 14. N 3. P. 341–351.
9. *Doring F.* Physiological functions of ubiquinone and ubiquinol dependent gene expression signatures // The eighth conference of the international coenzyme Q<sub>10</sub> association. Bologna. 2015. P. 47.
10. *Enriquez J.* Coenzyme Q redox status controls the dynamic configuration of the mitochondrial electron transport chain by reverse electron transport // The eighth conference of the international coenzyme Q<sub>10</sub> association. Bologna. 2015. P. 5.
11. *Enriquez J., Lenaz G.* Coenzyme Q and the respiratory chain coenzyme Q pool and mitochondria supercomplexes // Mol. Syndromol. 2014. Vol. 5. P. 119–140.
12. *Fischer A., Onur S., Schmelzer C., Doring F.* Ubiquinol decreases monocytic expression and DNA methylation of the pro-inflammatory chemokine ligand 2 gene in humans // DMC Res. Notes. 2012. Vol. 5. N 540. P. 1–7.
13. *Groneberg D., Kindermann B., Althammer M.* et al. Coenzyme Q<sub>10</sub> affects expression of genes involved in cell signaling, metabolism and transport in human CaCo-2 cells // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2005. Vol. 37. N 6. P. 1208–1218.
14. *Ishii N., Senoo-Matsuda N., Miyake K.* et al. Coenzyme Q10 can prolong *C.elegans* lifespan by lowering oxidative stress // Mech. Ageing Dev. 2004. Vol. 125. N 1. P. 41–46.

15. *Kaya Y., Cebi A., Soylemez N.* et al. Correlation between oxidative DNA damage, oxidative stress and coenzyme Q10 in patients with coronary artery disease // *Int. J. Med. Sci.* 2012. Vol. 9. N 8. P. 621–626.
16. *Keiichi H., Zhe X., Geng T.* et al. Reduced coenzyme Q<sub>10</sub> (ubiquinol-10) activates mitochondrial functions and decelerates senescence by activating sirtuin pathways and inhibiting cAMP phosphodiesterases // The eighth conference of the international coenzyme Q<sub>10</sub> association. Bologna. 2015. P. 10.
17. *Lee J., Hong Y., Jeong J.* et al. Coenzyme Q10 ameliorates pain and cartilage degradation in rat model of osteoarthritis by regulating nitric oxide and inflammatory cytokines // *PLOS ONE*. 2013. Vol. 8. N 7. P. 1–8.
18. *Lenaz G., Fato R., Formiggini G., Genova M.* The role of coenzyme Q in mitochondrial electron transport // *Mitochondrion*. 2007. Vol. 1787. N 6. P. 8–33.
19. *Linnane A., Kios M., Vitetta L.* Coenzyme Q<sub>10</sub> – its role as a prooxidant in the formation of superoxide anion/hydrogen peroxide and the regulation of the metabolome // *Mitochondrion*. 2007. Vol. 7s. P. 51–61.
20. *Lopez L., Sanchez M., Garcia-Corzo L.* et al. Pathomechanism in coenzyme Q<sub>10</sub>-deficient human fibroblasts // *Molecular syndromology*. 2014. Vol. 5. N 3–4. P. 163–169.
21. *Mancini A., Festa R., Raimondo S.* et al. Hormonal influence on coenzyme Q<sub>10</sub> levels in blood plasma // *Int. J. Mol. Sci.* 2011. Vol. 12. P. 9216–9225.
22. *Morre D. J., Morre D. M.* Non-mitochondrial coenzyme Q // *Bio Factors*. Vol. 37. N 5. P. 355–360.
23. *Mugoni V., Postel R., Catanzaro V.* et al. Ubiad 1 is antioxidant enzyme that regulates eNOS activity by CoQ<sub>10</sub> // *Cell*. 2013. Vol. 152. N 3. P. 504–518.
24. *Navas P., Villalba J., Cabo R.* The importance of plasma membrane coenzyme Q in aging and stress responses // *Mitochondrion*. 2007. Vol. 7s. P. 34–40.
25. *Ohnishi T., Salerno J.* Conformation-griven and semiquinonegated proton-pump mechanism in the NADH-ubiquinone oxidoreductase (complex I) // *FEBS*. 2005. Vol. 579. N 21. P. 4555–4561.
26. *Olivieri F., Lazzarini R., Babini L.* et al. Anti-inflammatory effect of ubiquinol-10 on young and senescent endothelial cells via miR-146a modulation // *Free Radic. Biol. Med.* 2013. Vol. 63. P. 410–420.
27. *Onur S., Fischer A., Niklowitz P.* et al. Identification of population subgroups with critical ubiquinol status // The eighth conference of the international coenzyme Q<sub>10</sub> association. Bologna. 2015. P. 79.
28. *Peerapanyasut W., Thamprasert K., Wongmekiat O.* Ubiquinol supplementation protects against renal ischemia and reperfusion injury in rats // *Free Radic. Res.* 2014. Vol. 48. N 2. P. 180–189.
29. *Schmelzer C., Kitano M., Hosoe K., Doring F.* Ubiquinol affects the expression of genes involved in PPAR signaling and lipid metabolism without changes in methylation of CpG promoter islands in the liver of mice // *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2012. Vol. 50. N 2. P. 121–126.
30. *Schmelzer C., Kitano M., Rimbach G.* et al. Effects of ubiquinol-10 on microRNA-146a expression in Vitro and in Vivo // Hindawi publishing corporation mediators of inflammation. 2009. Vol. 2009. Article ID 415437. P. 1–7.
31. *Schmelzer C., Niklowitz P., Okun J.* et al. Ubiquinol-induced gene expression signatures are translated into altered parameters of trythropoiesis and reduced low destiny lipoprotein cholesterol levels in humans // *IUBMB Life*. 2011. Vol. 63. N 1. P. 42–48.
32. *Sewduth R., Panieri E., Millia C.* et al. Ubiad1 is an antioxidant enzyme that regulates CoQ<sub>10</sub> synthesis in endothelial cells // The eighth conference of the international coenzyme Q<sub>10</sub> association. Bologna. 2015. P. 16.

33. Tsai K., Huang Y., Kao C. et al. A novel mechanism of coenzyme Q<sub>10</sub> protects against human endothelial cells from oxidative stress-induced injury by modulating NO-related pathways // *J. Nutr. Biochem.* 2012. Vol. 23. N 5. P. 458–468.
34. Turunen M., Olsson J., Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q // *Biochimica et biophysica.* 2004. Vol. 1660. N 12. P. 177–199.
35. Wang D., Yan X., Xia M. et al. Coenzyme Q<sub>10</sub> promotes macrophage cholesterol efflux by regulation of the activator protein-1/miR-378/ATP-binding cassette transporter G1-signalling pathway // *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014. Vol. 34. N 9. P. 1860–1870.
36. Yan X., Shen T., Jiang X. et al. Coenzyme Q10 consumption promotes ABCG-1 mediated macrophage cholesterol efflux: a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over study in healthy volunteers // *Mol. Nutr. Food Res.* 2015. Vol. 59. N 9. P. 1725–1734.
37. Yubero-Serrano E., Gonzales-Guardia L., Rangel-Zuniga O. et al. Mediterranean diet supplemented with coenzyme Q<sub>10</sub> modifies the expression of proinflammatory and endoplasmic reticulum stress-related genes in elderly men and women // *J. Gerontol.: Biol. Sci.* 2012. Vol. 67a. N 1. P. 3–10.
38. Zhang D., Yan B., Yu S. et al. Coenzyme Q 10 inhibits the aging of mesenchymal stem cells induced by D-galactose through akt/mTOR signaling // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015. Vol. 2015. Article ID 867293. 10 p.
39. Zhe X., Geng T., Jia H. et al. Ubiquinol-10 might suppress the aging process by inhibiting type 4 cAMP phosphodiesterases // *The eighth conference of the international coenzyme Q<sub>10</sub> association.* Bologna. 2015. P. 100.

*Стаття: надійшла до редакції 30.01.17*

*прийнята до друку 21.03.17*

## MODERN ASPECTS OF UBIQUINONE FUNCTIONS IN CELL METABOLISM

V. Dziuba<sup>1</sup>, O. Kuchmenko<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Melitopol State Pedagogical University named after Bohdan Khmelnytsky  
20, Hetmanska St., Melitopol 72300, Ukraine  
e-mail: dziuba-v-v@yandex.ua

<sup>2</sup>National Scientific Center «M.D. Strazhesko Institute of Cardiology»  
NAMS of Ukraine  
5, Narodnoho Opolchennia St., 5, Kyiv 02000, Ukraine  
e-mail: kuchmeh@yahoo.com

CoQ<sub>10</sub> is a fat-soluble vitamin-quinone found in most cells and membranes. Ubiquinone is an obligatory component of the respiratory chain in the inner mitochondrial membrane coupled to ATP synthesis and an antioxidant. Its additional localization in different subcellular fractions is probably associated with its multiple functions in the cell. Ubiquinone can influence on activity of many enzymes with different functions (antioxidant, energy, etc). CoQ<sub>10</sub> is also a cofactor in the reaction catalyzed by the mitochondrial protein dihydroorotate dehydrogenase and uncoupling proteins UCPs. One of the functions of ubiquinone is gene expression regulation. He is involved in inflammatory processes and lipid metabolism via gene expression. Furthermore, CoQ<sub>10</sub> can influence on epigenetic modifications that able to determine the gene expression (DNA methylation, miRNA, histone modifications). Ubiquinone is the introduction of metabolic drugs and may be recommended for the prevention and treatment of metabolic disorders caused by various pathological conditions.

*Keywords:* ubiquinone (coenzyme Q<sub>10</sub>), miRNA, reactive oxygen species, gene expression

БІОФІЗИКА

УДК 591.3:597.55.2 (574.2:577.151)

**ЗМІНА АКТИВНОСТІ  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази В ЕМБРІОНАХ КОРОПОВИХ РИБ  
ЗА ДІЇ РІЗНОГО ТЕМПЕРАТУРНОГО ТА КИСНЕВОГО РЕЖИМУ ВОДОЙМ**

**О. Водяницький, О. Потрохов, О. Зіньковський, М. Причеп**

*Інститут гідробіології НАН України  
просп. Героїв Сталінграда, 12, Київ 04210, Україна  
e-mail: fishfarmeralex@ukr.net*

У зв'язку з глобальним підвищенням середньорічних температур відбуваються суттєві зміни умов існування гідробіонтів. Останнім часом у багатьох водоймах спостерігається зростання температури води на 4–5 °С. Оскільки риби є пойкилотермними тваринами, то дані зміни будуть сильно позначатися на їхній життєдіяльності. Саме тому метою наших досліджень було визначити вплив екологічних чинників водного середовища та їхні коливання на ранні етапи розвитку ембріонів риб, оцінити ступінь їхньої дії за анатомічними, морфологічними, біохімічними і генетичними показниками. У даній статті освітлено лише частину від загальної кількості отриманих результатів, а саме зміну активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази для ембріонів коропа, білого амура та білого товстолобика. Встановлено міжвидову різницю в активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази. За погіршення температурних умов і зниження при цьому концентрації розчиненого кисню у білого товстолобика підвищується активність ферменту, тобто відбувається посилений обмін між зовнішнім і внутрішнім середовищем ікринки, що ми спостерігали за температури 30,4 та 30,6 °С, де активність ферменту була найвищою. Крім того, при цьому відбувався прискорений ріст ембріонів і спостерігався значний відсоток аномалій їхнього розвитку. Оптимальною, на наш погляд, була температура під час інкубації білого товстолобика в межах 25–28 °С. Для ікри білого амура виявлено максимальне значення активності АТФ-ази за температури 25,6 °С (41,1 мкг Р/год×мг білка). Оптимальними за показником активності досліджуваного ферменту ми вважаємо температури на рівні 25,0 °С, як і для білого товстолобика. У коропа на стадії пігментації очей нами відмічено найвищу активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази за температури 22,0–24,0 °С, яка була на 22,8–59,0 % вищою, ніж за 25,0–28,0 °С. Саме 22,0–24,0 °С є оптимальним температурним режимом для цього виду у природних водоймах. З підвищенням температури на цій стадії відбувається зниження активності ферменту, що зумовлено адаптивною реакцією ембріона на зростаючий вплив температурного чинника та зниження вмісту розчиненого у воді кисню.

*Ключові слова:* ембріональний розвиток, температура води, вміст розчиненого кисню, активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази, адаптація

Останнім часом у багатьох водоймах спостерігається підвищення температури води на 4–5 °С, що суттєво впливає на умови існування риб [18]. При цьому знижується вміст розчиненого у воді кисню, активізується утворення вуглекислого газу та сірководню, підвищується вміст заліза у воді. Крім того, змінюється видовий склад фіто- і зоопланктону, відбувається зміщення біологічних сезонів у часі [13].

Здатність жити в певному температурному інтервалі є власним еволюційним надбанням кожної групи риб. Проте, поряд із адаптацією до конкретного температурного режиму, важливе значення має здатність кожного виду вчасно реагувати на короткочасні або тривалі зміни температури.

Як відомо, життєдіяльність водяних організмів значною мірою регулюється впливом зовнішніх чинників через їхній постійний контакт зі середовищем існування та внаслідок особливостей термодинаміки самих організмів [19]. Тому у пойкилотермних тварин є механізми контролю інтенсивності обмінних процесів, насамперед, за рахунок ферментативної регуляції. Відомо, що мембранна  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-аза клітин одною з перших забезпечує формування первинної реакції на дію чинників і запускає механізми формування довготривалої адаптації [1, 2].

За температурної адаптації зміни, які відбуваються у клітинних мембранах, можуть відігравати важливу роль. Роль АТФ-ази при цьому може бути ключовою не тільки в підтримці структурної цілісності мембран, але й у забезпеченні їхнього функціонального статусу, перш за все йонного обміну [11, 16].

Водночас фізіолого-біохімічні явища та процеси, які відбуваються безпосередньо в зоні сублетальних значень температур (зазвичай вище  $30\text{ }^\circ\text{C}$ , на межі життєдіяльності гідробіонтів), багато в чому залишаються маловивченими [8].

Періодичні синусоїдальні коливання температури в межах екологічної валентності виду не знижують, а підвищують швидкість росту риб, оптимізуючи їхні енергозатрати [17]. Усі ці зміни так чи інакше пов'язані з йонним обміном. Підвищення швидкості росту риб, під впливом коливань температури за межами оптимальних показників, безперечно, супроводжується зниженням інтенсивності дихання [9], зміною масо-розмірних характеристик, зменшенням числа виживаності та збільшенням відсотка аномалій розвитку [3–5].

$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-аза є одним із ключових ферментів, необхідних для життєдіяльності клітини, оскільки крім основної функції (створення оптимального внутрішньоклітинного співвідношення іонів  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$ ), цей фермент може опосередковано через створення рушійної сили забезпечувати перенесення різних метаболітів, у тому числі цукрів і амінокислот, через клітинну мембрану [12].

Тому **метою** наших досліджень було визначити вплив температурного режиму водойми на швидкість розвитку ембріонів білого товстолобика, білого амура та коропа й активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази.

#### Матеріали та методи

Дослідження проводили на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. Біологічним матеріалом досліджень були ікра, ембріони білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.), білого амура (*Stenopharyngodon idella* Val.) та коропа (*Cyprinus carpio* L.).

Нами були відібрані три водойми (ставки), які через особливості свого розташування та ступеня затінення відрізнялися за температурними умовами, а завдяки цьому – і за кисневим режимом. Температуру води вимірювали протягом доби о 4, 12 та 20 год і по мірі проходження ембріональних стадій розвитку піддослідних видів риб. Вміст розчиненого кисню вимірювали о 4 годині ранку методом Вінклера [15]. Усі дослідні водойми наповнювалися водою з р. Рось. Ця вода характеризується такими гідрохімічними показниками:  $\text{O}_2$  – 8,4–9,7 мг/дм<sup>3</sup>; рН – 8,3; твердість – 6,1 мг-екв./дм<sup>3</sup>;  $\text{Ca}^{2+}$  – 3,3 мг-екв./дм<sup>3</sup> або 66,13 мг  $\text{Ca}^{2+}$ /дм<sup>3</sup>;  $\text{Mg}^{2+}$  – 2,8 мг-екв./дм<sup>3</sup> або 34,02 мг  $\text{Mg}^{2+}$ /дм<sup>3</sup>;  $\text{Cl}^-$  – 0,85 мг-екв./дм<sup>3</sup> або 30,13 мг  $\text{Cl}^-$ /дм<sup>3</sup>;  $\text{NH}_4^+$  – 0,277 мг N/дм<sup>3</sup>;  $\text{NO}_2^-$  – 0,006 мг N/дм<sup>3</sup>;  $\text{NO}_3^-$  – 0,080 мг N/дм<sup>3</sup>;  $\text{PO}_4^{3-}$  – 0,062 мг P/дм<sup>3</sup>;  $\text{PO}$  – 8,0 мг O/дм<sup>3</sup>;  $\text{BO}$  – 18,48 мг O/дм<sup>3</sup>.

Ікру від самок отримували шляхом стимулювання їх гіпофізарними ін'єкціями. Для кожного виду риб дослідження проводили в різні строки, згідно з настанням нерестових



температур у природних умовах: короп – травень; білий амур – червень; білий товстолобик – червень-липень.

Вранці (7<sup>оо</sup>-8<sup>оо</sup> год), штучно запліднена ікра білого товстолобика, білого амура та коропа розміщувалася в сітчастих контейнерах у водоймі та підлягала дії всього комплексу екологічних умов водного середовища. Стадії розвитку контролювали шляхом періодичного огляду досліджуваної ікри під біокуляром. Ікру на різних стадіях розвитку відбирали та заморожували за температури -18 °С. Після деякого часу зберігання ікру розморожували за кімнатної температури та розтирали у фарфоровій ступці. Далі отримані гомогенати досліджували за сімома біохімічними методиками. Визначали кількість білків, ліпідів і глікогену, а також активність Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-ази, сукцинатдегідрогенази (СДГ), лактатдегідрогенази (ЛДГ) та протеаз.

Активність Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-активуючої Mg-залежної аденозинтрифосфатази (АТФ-ази) встановлювали за приростом неорганічного фосфору в середовищі інкубації [14]. Вміст фосфору встановлювали за методом М.Н. Кондрашової та ін. [10]. Інкубаційне середовище (1 мл розчину) містило: NaCl – 100 мкмоль, KCl – 20 мкмоль, MgCl<sub>2</sub> – 5 мкмоль, трис-НСl (рН 7,4) – 50 мкмоль. У середовище додавали 0,1 мл 3-молярного розчину АТФ-Na<sub>2</sub> на 50 молярному буфері трис-НСl (рН 7,4). АТФ-азну активність розраховували в мкмольах Р/мг білка×год [10]. Визначення вмісту білка здійснювали за Лоури (Lowry et al., 1951) [14].

Отримані дані опрацьовано статистично за допомогою програми Statistica 5.5.

#### Результати і їхнє обговорення

##### 1) Активність Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-ази ікри білого товстолобика на різних стадіях розвитку за коливань температури води та концентрації розчинного кисню у водоймі

Згідно з результатами досліджень встановлено, що активність Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-ази ікри білого товстолобика на стадії закінчення гастрюляції поступово зростає по мірі підвищення температури оточуючого середовища (рис. 1). Так, за температури води 30,4–30,6 °С вона вища в 1,8–3,0 рази, порівняно з температурою 22,0–23,4 °С. Відзначені температури води відмічали о 19 год, вночі спостерігали її падіння на 1,5–3,0 °С. Це вказує на посилення йонного обміну в ікрі товстолобика за дії температурного чинника, оскільки білий товстолобик – теплолюбний вид, для якого оптимальними для інкубації ікри вважається температура 24,0–25,0 °С. При цій температурі спостерігаються середні значення активності АТФ-ази (9,6–11,2 мкг Р/год×мг білка). Зміну активності ферменту за дії температури водного середовища можна вважати за своєрідну адаптивну реакцію організму вже на стадії гастрюляції – одного з критичних періодів у розвитку риб.

Для білого товстолобика під час раннього ембріонального розвитку на стадії гастрюляції характерне те, що в оболонці активність АТФ-ази досить адекватно відображає стан зовнішнього середовища, його сприятливість для ембріонів. За погіршення температурних умов та зниження при цьому концентрації розчиненого кисню підвищується активність АТФ-ази, тобто відбувається посилений обмін між зовнішнім і внутрішнім середовищем ікринки, що ми спостерігали за температури 30,4 та 30,6 °С, де активність ферменту була найвищою. Крім того, за таких умов відбувався прискорений ріст ембріонів і спостерігався значний відсоток аномалій розвитку [3–7]. Це могло стати наслідком порушень у диференціюванні зародкових листів на стадії гастрюляції. Оптимальною, на наш погляд, була температура в межах 25–28 °С. Зі збільшенням температури відбуваються суттєві перебудови у метаболічних процесах, що відображається на зміні ферментативної активності, зокрема АТФ-ази. У цих водоймах у ранішні години відбувалося зниження вмісту розчиненого кисню. Це могло також сприяти посиленню йонного обміну,

інтенсивному використанню енергоресурсів (у тому числі й АТФ), що є проявом адаптивної реакції до несприятливих умов існування. Також на основі отриманих результатів була побудована кореляційна залежність між температурою води й активністю АТФ-ази ікри білого товстолобика на стадії кінець гастрюляції (рис. 2).

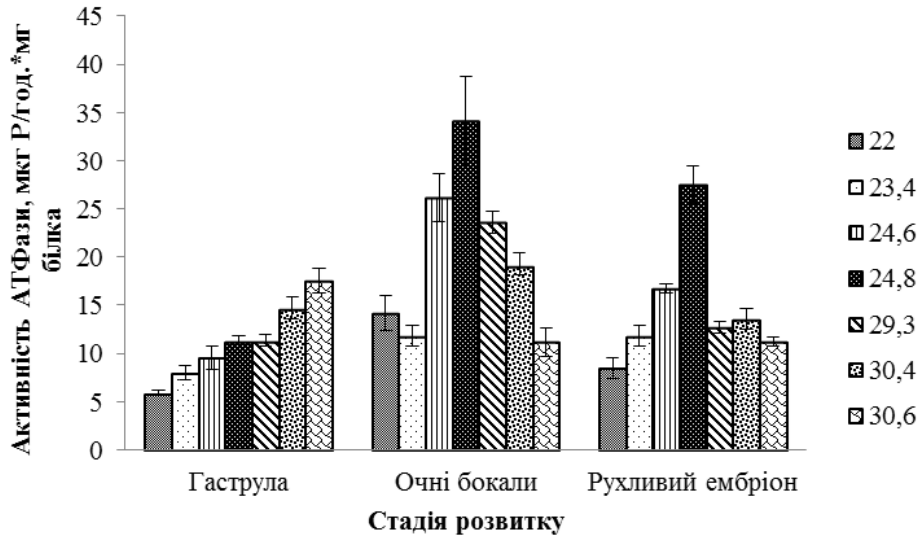


Рис. 1. Зміна активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази ікри білого товстолобика під час інкубації у природних водоймах на різних стадіях розвитку під впливом температури води,  $M \pm m$ ,  $n=6$

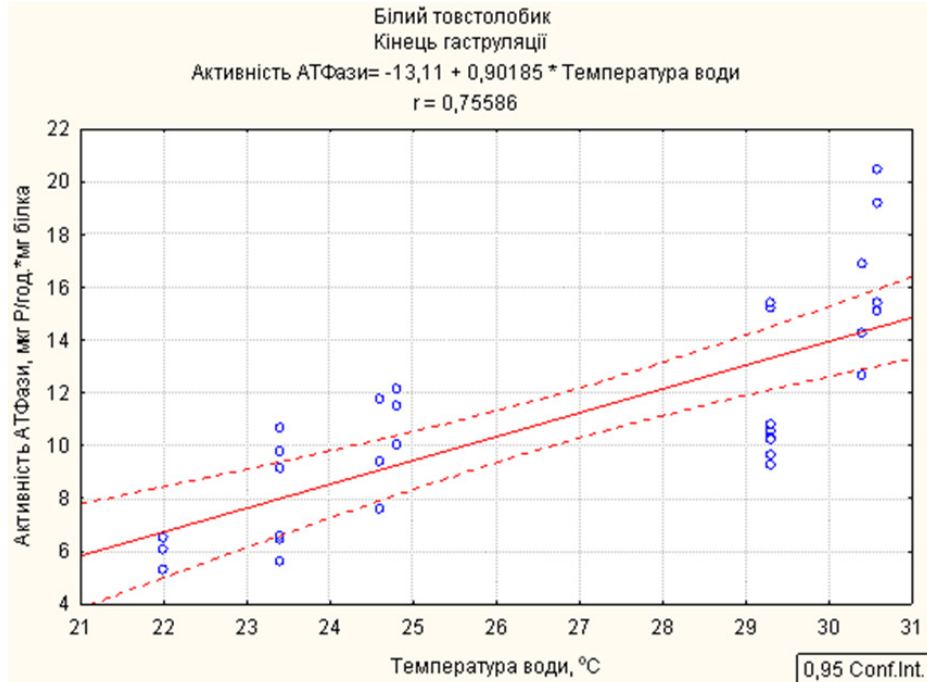


Рис. 2. Кореляційна залежність між температурою води й активністю АТФ-ази ікри білого товстолобика на стадії кінець гастрюляції

На стадії очних бокалів в ікрі товстолобика відбувається істотне підвищення активності досліджуваного ферменту, що вказує на збільшення контакту ембріона з зовнішнім середовищем на цьому етапі розвитку, зокрема, через необхідність додаткового надходження кисню. Крім того, збільшення активності АТФ-ази, можливо, викликане необхідністю більшого залучення йонного обміну між внутрішнім і зовнішнім середовищем для забезпечення тканинного гомеостазу.

На рис. 1 показано, що оптимальною для ембріонального розвитку риб на стадії очних бокалів була температура на рівні 25,0 °С. За інших досліджуваних температур спостерігали зниження активності цього ферменту, що, вочевидь, пов'язано зі зниженням у цих умовах йонного обміну в мембранах ікри.

Як і на попередній стадії розвитку, на стадії рухливого ембріона також найбільш сприятливим є температурний режим на рівні 25,0 °С. При збільшенні температури води з 22,0 °С до 24,8 °С активність АТФ-ази зростала у 3,2 разу. При подальшому підвищенні температури до 29,3–30,6 °С відбувалося зниження активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази, що свідчить про зниження йонного обміну за таких умов і залучення інших ферментів у обмінних процесах. Спостерігається адаптивна перебудова метаболічних процесів в організмі за перевищенням оптимальної температури для ембріонів білого товстолобика.

## 2) Активність $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази ікри білого амура на різних стадіях розвитку під впливом коливань температури води та концентрації розчинного кисню у водоймі

Аналогічні дослідження проведено на ікрі білого амура. Згідно з отриманими результатами, на стадії гастрюляції у цього виду виявлено максимальне значення активності АТФ-ази за температури 25,6 °С (41,1 мкг Р/год×мг білка). Порівняно з мінімальною температурою води (19,6 °С) та макимальною (29,2 °С) активність цього ферменту була вищою у 3,5 та 2,3 разу відповідно (рис. 3).

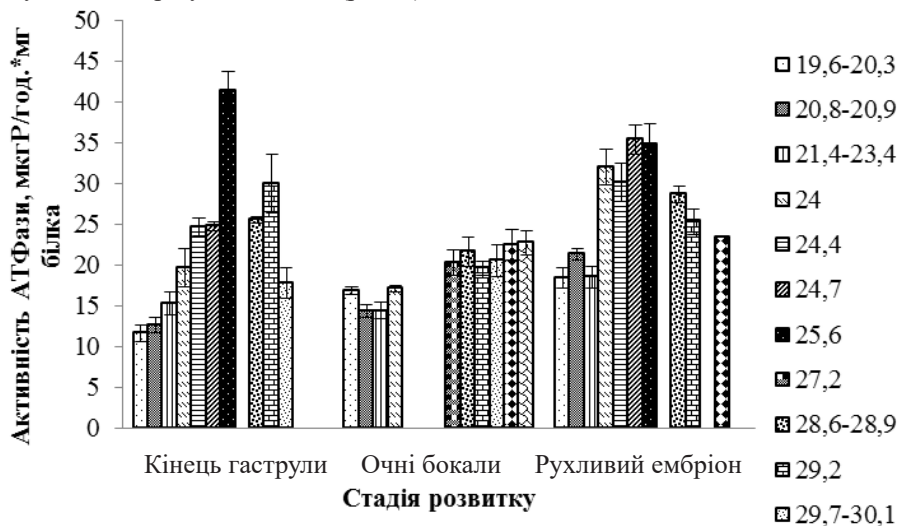


Рис. 3. Зміна активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази ікри білого амура під час інкубації у природних водоймах на різних стадіях розвитку під впливом температури води,  $M \pm m$ ,  $n=6$

На відміну від ікри білого товстолобика, у білого амура на стадії очних бокалів відбувається зниження активності АТФ-ази та, відповідно, і йонного обміну на мембранах клітин, порівняно зі стадією гастрюляції. Лише за температур від 20,3 до 24,0 °С відбувалося зростання активності ферменту на стадіях раннього органогенезу, порівняно з гастрюляцією.

На стадії рухливого ембріона активність ферменту знову зростає від 18,5 до 35,4 мкг Р/год×мг білка залежно від температури оточуючого середовища. Це свідчить про посилення йонного обміну напередодні вилуплення ембріонів з оболонки ікринки. Оптимальними за показником активності досліджуваного ферменту зародків білого амура ми вважаємо температури на рівні 25,0 °С, як і для білого товстолобика. Саме за цієї температури відбувалося максимальне зростання активності АТФ-ази, порівняно з іншими температурними режимами. Важливо відзначити, що за температури 25,0 °С створилися задовільні кисневі умови (вище за 5,0 мг О/дм<sup>3</sup>), чого не спостерігали при перевищенні температурного оптимуму. За досить високого температурного режиму (вище 28,0 °С) найчастіше був помічений аномальний розвиток ембріонів, зменшення довжини та маси тіла, а також зниження відсотка виживаності [3–7].

### 3) Активність Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-ази в ікрі коропа на різних стадіях розвитку під впливом коливань температури води та концентрації розчинного кисню у водоймі

За результатами досліджень, проведеними на ікрі коропа, було встановлено, що на стадії очних бокалів активність ферменту була вищою за температури 22,3 °С на 4,2 та 7,2 рази, ніж за 20,0 та 21,7 °С (рис. 4). У свою чергу, при подальшому зростанні температури до 25,4 °С активність АТФ-ази знижується у 2,6, а до 27,8 °С – у 17,6 разу. Це вказує на деяку ізоляцію ембріонів від несприятливого зовнішнього середовища шляхом зниження йонного обміну з ним і переходом на анаеробний обмін у тканинах ембріонів. Особливо важливим є той факт, що за цих температурних умов знижується вміст розчиненого у воді кисню до 2,5–2,8 мг/дм<sup>3</sup>, а розвиток ембріонів трохи уповільнюється.

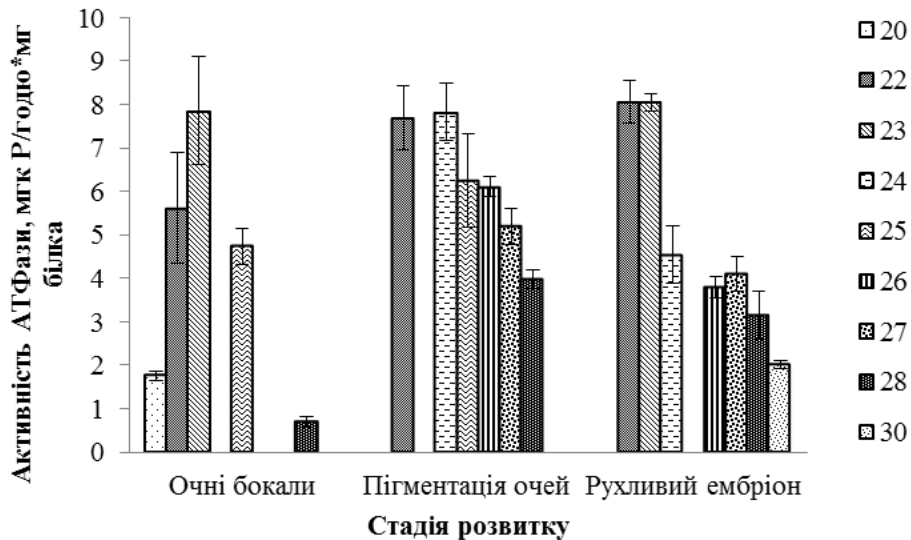


Рис. 4. Зміна активності Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-ази ікри коропа під час інкубації у природних водоймах на різних стадіях розвитку під впливом температури води, M±m, n=6

На стадії пігментації очей у коропа нами відмічено найвищу активність Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-ази за температури 22,0–24,0 °С, яка була на 22,8–59,0 % вищою, ніж за 25,0–28,0 °С. Саме 22,0–24,0 °С є оптимальним температурним режимом для цього виду у природних водоймах. З підвищенням температури на цій стадії відбувається зниження активності ферменту, що зумовлено адаптивною реакцією ембріона на зростаючий вплив температурного чинника та зниження вмісту розчиненого у воді кисню.

Для ікри коропа на стадії рухливого ембріона встановлено аналогічну тенденцію за зміною активності АТФ-ази, як і на стадії пігментації очей. Зокрема, з підвищенням температури водного середовища зменшувалась активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази, що зумовлено послабленням окисно-відновних і посиленням анаеробних процесів за низького вмісту кисню у воді. Особливо відчутне зниження активності ферменту в ікрі встановлено за температури води 30 °С.

За надмірно високої температури відмічається аномальний розвиток ембріонів, поява ембріопатів. Тобто швидкість росту й розвитку зародків супроводжується порушеннями поділу клітин ембріонів й виражається у зниженні життєздатності нащадків.

Оптимальними температурами для розвитку у коропа є температури 22–24 °С, а у білого амура та білого товстолобика 24–25 °С. При цьому у рослиноїдних риб протягом ембріогенезу рівень оптимальної температури для розвитку зародків може змінюватися залежно від стадії розвитку, чого не відмічалось для коропа. У цьому полягає міжвидова різниця досліджуваних риб.

За напрямками змін активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази та її величини в комплексі з іншими показниками (зміною активності сукцинатдегідрогенази, лактатдегідрогенази та протеаз, кількістю білків, ліпідів і глікогену, а також масо-розмірними характеристиками) можна розраховувати, якими є екологічні умови – оптимальними чи критичними – для проходження ембріогенезу риб у природних водоймах.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Антонов В. Ф. Мембранный транспорт // Сорос. образов. журнал. 1997. № 6. С. 4–12.
2. Бойко Н., Целевич М., Санагурський Д. Вплив йонів важких металів на активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФ-ази та динаміку трансмембранного потенціалу зародків в'юна // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2002. Вип. 29. С. 25–31.
3. Водяницький О. М., Прімачов М. Т., Гриневич Н. Є. Вплив температурного та кисневого режимів водного середовища на виживаність та розвиток коропових риб // Наук. вісн. НУБіП України. Сер. біол., біотехнол., екол. 2016. № 234. С. 70–78.
4. Водяницький О. М., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Ембріональний розвиток коропа й активність ферментів енергетичного та пластичного обміну за дії коливань температурного режиму водойми // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології: Матеріали VII Міжнар. іхтіологічної наук-практ. конф., присвяч. 140-річчю Херсон. держ. аграр. ун-ту. 10–13 вересня 2014 р. Мелітополь; Бердянськ, 2014. С. 38–42.
5. Водяницький О. М., Потрохов О. С., Зінковський О. Г. Вплив коливань температурного режиму водойми на ембріональний розвиток білого товстолобика // Рибогосподарська наука України. 2015. № 1. С. 96–107.
6. Водяницький О. М. Активність ферментів енергетичного та пластичного обміну ембріонів білого товстолобика за дії коливань температурного та кисневого режиму водойми // Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: зб. матеріалів наук-практ. конф., присвяч. 75-річчю заснування Ін-ту гідробіології НАНУ. 2–3 квітня 2015 р. К., 2015. С. 16–18.
7. Водяницький О. М., Причела М. В. Вплив абіотичних чинників на активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази під час ембріонального розвитку коропа та білого амура // Сучасна гідроекологія: місце наукових досліджень у вирішенні актуальних проблем: наук-практ. конф. молодих вчених. 6–7 жовтня 2016 р. К., 2016. С. 13–15.
8. Голованов В. К., Чуйко Г. М., Подгорная В. А. Физиолого-биохимические аспекты адаптаций рыб в зоне сублетальных высоких температур // Современные проблемы

- физиологии и биохимии водных организмов: материалы III Междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов. 22–26 июня 2010 г. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. С. 32–34.
9. Зданович В. В. Сопряженность изменения различных параметров метаболизма карпа *Syrpinus carpio* при колебаниях температуры // Вестн. МГУ. 2004. № 3. С. 45–49.
  10. Кондрашова М. Н., Лесогорова М. Н., Шноль С. Э. Метод определения неорганического фосфора по спектрам поглощения в ультрафиолете // Биохимия. 1965. Т. 30. Вып. 3. С. 567–572.
  11. Кравцов А. В., Алексенко И. Р. Механизмы регуляции векторных ферментов биомембран. К.: Наук. думка, 1990. 176 с.
  12. Кяйвяряйнен Е. И., Борвинская Е. В., Куклина М. М., Немова Н. Н. Роль  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФ-азы в биохимических механизмах адаптации к биотическим и абиотическим факторам среды // Современ. проблемы физиологии и биохимии водных организмов: материалы III Междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов 22–26 июня 2010 г. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. С. 115–120.
  13. Лукьяненко В. И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии. М.: Агропромиздат, 1987. 240 с.
  14. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / ред. М.И. Прохорова. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. 272 с.
  15. Culberson C. H., Knapp G., Williams R. T., Zemlyak F. A comparison of methods for the determination of dissolved oxygen in seawater. – WHP Office report, WHPO-91-2, February 1991. [Updated 8/99].
  16. Diana J. S. The growth of largemouth bass, *Micropterus salmoides*, under constant and fluctuating temperatures // J. Fish Biol. 1984. Vol. 24. N 2. P. 165–172.
  17. Hochachka P. W., Somero G. N. Biochemical adaptation: Mechanism and process in physiological evolution. Oxford: Oxford University Press, 2002. 356 p.
  18. Janauer G. A. Aquatic vegetation in river floodplains: climate change effects, river restoration and ecohydrology aspects // Climate Change. Inferences from Paleoclimate and Regional Aspects. New York: Springer, 2012. P. 149–156.
  19. Prochazka E. Incidence of malformations in fish embryos/larvae. Smart Water Research Facility, Griffith University – Nathan/Gold Coast Campus – September 18. 2009. 11 p.

Стаття: надійшла до редакції 10.10.16

доопрацьована 21.12.16

прийнята до друку 06.02.17

## CHANGES IN ACTIVITY OF $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-ase IN EMBRYOS CARP FISH UNDER DIFFERENT OXYGEN AND TEMPERATURE OF RESERVOIRS REGIME

A. Vodyanitskyi, A. Potrohov, O. Zinkovskyi, M. Prychepa

*Institute of Hydrobiology, NAS of Ukraine  
12, Heroes of Stalingrad Ave., Kyiv 04210, Ukraine  
e-mail: fishfarmeralex@ukr.net*

Due to the increase in global average annual temperatures considerable changes of living conditions of aquatic organisms. Recently, many reservoirs an increase in water temperature 4–5 °C. Since fish are poikilothermic animals then these changes will greatly affect

their life. That is why the purpose of our research was to determine the influence of environmental factors aquatic environment and their fluctuations in the early stages of embryos of fish, assess the extent of action by anatomical, morphological, biochemical and genetic parameters. In this paper, lit only part of the total of the results, namely a change of activity  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-ase embryos for carp, grass carp and silver carp white. The noted inter specific differences in activity of the enzyme. With the deteriorating conditions of temperature and decrease with the concentration of dissolved oxygen in the white carp ATP-ase activity increases, that is reinforced exchange between external and internal environment of the eggs that we saw in temperatures of 30.4 and 30.6 °C, which was the highest enzyme activity. Also while there was accelerated growth of embryos was observed and a significant percentage of anomalies of development. The most optimal, in our opinion, was the temperature during incubation of silver carp within 25–28 °C. For grass carp found the maximum ATP-ase activity at temperatures 25.6 °C (41.1 mg P / h. × mg protein). The most optimal in terms of enzyme activity investigated, we believe the temperature at 25.0 °C as for white carp. In carp on stage pigmentation eye we observed the highest activity of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-ase in temperatures 22.0–24.0 °C, who was 22.8–59.0 % higher than 25.0–28.0 °C. It 22.0–24.0 °C is the optimal temperature conditions for this species in natural waters. As the temperature at this stage, the reduced activity of the enzyme that caused fetal compensatory response to the growing influence of temperature factor and reduction of dissolved oxygen.

*Keywords:* embryonic development, water temperature, dissolved oxygen, activity of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-ase, adaptation

БОТАНІКА

УДК 582.09:556.38: 556.51(282.044) (477)

**ФЛОРИСТИЧНА КЛАСИФІКАЦІЯ МЕЗОФІЛЬНИХ  
КЛЕНОВО-ЛИПОВО-ДУБОВИХ ЛІСІВ У БАСЕЙНІ  
НИЖНЬОЇ СУЛИ (УКРАЇНА)**

**О. Смаглюк, Н. Смоляр, В. Соломаха**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
ННЦ «Інститут біології»  
вул. Володимирська, 60, Київ 01033, Україна  
e-mail: oskar-2012@ukr.net, smolar@inbox.ru, v.sol@ukr.net*

У статті наведено результати вивчення широколистяно-лісової рослинності басейну нижньої Сули за методикою школи Ж. Браун-Бланке. Широколистяні кленово-липово-дубові ліси в регіоні становлять вагомий ресурс його екомережі і як зональний тип рослинності перебувають біля південно-східної межі свого поширення. У басейні нижньої Сули кленово-липово-дубові ліси віднесено до класу **Quercio-Fagetea**. Ліси заплави та борової тераси на супіщаних ґрунтах включені до порядку **Quercetalia robori-petraeae** і союзу **Convallario majali-Quercion roboris**. Це переважно складні субори борових терас лісостепові зони. Ліси плакору та яружно-балкових систем на суглиннистих ґрунтах належать до порядку **Fagetalia sylvaticae** і союзу **Scillo sibericae-Quercion roboris**. Це зональні кленово-липово-дубові ліси у лісостеповій зоні Лівобережної України. У межах кожного з цих двох союзів виділено по одній асоціації. В асоціації **Melico-Quercetum** попередньо виділено підасоціацію **M.n.-Q.r. fraxinetosum**. У другій асоціації **Stellario holostaeae-Aceretum platanoidis** виділено три підасоціації, одна з яких є провізорно новою – **S.h.-Q.r. humuletosum lupuli**. Відзначено флористичні, еколого-ценотичні та флоросозологічні особливості угруповань.

*Ключові слова:* Convallario majali-Quercion roboris, Scillo sibericae-Quercion roboris, Україна, Лівобережний Лісостеп, басейн нижньої Сули, синтаксономія

Мезофільні широколистяні ліси зі співдомінуванням *Quercus robur* L., *Acer platanoides* L. і *Tilia cordata* Mill. є зональними для Лісостепу Лівобережного Придніпров'я [9]. Ці ліси добре вивчені з точки зору домінантної класифікації рослинності [9, 10, 14, 19]. Накопичення й узагальнення даних про їхнє фітоценотичне різноманіття за методикою школи Ж. Браун-Бланке проводились упродовж останніх десятиліть (1, 2, 4, 6–8, 12, 16–18]. Їхні результати були враховані та критично опрацьовані в монографії, присвяченій класифікації широколистяних лісів України порядку **Fagetalia sylvaticae** Pawłowski 1928 [22].

Однак флористичний і синтаксономічний склад кленово-липово-дубових лісів власне басейну нижньої Сули вивчений досить фрагментарно [1]. Розподіл асоціацій по конкретних лісових масивах на цій території залишається маловивченим, кількість опублікованих описів є незначною.

Нами продовжено й деталізовано вивчення широколистяно-лісової рослинності басейну нижньої Сули за методикою школи Ж. Браун-Бланке. Ці дослідження є досить важливими з огляду на те, що широколистяні кленово-липово-дубові ліси мають тут зональний характер і становлять вагомий ресурс його екомережі. До того ж ці ліси як зональний тип рослинності перебувають тут біля південно-східної межі свого поширення, яка збігається з південною межею Лісостепу. Розміщення регіону наших досліджень у середній



частині Лісостепу, неподалік від південно-східної межі тінистих широколистяних плакорних лісів порядку *Fagetalia sylvaticae*, зумовлює збіднення їхнього флористичного складу на західно- та центральноєвропейські неморальні види гумідного клімату, а також незначне збагачення на циркумевксинські весняні ефемероїди більш континентального та спекотного клімату. Остання обставина, а також пов'язана з нею зміна едафотопів видів і синтаксонів в інших кліматичних умовах, обумовлює суттєві флористико-ценотичні відмінності їхнього складу, що відображається на їхній синтаксономії. Залучення до наукового обігу нового фітоценотичного матеріалу з його аналізом і синтаксономічною інтерпретацією сприятиме остаточному вирішенню питань еколого-флористичної класифікації тінювих широколистяних лісів без участі *Carpinus betulus* L. біля південно-східної межі їхнього ареалу.

#### Фізико-географічні особливості об'єкта досліджень

Територія басейну нижньої Сули розташована у Придніпровській низовині в межах Полтавської та меншою мірою – Черкаської адміністративних областей України. Вона простягається від впадіння р. Удай у північних околицях м. Лубни до гирла р. Сула, нині затопленого водами Кременчуцького водосховища. Основними притоками цього відрізка річки є Сліпорід і Оржиця, обидві вони впадають у Сулу з правого боку. Басейн нижньої Сули лежить у межах Оболонсько-Градизького фізико-географічного району.

Особливістю клімату басейну нижньої Сули є поступове зменшення на схід і південь кількості опадів, які становлять близько 500 мм на рік. Середня річна температура – близько +6 °С. Рельєф являє собою знижену рівнину, прорізана лівими притоками Дніпра. Ґрунти під широколистяними лісами темно-сірі опідзолені. Дубові ліси з участю *Tilia cordata*, *Acer platanoides* і *A. campestre* L. збереглися на незначних площах і тяжіють до вирівняних (плакорних), яружно-балкових, короткозаплавних і рідше борово-терасових ландшафтів. Вони поширені практично по всьому регіону наших досліджень, але на лівому березі Сули трапляються рідко.

#### Матеріали та методи

У роботі використано 51 геоботанічний опис, виконаних О.Ю. Смаглюк і Н.О. Смоляр у ході сумісної експедиції в долині нижньої Сули та її правобережних приток у 2014–2015 роках, переважно в період, оптимальний для виявлення більшості представників трав'яного ярусу широколистяних лісів, включаючи синузії весняних ефемероїдів.

Описи виконували, а також обробляли згідно з методикою школи Браун-Бланке [11, 23]. Площа описової ділянки становила близько 25x25 м, зрідка у природних межах фітоценозів у разі їхньої меншої площі або смугового розміщення. Частина описів у ході обробки вибраковували як перехідні між різними субасоціаціями. Бали рясності в таблицях відповідають таким значенням проективного покриття: + – < 1 %, 1 – 1-5 %, 2 – 6-15 %, 3 – 16-25 %, 4 – 26-50 %, 5 – 51-100 %. Бали постійності позначають: + – < 10 %, I – 10-20 %, II – 21-40 %, III – 41-60 %, IV – 61-80 %, V – 81-100 %. У дужках після назви виду дерев і чагарників показана ярусність: а – верхній деревний ярус; б – чагарниковий ярус і підріст; с – ярус трав.

Назви видів наводяться за зведенням С.Л. Мосякіна та М.М. Федорончука [21]. Описи обробляли за допомогою пакету програм «FICEN 2» з подальшим ручним доопрацюванням на комп'ютері методом фітоценотичних таблиць.

Інтерпретацію фітоценотичного матеріалу проводили з використанням літературних джерел по Лівобережному Придніпров'ю [1, 2, 6, 12], по прилеглих територіях [7–9, 10, 13], а також монографічних обробок широколистяних лісів України [29, 22] та продрому рослинності України [14].

## Результати і їхнє обговорення

### Синтаксономічна схема

Cl. **Querc-Fagetea** Br.-Bl. et Vlieger 1937

Ord. **Quercetalia robori-petraeae** R. Tx. 1931

All. **Convallario majali-Quercion roboris** Shevchyk et V. Solomakha 1996

Suball. **Convallario-Quercenion** Vorobyov 2003

Ass. **Melico-Quercetum** Shevchyk et V. Solomakha 1996 em Goncharenko 2003 (incl. Convallario-Quercetum sensu Shevchyk et V. Solomakha 1996 non Soo (1939) 1957 & Convallario-Padietum Bajrak 1996)

Subass. **M.n.-Q.r. fraxinetosum** subass. nova prov.

**Fagetalia sylvaticae** Pawl. in Pawl., Sokol. et Wall. 1928

**Scillo sibericae-Quercion roboris** Onyshchenko 2009

**Stellario holostea-Aceretum platanoidis** Bajrak 1996 em. Onyshchenko et Sidenko 2002 (incl. Mercurialo perennis-Fraxinetum excelsioris Bajrak 1996 & Lamio maculati-Quercetum roboris Bulokhovv 1989 ex Goncharenko 2001)

**S.h.-Q.r. caricetosum pilosae** Onyshchenko 2009

**S.h.-Q.r. parietosum quadrifoliae** Bajrak 1996

**S.h.-Q.r. humuletosum lupuli** subass. nova prov.

### Характеристика виділених синтаксонів

Усі кленово-липово-дубові ліси в басейні нижньої Сули залучені нами до класу **Querc-Fagetea**, а в його межах – до двох порядків і, відповідно, союзів. Ліси старої заплави та борової тераси на супіщаних ґрунтах залучено переважно до порядку **Quercetalia robori-petraeae** і союзу **Convallario majali-Quercion roboris**. Ліси плакору та яружно-балкових систем на суглинистих ґрунтах входять до порядку **Fagetalia sylvaticae** і союзу **Scillo sibericae-Quercion roboris**, який представляє кленово-липово-дубові ліси у лісостеповій зоні Лівобережної України. У межах кожного з цих двох союзів виділено по одній асоціації. Зазначимо, що синтаксони в наведеній вище синтаксономічній схемі розташовані в порядку зростання зволоженості екоотопів.

### Асоціація **Melico-Quercetum**

Для коректної інтерпретації кленово-липово-дубових лісів союзу **Convallario majali-Quercion roboris** зі старої заплави і борової тераси басейну нижньої Сули було проведено порівняння описаних раніше асоціацій із Лівобережного Лісостепу України [2, 4, 6-8, 17, 18] зі зібраним нами фітоценотичним матеріалом. Аналіз показав значний ступінь відповідності наших описів асоціації **Melico-Quercetum** s.l. (табл. 1). Щодо її обсягу та синтаксономічного положення необхідно дати пояснення. Асоціація була описана із ділянки борової тераси Зміїні острови Канівського природного заповідника [18]. У цій же праці та звідти ж була описана асоціація **Convallario-Quercetum**. Згодом було запропоновано типові субасоціації цих двох асоціацій об'єднати під назвою **Melico-Quercetum** [8]. Ця пропозиція була підтримана, а в союзі **Convallario majali-Quercion roboris** виділено підсоюзи, і асоціація **Melico-Quercetum** s.l. потрапила до підсоюзу **Convallario-Quercenion** [4]. Щодо належності наших описів до субасоціації, то вони найближчі до **M.n.-Q.r. adoxetosum moschatellini** Goncharenko 2003, але характеризуються додатковим значним діа-

гностичним блоком переважно неморальних видів. Тому пропонуємо нову підасоціацію, але через те, що майже всі наші описи асоціації виконані в одному локалітеті (урочище «Березове» на заплаві р. Сула в околицях с. Велика Бурімка Чорнобаївського р-ну Черкаської обл.), виділяємо її лише провізорно.

Таблиця 1

Фітоценотична характеристика асоціації **Melico-Quercetum**

Зімкнутість деревного ярусу	09	08	09	10	09	08	09	09	08	09
Зімкнутість чагарникового ярусу	02	07	06	06	06	01	+	01	02	01
Проективне покриття трав'яного ярусу	90	40	45	40	25	75	30	7	35	25
Кількість видів в описі	31	28	29	33	30	26	17	17	26	22
Номер опису	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>D.s. Subass. M.n.-Q.r. fraxinetosum subass. nova prov.</b>										
Rubus caesius	.	1	1	+	+	.	.	.	.	.
Humulus lupulus	.	.	+	+	+	.	.	.	.	.
Brachypodium sylvaticum	1	.	.	+	1	.	.	.	+	.
Scrophularia nodosa	.	.	+	+	.	.	.	.	.	+
Festuca gigantea	.	.	+	1	.	.	.	.	.	.
Arctium lappa	.	+	.	.	+	.	.	.	.	.
Fraxinus excelsior (a)	4	3	4	3	.	2	2	.	.	3
Fraxinus excelsior (b)	.	4	1	.	+	.	+	.	.	+
Fraxinus excelsior (c)	+	.	1	1	.	+	.	+	+	+
Ulmus glabra (a)	.	.	2	4	2	4	4	2	2	3
Ulmus glabra (b)	.	.	1	1	2	1	.	1	2	2
Ulmus glabra (c)	.	.	.	.	.	.	.	+	+	.
Euonymus europaea (b)	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.
Euonymus europaea (c)	1	1	+	+	+	+	+	+	+	1
Sambucus nigra (b)	2	1	.	.	.	1	.	2	1	.
Sambucus nigra (c)	.	+	.	+	+	+	.	.	.	+
Alliaria petiolata	+	1	+	1	+	+	1	1	2	2
Polygonatum multiflorum	1	.	.	+	2	1	1	1	+	+
Scilla bifolia	1	.	+	1	+	1	2	+	1	2
Corydalis solida	2	.	.	2	1	1	+	.	+	2
Ficaria verna	4	2	+	2	.	5	+	.	.	1
Pulmonaria obscura	1	+	.	+	.	+	.	.	+	+
Silene nutans	+	+	+	+	+	+	.	.	.	.
Geum urbanum	+	.	+	+	+	+	.	.	.	.
Viola hirta	.	.	+	.	.	+	.	+	+	+
Chelidonium majus	+	.	.	.	.	1	.	+	2	.
<b>D.s. Subass. M.n.-Q.r. adoxetosum moschatellini</b>										
Adoxa moschatellina	3	.	1	2	+	2	3	1	3	2
Urtica dioica	2	1	+	+	.	1	.	+	+	1
Glechoma hederacea	.	.	+	+	+	.	.	.	1	+
<b>D.s. Ass. Melico-Quercetum</b>										
Quercus robur (a)	3	.	4	4	4	4	2	5	4	4
Quercus robur (c)	.	+	.	+	.	.	+	.	.	.
Acer platanoides (a)	4	.	2	.	.	1	4	2	3	4
Acer platanoides (b)	.	+	2	.	4	1	1	2	2	1
Acer platanoides (c)	+	.	1	1	+	+	.	+	1	1
Tilia cordata (a)	.	.	.	.	2	.	3	.	.	.
Tilia cordata (b)	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.
Tilia cordata (c)	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.
Corylus avellana (b)	.	.	3	3	.	.	+	.	+	1
Acer tataricum (b)	2	1	2	4	1	.	.	.	.	.
Acer tataricum (c)	+	+	.	+	+	.	.	.	.	.
Swida sanguinea (b)	.	2	+	.	.	.	.	.	.	.
Swida sanguinea (c)	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.
Euonymus verrucosa (b)	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.
Euonymus verrucosa (c)	+	.	.	+	.	.	.	.	.	+

	Закінчення табл. 1							
	3	4	2	3	1	+	3	.
Convallaria majalis	2	.	1	+	1	1	+	.
Stellaria holostea	.	.	.	.	.	.	.	.
Galium aparine	1	+	+	+	.	+	.	+
Milium effusum	+	.	+	+	.	1	.	.
Polygonatum odoratum	+	.	.	.	.	.	.	.
Melica nutans	+	.	.	.	.	.	.	.
Poa nemoralis	.	.	+	.	.	.	.	.
<b>D.s. Cl. Quercu-Fagetea</b>								
Acer campestre (b)	.	1	.	.	.	.	.	.
Acer campestre (c)	.	.	+	.	.	.	.	.
Ulmus minor (a)	.	2	.	.	.	.	.	.
Ulmus minor (b)	.	.	.	.	2	.	.	.
Ulmus laevis (a)	.	.	.	.	2	.	.	.
Ulmus laevis (c)	.	.	.	.	.	+	.	.
Crataegus curvisepala (b)	.	.	.	.	.	.	.	+
Viburnum opulus (b)	.	+	.	.	.	.	.	.
Glechoma hirsuta	+	+	.	.	.	+	.	.
Anthriscus sylvestris	+	.	.	.	+	.	.	.
Gagea minima	1	.	.	.	.	+	.	.
Polygonatum hirtum	.	.	.	.	.	.	+	+
Stachys sylvatica	.	.	.	.	.	.	.	1
Galeobdolon luteum	.	2	.	.	.	.	.	1
Galium odoratum	.	+	.	.	.	.	.	.
Viola odorata	.	+	.	.	.	.	.	.
Paris quadrifolia	.	+	.	.	.	.	.	.
Viola mirabilis	.	.	1	.	.	.	.	.
Carex sylvatica	.	.	.	+	.	.	.	.
Gagea lutea	.	.	.	.	.	+	.	.
Scilla siberica	.	.	.	.	.	.	+	.
Lamium maculatum	.	.	.	.	.	.	.	+
<b>Інші види</b>								
Pinus sylvestris (a)	.	.	.	.	3	.	.	.
Acer negundo (a)	.	.	.	.	.	.	1	.
Acer negundo (b)	.	.	1	.	1	.	.	.
Acer negundo (c)	.	.	.	.	+	.	+	+
Populus x canescens (a)	.	5	.	.	.	.	.	.
Populus x canescens (c)	.	+	.	.	.	.	.	.
Betula pendula (a)	.	.	.	.	2	.	.	.
Ribes nigrum (b)	.	1	.	.	.	.	.	.
Allium vineale	+	.	.	.	.	.	.	.
Lactuca chaixii	+	.	.	.	.	.	.	.
Lysimachia nummularia	.	+	.	.	.	.	.	.
Impatiens parviflora	.	+	.	.	.	.	.	.
Myosoton aquaticum	.	.	.	+	.	.	.	.
Taraxacum erythrospermum	.	.	.	.	+	.	.	.
Fallopia dumetorum	.	.	.	.	.	.	.	+

**Легенди до описів:**

Опис 1 виконаний О.Ю. Смаглюк 28.04.2015 р. в урочищі «Березове» Великобуріського л-ва (НПП «Нижньосульський», Черкаська обл.) на початку масиву лісу з боку с. Михайлівка, праворуч від лісової дороги. Ліс старий, змішаний, різновіковий. Діаметр стовбура дуба 0,5 (0,7) м, висота 27 м.

Опис 2 виконаний Н.О. Смоляр 30.04.2015 р. в урочищі «Мгарська дача» (околиці м. Лубни, Полтавська обл.), заїзд з північної сторони від с. Мгар, на схід від дороги на с. Луки. Діаметр стовбура дуба 0,5 м, висота 30 м.

Опис 3 виконаний Н.О. Смоляр 1.05.2015 р. в урочищі «Березове» Великобуріського л-ва (НПП «Нижньосульський», Черкаська обл.) у східній частині масиву. Ліс старий, змішаний, різновіковий. Діброва ожиново-конвалієва у зниженні рельєфу. Діаметр стовбура дуба 0,35–0,6 м, висота 27 м.

Опис 4 виконаний О.Ю. Смаглюк 1.05.2015 р. в урочищі «Березове» Великобуріського л-ва (НПП

«Нижньосульський», Черкаська обл.) у східній частині масиву біля відкритого очеретяного болота, але вище в рельєфі порівняно з попереднім описом. Ліс старий, змішаний, різновіковий. Порито кабанями. Діаметр стовбура дуба 0,35–0,6 м, висота 24 м.

Опис 5 виконаний О.Ю. Смаглюк 1.05.2015 р. в урочищі «Березове» Великобуріського л-ва (НПП «Нижньосульський», Черкаська обл.) у північній частині масиву біля узлісся, посеред старих соснових культур, є всохлі сосни. Діаметр стовбура сосни 0,3–0,5 м, дуба і липи – 0,2–0,3 м, висота 26 м.

Опис 6 виконаний Н.О. Смоляр 1.05.2015 р. в урочищі «Березове» Великобуріського л-ва (НПП «Нижньосульський», Черкаська обл.) у центральній частині масиву. Ліс старий, змішаний, різновіковий. Діаметр стовбура дуба 0,6 м, висота 26 м.

Опис 7 виконаний Н.О. Смоляр 1.05.2015 р. в урочищі «Березове» Великобуріського л-ва (НПП «Нижньосульський», Черкаська обл.) у центральній частині масиву, біля лісової дороги на схід від неї. Ліс молодий, поростевого походження. Діаметр стовбура 0,2 м, висота 12 м.

Опис 8 виконаний О.Ю. Смаглюк 1.05.2015 р. в урочищі «Березове» Великобуріського л-ва (НПП «Нижньосульський», Черкаська обл.) у центральній частині масиву, неподалік лісової дороги на захід від неї. Деревя мають дуже рівні прямі стовбури. Діаметр стовбура 0,3–0,4 м, висота 30 м.

Опис 9 виконаний О.Ю. Смаглюк 1.05.2015 р. в урочищі «Березове» Великобуріського л-ва (НПП «Нижньосульський», Черкаська обл.) у центральній частині масиву, на пологому підвищенні. Ліс освітлений вибірковими рубками. Діаметр стовбура дуба 0,35–0,6 м, висота 26 м.

Опис 10 виконаний О.Ю. Смаглюк 1.05.2015 р. в урочищі «Березове» Великобуріського л-ва (НПП «Нижньосульський», Черкаська обл.) у центрально-східній частині масиву, трохи нижче в рельєфі від попереднього опису. Діаметр стовбура дуба 0,35–0,6 м, висота 28 м. Порито кабанями.

#### Підасоціація **M.n.-Q.r. fraxinetosum** subass. nova prov.

Підасоціація представляє кленово-липово-дубові ліси на добре дренованих ділянках старої заплави (водою не заливаються) переважно в урочищі «Березове», рідше «Мгарська дача». Займає найбагатші ґрунти серед угруповань асоціації, що зумовило її збагачення на мегатрофні неморальні види та нітрофіли. Ліси переважно старі, деревний ярус багатовидовий, діаметр дерев сягає 0,6–0,7 м, середня висота найвищого під'ярусу 27–28 м. Середня його зімкнутість – 0,9, наявний чагарниковий ярус, його середня зімкнутість – 0,35. Середнє проєктивне покриття трав'яного ярусу порівняно незначне і становить 45 %. Середня кількість видів помітно вища, ніж в асоціації **Stellario holosteae-Aceretum platanoidis**.

Для встановлення синтаксономічного статусу кленово-липово-дубових лісів союзу **Scillo sibericae-Quercion roboris** з басейну нижньої Сули було проведено порівняння описаних раніше асоціацій із плакорних та яружно-балкових екоотопів з Лівобережного Лісостепу України [1, 6–8,12] із зібраним нами фітоценотичним матеріалом. Аналіз показав значний ступінь відповідності наших описів асоціації **Stellario holosteae-Aceretum platanoidis** s.l. (табл. 2). Щодо її обсягу та синтаксономічного положення необхідно зробити деякі пояснення. Асоціація була описана з Диканського р-ну Полтавської обл., але вказано на її значне поширення по всьому Лівобережному Подніпров'ю [1]. У цій же праці та звідти ж була описана асоціація **Mercurialo perennis-Fraxinetum excelsioris**. Згодом було об'єднано ці дві асоціації під назвою **Stellario holosteae-Aceretum platanoidis**, у синоніми до неї зведена також описана з лісостепової зони Російської Федерації **Lamio maculati-Quercetum roboris** [13, 22]. Ми розглядаємо цю асоціацію саме в такому розумінні.

Асоціація найбільш поширена в басейні нижньої Сули і займає до 90 % площі всіх кленово-липово-дубових лісів регіону. Вона представляє угруповання цих лісів переважно на плакорі та в яружно-балкових системах на суглинистих ґрунтах, рідше на осушених









Підасоціація **S.h.-Q.r. caricetosum pilosae**

**Діагностичні види:** *Euonymus verrucosa*, *Carex pilosa*, *Dactylis glomerata*, *Poa nemoralis*, *Viola mirabilis*.

Підасоціація представляє угруповання кленово-липово-дубових лісів більш сухих екоотопів на вирівняних ділянках плакору або схилах балок, а також на ділянках осушеної заплави малих річок зі суглинистими ґрунтами. Вік деревного ярусу – різний, середня його зімкнутість значна – 0,9, чагарниковий ярус виражений найслабше в асоціації, його середня зімкнутість 0,15. Середнє проєктивне покриття трав'яного ярусу найменше в асоціації та становить 45 %. Середня кількість видів найменша в асоціації.

Підасоціація **S.h.-Q.r. parietosum quadrifoliae**

**Діагностичні види:** *Ulmus laevis*, *Sambucus nigra*, *Stachys sylvatica*, *Adoxa moschatellina*, *Chelidonium majus*, *Urtica dioica*, *Alliaria petiolata*, *Chaerophyllum temulum*, *Lamium maculatum*, *Glechoma hirsuta*.

Підасоціація представляє угруповання кленово-липово-дубових лісів добре зволжених екоотопів асоціації. Вік деревного ярусу різний, середня його зімкнутість найменша в асоціації – 0,8, чагарниковий ярус виражений найкраще в асоціації, його середня зімкнутість 0,25. Середнє проєктивне покриття трав'яного ярусу відповідає середньому показнику для асоціації та становить 55 %. Середня кількість видів відповідає середньому показнику для асоціації та становить 21 вид на один опис.

Підасоціація **S.h.-Q.r. humuletosum lupuli** subass. nova prov.

**Діагностичні види:** *Ulmus laevis*, *Sambucus nigra*, *Corylus avellana*, *Humulus lupulus*, *Impatiens noli-tangere*, *Stachys sylvatica*, *Adoxa moschatellina*, *Polygonatum odoratum*, *Chelidonium majus*.

Підасоціація представляє угруповання кленово-липово-дубових лісів найбільш зволжених екоотопів асоціації на заплавах малих річок. Її угруповання наближаються до союзу **Alno-Ulmion** Br.-Bl. et Tx. 1948, але за домінантами деревного ярусу та загальним флористичним складом не можуть бути віднесені до нього. Враховуючи невелику кількість наявних описів, наводимо лише провізорну підасоціацію. Ліси переважно старі, діаметр дуба сягає 0,6–0,7 м, середня зімкнутість деревостану значна – 0,9, чагарниковий має середню зімкнутість 0,2. Середнє проєктивне покриття трав'яного ярусу найбільше в асоціації та становить 65 %. Середня кількість видів теж найбільша в асоціації та становить 23 види на опис.

На території басейну нижньої Сули кленово-липово-дубові ліси належать до класу **Quercio-Fagetea** (порядок **Quercetalia robori-petraeae**). Ліси заплави та борової тераси на супіщаних ґрунтах віднесено до союзу **Convallario majali-Quercion roboris** (асоціація **Melico-Quercetum** із провізornoю підасоціацією **M.n.-Q.r. fraxinetosum** subass. nova prov.), який репрезентує переважно складні субори борових терас Лісостепу. Ліси плакору та яружно-балкових систем на суглинистих ґрунтах віднесено до союзу **Scillo sibericae-Quercion roboris** (порядок **Fagetalia sylvaticae**), який представляє зональні кленово-липово-дубові ліси у лісостеповій зоні Лівобережної України. У межах цього союзу виділено асоціацію **Stellario holosteae-Aceretum platanoidis**, три підасоціації, одна з яких виділена провізорно – **S.h.-Q.r. humuletosum lupuli** subass. nova prov.

Основною для кленово-липово-дубових лісів регіону є асоціація **Stellario holosteae-Aceretum platanoidis**, яка є зональною і займає до 90 % усієї її площі. Асоціація **Melico-Quercetum** поширена локально і займає незначні площі в заплаві р. Сула, тому потребує охорони.

Кленово-липово-дубові ліси регіону є місцезнаходженнями й рідкісних видів флори – як включених до Червоної книги України (*Listera ovata* (L.) R.Br., *Epipactis helleborine* (L.) Crantz, *Tulipa quercetorum* Klokov & Zoz та деякі інші) [20], так і регіонально рідкісних (*Cerasus avium* (L.) Moench, *Crataegus ucrainica* Pojark., *Corydalis cava* (L.) Schweigg. & Körte, *C. marschalliana* (Pall. ex Willd.) Pers., *Dentaria bulbifera* L., *D. quinquefolia* M. Bieb., *Scilla bifolia* L., *S. siberica* Haw., *Vinca minor* L., *Lamium galeobdolon* (L.) L., *Convallaria majalis* L. [3]. Цікавими флористичними знахідками є *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce та *Stellaria neglecta* Weihe, які поширюються в угруповання, очевидно, через потепління клімату впродовж останніх десятиліть. Загалом, за насиченістю созофітами кленово-липово-дубові ліси регіону значно поступаються грабовим [15].

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Байрак О. М. Синтаксономія широколистяних лісів Лівобережного Придніпров'я // Укр. фітоцен. зб. К.: Фітосоціоцентр, 1996. Сер. А. Вип. 3. С. 51–63.
2. Байрак О. М. Фітоценотична характеристика заплавних лісів Лівобережного Придніпров'я // Укр. фітоцен. зб. К.: Фітосоціоцентр, 1997. Сер. А. Вип. 1 (6). С. 45–51.
3. Байрак О. М., Стецюк Н. О. Атлас рідкісних і зникаючих рослин Полтавщини. Полтава: Верстка, 2005. 248 с.
4. Воробйов Є. О. Попередній продромус суходольних лісів та рідколісь природного та штучного походження з переважанням або помітною участю *Pinus sylvestris* L. s.l. рівнинної частини України // Рослинність хвойних лісів України. К.: Фітосоціоцентр, 2003. С. 13–42.
5. Воробйов Є. О. Закон гомологічних рядів як основа природної класифікації екосистем: Біотопи (оселища) України: наукові засади їх дослідження та практичні результати інвентаризації // Матеріали робочого семінару. Київ; Львів, 2012. С. 57–63.
6. Гомля Л. М. Рослинність долини річки Хорол. К.: Фітосоціоцентр, 2005. Сер. А. Вип. 1(22). 187 с.
7. Гончаренко І. В. Флористична класифікація лісів лісостепової Сумщини // Укр. фітоцен. зб. К., 2001. Сер. А. Вип. 1 (17). С. 3–17.
8. Гончаренко І. В. Аналіз рослинного покриву північно-східного Лісостепу України. К.: Фітосоціоцентр, 2003. 203 с.
9. Гринь Ф. О. Дубові та широколистяно-дубові ліси // Рослинність УРСР. Ліси УРСР. К.: Наук. думка, 1971. С. 194–328.
10. Любченко В. М. Весняні ефемероїди дібров верхньої течії р. Удай // Укр. бот. журнал. 1988. Т. 45. № 6. С. 36–39.
11. Миркин Б. М., Наумова Л. Г., Соломец А. И. Современная наука о растительности. М.: Логос, 2001. 264 с.
12. Онищенко В. А. Деякі питання флористичної класифікації широколистяних лісів Придніпровського Лісостепу // Укр. бот. журнал. 2000. Т. 57. № 6. С. 664–668.
13. Онищенко В. А., Сіденко В. М. Класифікація лісової рослинності ур. Чорний ліс (Знам'янський район Кіровоградської області) // Наук. вісн. Чернів. ун-ту. Сер. біол. 2001. Вип. 145. С. 178–194.
14. Продромус растительности Украины / Шеляг-Сосонко Ю. Р., Дидух Я. П., Дубына Д. В. и др. К.: Наук. думка, 1991. 270 с.
15. Смаглюк О. Ю., Соломаха В. А. Флористична класифікація мезофільних широколистяних лісів союзу *Carpiion betuli* Issl. 1931 em Oberd. 1953 у басейні нижньої течії річки Сули // Вісн. Черкас. ун-ту. 2015. № 19 (352). С. 98–110.

16. Соломаха В. А. Синтаксономія рослинності України. Третє наближення. К.: Фітосоціоцентр, 2008. 296 с.
17. Шевчик В. Л., Полишко О. Д. Синтаксономія рослинності ділянки борової тераси (Ліпнявське лісництво Черкаської області) // Укр. фітоцен. зб. К., 2000. Сер. А. Вип. 1 (16). С. 67–89.
18. Шевчик В. Л., Соломаха В. А., Войтюк Ю. О. Синтаксономія рослинності та список флори Канівського природного заповідника // Укр. фітоцен. зб. К.: Фітосоціоцентр, 1996. Сер. Б. Вип. 1. 120 с.
19. Шеляг-Сосонко Ю. Р. Ліси формації дуба звичайного на території України та їх еволюція. К.: Наук. думка, 1974. 240 с.
20. Червона книга України. Рослинний світ. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 900 с.
21. Mosyakin S. L., Fedoronchuk M. M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. Kyiv, 1999. 346 p.
22. Onyshchenko V. A. Forests of order Fagetalia sylvaticae in Ukraine. Kyiv: Alterpress, 2009. 212 p.
23. Sirenko I. P. Creation a Databases for Floristic and Phytocenologic Researches // Ukr. Phytosoc. Ser. A. 1. Kyiv: Coll. Phytosociocentre, 1996. P. 9–11.

Стаття: надійшла до редакції 30.08.16

доопрацьована 14.11.16

прийнята до друку 15.12.16

## FLORISTIC CLASSIFICATION OF MESOPHILOUS MAPLE-LIME-OAK FORESTS IN THE BASIN OF LOWER SULA

O. Smagliuk, N. Smoliar, V. Solomakha

*Taras Shevchenko National University of Kyiv  
Educational and Scientific Centre «Institute of Biology»  
60, Volodymyrska St., Kyiv 01033, Ukraine  
e-mail: oskar-2012@ukr.net, smolar@inbox.ru, v.sol@ukr.net*

The article contains results of the research of broad-leaved forest vegetation of the lower Sula basin according to J. Braun-Blanche methodology. Broad-leaved and maple-linden-oak forests of the region make up a significant resource of its ecological network, and also, as a zonal type of vegetation can be found near south-eastern boundary of its distribution. Maple-linden-oak forests of the lower Sula basin were divided to **Quercio-Fagetea** class. Forests of the floodplain and pine-forest terraces on loamy soils were divided to **Quercetalia robori-petraeae** order and **Convallario majali-Quercion roboris** union which represents complex subors on pine wood terraces of the forest-steppe zone. Interfluvial and ravine forests on loam soils belong to the order **Fagetalia sylvaticae** and to the union **Scillo sibericae-Quercion roboris**. Within both unions a separate association was allocated. In **Melico-Quercetuma** association one sub-association **M.n.-Q.r. fraxinetosum** was allocated previously, while the other association **Stellario holosteae-Aceretum platanoidis** includes three sub-associations. One of them is provisionally new – **S.h.-Q.r. humuletosum lupuli**. Floristic, eco-cenotic and floro-sozological features of these groups were also noted.

*Keywords:* Convallario majali-Quercion roboris, Scillo sibericae-Quercion roboris, Ukraine, Left-bank Forest-steppe, syntaxonomy

## БОТАНІКО-ГЕОГРАФІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДІВ РОДУ *THYMUS* L. (*LAMIACEAE*) У ФЛОРИ ЗАХІДНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ

В. Начичко\*, В. Гончаренко

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Черемшину, 44, Львів 79014, Україна  
e-mail: nachychko@gmail.com

У статті наведено результати ботаніко-географічного аналізу видів роду *Thymus* L. у флорі західних регіонів України. Вивчення сучасного поширення чебреців на цій території свідчить, що значна кількість виявлених видів своїм поширенням приурочені до Закарпатської низовини, Українських Карпат, Передкарпаття та південно-західної частини Подільської височини. Тут розташований один із центрів видового різноманіття роду *Thymus* в Україні. Уточнено межі поширення погранично-ареальних видів на досліджуваній території: *Th. serpyllum* L. emend. Mill., *Th. pannonicus* All., *Th. glabrescens* Willd., *Th. alternans* Klokov. Встановлено, що види роду *Thymus* флори західних регіонів України характеризуються відносно значним різноманіттям типів ареалів. За зональними характеристиками, висотним розподілом і регіональним поширенням серед них домінують види з температурно-субмеридіональним, рівнинним і європейським типами ареалів відповідно. За кліматичною приуроченістю ареали більшості видів роду *Thymus* флори західних регіонів України тяжіють до областей з океанічним кліматом. Тому таксономічний склад чебреців західних областей України більш споріднений із таким у флорі країн Центральної Європи, ніж із різноманіттям роду у флорі східних і південно-східних регіонів України. Аналіз географічних елементів свідчить про домінування видів гірського типу геоселементів.

*Ключові слова:* *Thymus* L., ботаніко-географічний аналіз, західні регіони України, ареал, ендеміки

Порівняльне вивчення ареалів видів рослин як основа ботаніко-географічного аналізу дає змогу виявити закономірності сучасного поширення видів, з'ясувати їхній історичний розвиток і адаптивні можливості, насамперед щодо змін клімату [5, 18]. У зв'язку з цим важливого значення набувають дослідження регіонального поширення видів як передумова уточнення меж їхніх ареалів, виявлення нових локалітетів і з'ясування деталей еколого-географічної приуроченості. Особливо актуальними є регіональні дослідження критичних для систематики і зазвичай маловивчених груп рослин, для яких немає усталених поглядів стосовно концепції виду та об'єму окремих таксонів. У флорі західних регіонів України ботаніко-географічні особливості видів роду *Thymus* L. (*Lamiaceae* Martinov) до сьогодні залишаються нез'ясованими, що не в останню чергу було зумовлене відсутністю сучасної критико-таксономічної ревізії роду для цієї території. Тому метою роботи було виявити закономірності поширення видів роду *Thymus* на території західних регіонів України та здійснити географічний аналіз видів чебреців у флорі цієї території.

### Матеріали та методи

В основу роботи покладена інформація про поширення видів роду *Thymus* у західних регіонах України, отримана в результаті власних польових досліджень і критичного опрацювання колекцій гербаріїв (CHER, CWU, KRA, KRAM, KW, LW, LWKS, LWS, MSUD, UU, гербарій Східноєвропейського національного університету імені Лесі Україн-

ки, гербарій Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка).

Територія дослідження охоплює вісім західних адміністративних областей України, розташованих у межах Поліської низовини, Волинської височини, Малого Полісся, Подільської височини, Розточчя, Хотинської височини, височинної області Передкарпаття, Українських Карпат і Закарпатської низовини [3, 14].

На основі отриманої хорологічної інформації крапковим способом побудовані карти поширення, з аналізу яких виявлені закономірності розповсюдження видів на досліджуваній території та уточнено межі поширення тих із них, які є погранично-ареальними. Географічний аналіз видів здійснений відповідно до флористичного районування Земної кулі, запропонованого Н. Meusel зі співавторами [23], з виділенням зональних, кліматичних, висотних і регіональних типів ареалів. На основі класифікації географічних елементів, запропонованої Ю.Д. Клеоповим [7], встановлено типи геоелементів.

### Результати і їхнє обговорення

#### Особливості поширення видів у межах території дослідження

У флорі західних регіонів України нами виявлено дев'ять видів роду *Thymus*: *Th. moldavicus* Klokov & Des.-Shost., *Th. serpyllum* L. emend. Mill., *Th. pulegioides* L., *Th. alpestris* Tausch ex A. Kern., *Th. alternans* Klokov, *Th. jankae* Čelak., *Th. pulcherrimus* Schur, *Th. pannonicus* All., *Th. glabrescens* Willd. [13]. Аналіз карт поширення чебреців свідчить про їхній неоднорідний розподіл у межах природно-географічних регіонів території дослідження. Це зумовлено географічними, кліматичними й екологічними факторами.

Найширше розповсюдженим є *Th. pulegioides*, для якого відома найбільша кількість місцезнаходжень. Представники виду часто трапляються по всій території дослідження (рис. 1). В Українських Карпатах вони можуть досягати верхньої межі лісу, а іноді й вище (до 1600 м н. р. м.).

Широко розповсюдженими у рівнинній частині західних регіонів України є представники видів *Th. serpyllum*, *Th. pannonicus* і *Th. glabrescens*, які тут є погранично-ареальними. Рослини *Th. serpyllum* приурочені до угруповань борових пісків, іноді вони трапляються на оголеннях кристалічних порід. Із цих причин, поширення цього виду на території дослідження обмежене Поліською низовиною, Малим Поліссям і Розточчям, для яких найбільш характерна наявність піщаних відкладів. Також *Th. serpyllum* трапляється на островних ділянках з піщаними відкладами у крайній північній і південній частинах Волинської височини та в межах північного схилу Подільської височини (рис. 2). На території західних регіонів України пролягає південна межа ареалу цього виду. В. Раўловські [25] окреслює її лінією, що проходить через міста: Львів, Золочів, Броди, Тернопіль (сmt Великі Бірки) в напрямку на м. Житомир. Інші дослідники [8, 27, 28] проводять цю межу зазвичай по паралелі 50° пн. ш. Наші дослідження підтверджують південніше поширення *Th. serpyllum* в західній частині досліджуваної території і північніше – у східній її частині. Тому ми уточнюємо південну межу ареалу виду в межах західних областей України. Вона чітко окреслюється лінією: Львівська обл.: с. Поруденко – с. Терновиця – с. Затока – с. Ямельня (Яворівський р-н) – м. Львів (Рясне-2, вул. Під Голоском) – сmt Запитів – сmt Новий Яричів (Кам'янка-Буський р-н) – с. Женів – с. Хмелева – с. Верхобуж (Золочівський р-н) – м. Броди (Бродівський р-н) – Рівненська обл.: с. Лев'ятин (Радивилівський р-н) – Тернопільська обл.: с. Великі Бережці – с. Жолоби – м. Кременець (Кременецький р-н) – с. Васківці (Шумський р-н) – Хмельницька обл.: с. Баймаки (Білогірський р-н) – Рівненська обл.: с. Вілія (Острозький р-н) – Хмельницька обл.: с. Кунів (Ізяславський р-н) – с. Хоровиця – м. Славута – с. Миньківці (Славутський р-н) – с. Буртин (Полонський р-н). Окрім цього, в

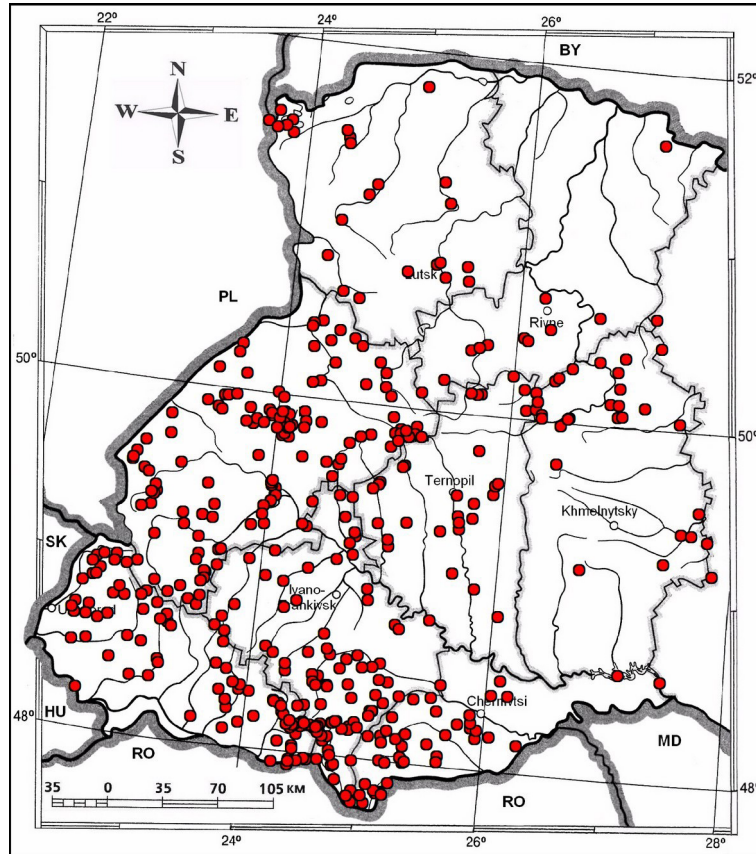


Рис. 1. Карта поширення *Th. pulegioides* у західних регіонах України

колекціях гербаріїв LW та LWS нами виявлено два гербарних зразки, зібрані в середині XIX ст., які підтверджують поширення *Th. serpyllum* набагато південніше наведеної межі. Ці локалітети зосереджені в околицях смт Журавно (LWS: Н. Łobazewski, № 81399) та м. Миколаїв (LW: Jarolim, № 114196) відповідно у Жидачівському та Миколаївському р-нах Львівської обл.

Під час ретельних польових досліджень, проведених в околицях смт Журавно, поширення *Th. serpyllum* тут не підтвержене. Нами, однак, виявлено локалітет, у якому представники виду потенційно могли існувати в середині XIX ст. Він представлений ділянками з оголеннями піску і пісковиком в дубово-грабовому лісі з домішками сосни на лівому березі р. Дністер. Вік деревостану сосни, загалом, перевищує 100 років, листяні породи представлені різновіковими рослинами, серед яких переважають середньовікові (40–80 років). Сформований також густий підлісок із молодих дерев і чагарників, у зв'язку з чим трав'яний ярус майже не виражений. Цілком імовірно, що раніше в наведеному оселищі значна роль належала сосні, завдяки чому формувався розріджений деревостан і створювались умови для існування геліофіта *Th. serpyllum*. Трансформація біотопу в напрямі збільшення частки листяних порід, у якій не останню роль відіграв антропогенний чинник, могла зумовити випадання низькоконкурентного *Th. serpyllum* із ценозу і зникнення його в цьому оселищі.

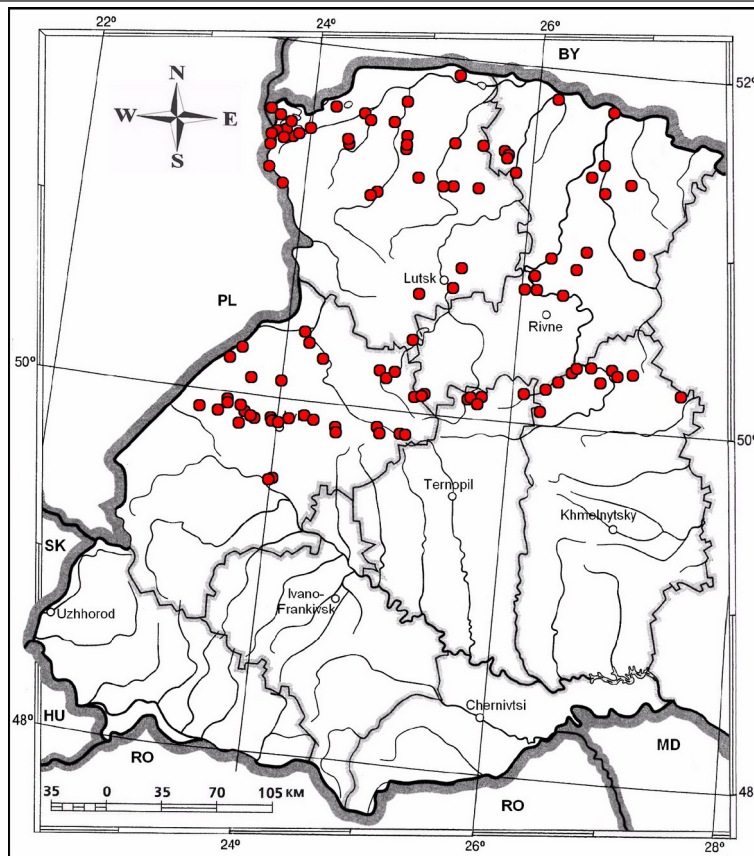


Рис. 2. Карта поширення *Th. serpyllum* у західних регіонах України

Під час досліджень в околицях м. Миколаїв нами виявлено місцезнаходження *Th. serpyllum* поблизу с. Тростянець Миколаївського р-ну Львівської обл.: північні околиці, гора на виїзді зі села, N 49°33'9,76'', E 23°59'35,33'', 296 м н. р. м., VN 315, 6.07.2012, В.О. Начичко (KW, LW), яке, напевно, відповідає збору S. Jarolim. Цей локалітет характеризується виходами піску, на яких природно росте *Pinus sylvestris* L., формуючи невеликий за площею ліс на вершині гори. На крутому південному схилі, між поодинокими молодими рослинами *P. sylvestris* та *Crataegus monogyna* Jacq., сформовані ділянки трав'яного угруповання класу *Koelerio-Corynephoretea* Klika in Klika et Novak 1941, до складу якого входить *Th. serpyllum*. Таким чином, нами підтверджене «забуте» місцезнаходження виду, що віддалене від південної межі області його суцільного поширення на 35 км і раніше не наводилось у працях інших дослідників. У цьому локалітеті представники виду, без сумніву, існують тривалий час. Це, вірогідно, свідчить про те, що наведене місцезнаходження є південним форпостом (можливо, реліктовим, із дольодовикового часу), в якому вид має змогу існувати завдяки наявності сприятливих факторів середовища. Лімітуючим серед цих факторів є тип субстрату, до якого приурочений *Th. serpyllum* [12]. Наведена інформація узгоджується з даними інших дослідників [27, 28], котрі наводять велику кількість ізольованих місцезнаходжень *Th. serpyllum* у Центральній Європі, які віддалені на південь від області суцільного поширення виду.

Євразійський степовий і лісостеповий вид *Th. rannonicus* у західних регіонах України поширений на теренах Прут-Дністерського межиріччя, Хотинської, Подільської та Волинської височин. Невелика кількість місцезнаходжень виду зосереджена також у південній частині Малеого Полісся уздовж південної його межі та на Передкарпатті на території Івано-Франківської і Чернівецької областей. Поодинокі локалітети виявлені також у крайній південній частині Поліської низовини та на Закарпатській низовині (рис. 3). У західних областях України проходить північна межа ареалу *Th. rannonicus*, яка має хвилясту форму і перетинає досліджувану територію тричі [25, 28]. Проведені дослідження дають змогу уточнити і доповнити наявну інформацію стосовно північної межі ареалу виду в західних регіонах України. Вона представлена тут трьома ділянками: I. Закарпатська обл.: м. Ужгород – м. Мукачево – м. Берегове; II. Чернівецька обл.: с. Підвальне – с. Горбова (Герцаївський р-н) – с. Строїнци – с. Магала (Новоселицький р-н) – м. Чернівці – с. Стрілецький Кут (Кіцманський р-н) – Івано-Франківська обл.: смт Гвіздець – с. Іванівці (Коломийський р-н) – м. Тлумач (Тлумацький р-н) – с. Ганнусівка (Тисменицький р-н) – Львівська обл.: с. Лапшин (Жидачівський р-н) – м. Львів – с. Потелич (Жовківський р-н); III. Волинська обл.: с. Губин (Локачинський р-н) – смт Рокині (Луцький р-н) – с. Словатичі – с. Сокиричі (Ківерцівський р-н) – Рівненська обл.: с. Новостав – с. Городок (Рівненський р-н) – в напрямку на м. Житомир.

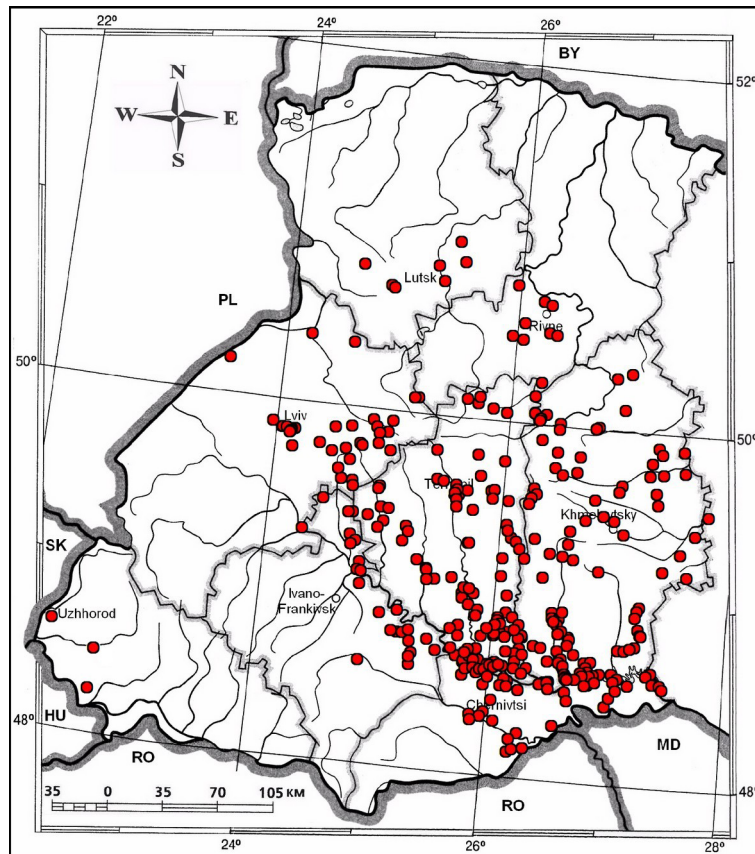


Рис. 3. Карта поширення *Th. rannonicus* у західних регіонах України



Подібно до *Th. pannonicus* у західних регіонах України поширений *Th. glabrescens*. Зокрема, представники виду спорадично трапляються у крайній південно-східній частині Передкарпаття, на території Прут-Дністерського межиріччя, Хотинської та Подільської височин, Розточчя, у крайній південній і південно-східній частинах Малого Полісся. Поодинокі локалітети виявлені також на території Закарпатської низовини та Волинської височини (рис. 4). Північна межа ареалу *Th. glabrescens* у межах території дослідження недостатньо чітка через складність ідентифікації представників виду [25, 28]. Згідно з проведеними дослідженнями, ця межа точніше і конкретніше окреслюється такими трьома ділянками: I. Закарпатська обл.: околиці м. Ужгород; II. Чернівецька обл.: с. Старий Вовчинець (Глибоцький р-н) – с. Снячів (Сторожинецький р-н) – с. Зеленів (Кіцманський р-н) – Івано-Франківська обл.: смт Гвіздець (Коломийський р-н) – с. Гарасимів – с. Хотимир (Тлумецький р-н) – с. Дубівці – с. Придністров'я (Галицький р-н) – Львівська обл.: м. Пустомити (Пустомитівський р-н) – смт Івано-Франкове – смт Шкло – смт Немирів (Яворівський р-н); III. Львівська обл.: с. Пиратин (Радохівський р-н) – Рівненська обл.: с. Озеряни (Дубенський р-н) – в напрямку на м. Житомир.

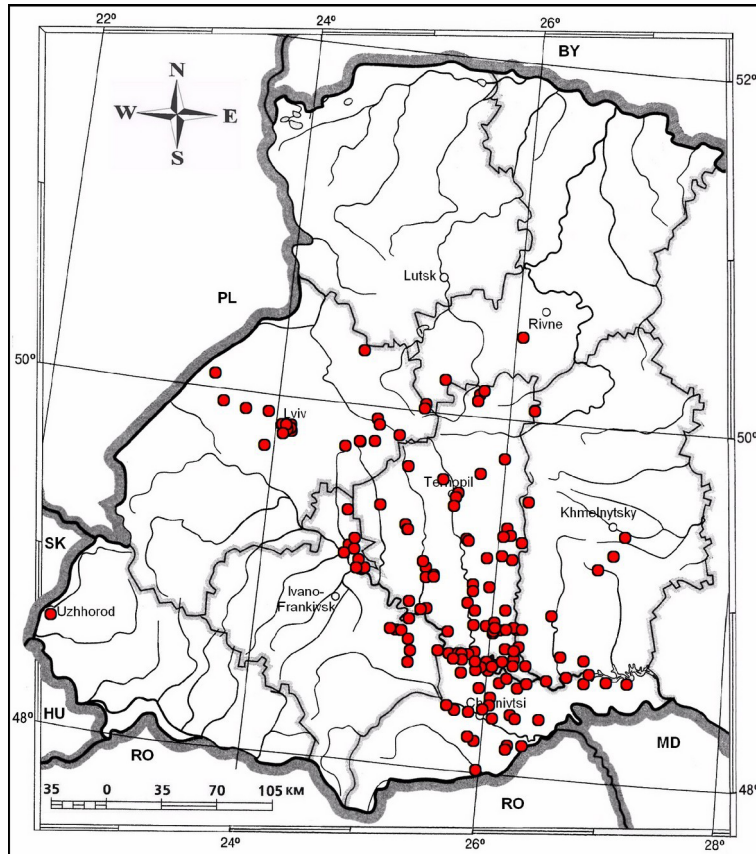


Рис. 4. Карта поширення *Th. glabrescens* у західних регіонах України

Більш обмежене регіональне поширення у західних областях України, яке тяжіє до карпатського регіону, мають *Th. alternans*, *Th. alpestris* та *Th. pulcherrimus*. Ендемік Східних Карпат *Th. alternans* у регіоні дослідження поширений на території Передкарпаття, Укра-

їнських Карпат і Закарпатської низовини; поодинокі місцезнаходження виявлені також у крайній південно-східній частині Прут-Дністерського межиріччя (рис. 5). Представники виду трапляються у складі лучних і чагарникових угруповань на передгірних рівнинах та у субмонтанному і монтанному поясах, зазвичай не вище 1100 м н. р. м. Однак одне місцезнаходження, вірогідно синантропного походження, виявлене нами у високогір'ї Мармароських гір на висоті 1506 м н. р. м.: Закарпатська обл., Рахівський р-н, с. Ділове, траверсна дорога між г. Полонинка і г. Щербан, відкрито серед каміння на дорозі, N 47°54'34,8'', E 24°17'14,5'', 1506 м н. р. м., VN 504, 27.07.2012, В. О. Начичко. На теренах західних регіонів України проходить північна та північно-східна межа ареалу *Th. alternans*, яка до сьогодні через брак детальної інформації стосовно поширення виду чітко не окреслювалась. Результати наших досліджень дають змогу детально провести цю межу по лінії: Закарпатська обл.: с. Верховина-Бистра (Великоберезнянський р-н) – г. Пікуй – с. Скотарське (Воловецький р-н) – с. Пилипець – с. Синевирська Поляна (Міжгірський р-н) – с. Комсомольськ (Тячівський р-н) – смт Ясіня (Рахівський р-н) – Івано-Франківська обл.: м. Яремче – смт Ланчин (Надвірнянський р-н) – с. Залуччя (Коломийський р-н) – Чернівецька обл.: с. Зелений – с. Лашківка (Кіцманський р-н) – м. Чернівці – м. Герца (Герцаївський р-н) – с. Драниця (Новоселицький р-н). Нами також виявлені місцезнаходження виду, які віддалені на північ від наведеної межі його ареалу та мають невідоме походження: Івано-Франківська обл., Рожнятівський р-н, смт Рожнятів, біля водосховища, в травостої, 27.07.2011, В.В. Чумак; там само, в травостої, жіноча форма, 4.06.2012, В.В. Чумак.

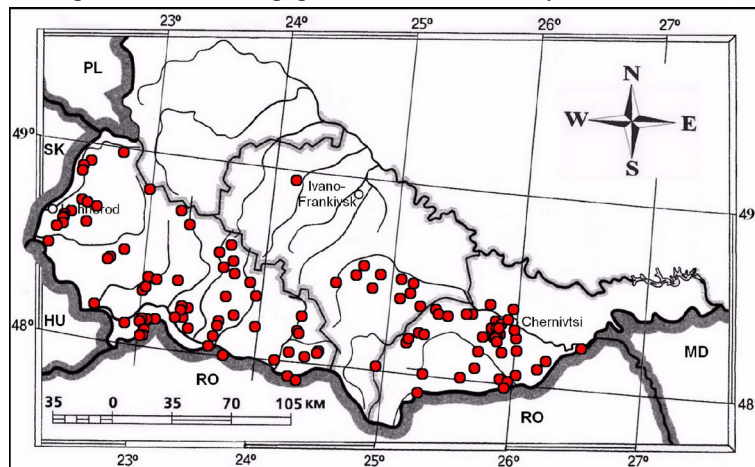


Рис. 5. Карта поширення *Th. alternans* у західних регіонах України

*Th. alpestris* на території західних регіонів України поширений виключно в Українських Карпатах (рис. 6) від монтанного до субальпійського і альпійського висотних поясів, зазвичай вище 1000 м н. р. м. Тут представники виду трапляються у складі лучних і наскельних угруповань. У межах території дослідження проходять південно-західна та північно-східна межі ареалу *Th. alpestris* [28], які зазвичай чітко окреслюються ізогісами 1000 м н. р. м.

Загальнокарпатський ендемік *Th. pulcherrimus* приурочений до лучних і наскельних угруповань, сформованих на вапнякових субстратах або на субстратах із близьким залеганням вапнякових порід у субмонтанному та монтанному (рідко), субальпійському й альпійському висотних поясах [26]. Зважаючи на таку еколого-ценотичну приуроченість

і, очевидно, історію розвитку виду, його ареал диз'юнктивний, представлений великою кількістю часто віддалених один від одного локусів [28]. У межах західних регіонів України представники *Th. pulcherrimus* поширені лише у трьох гірських масивах Українських Карпат: Свидовець, Чорногора та Чивчинські гори (рис. 7), виключно в субальпійському й альпійському поясах. Деякі дослідники [1] наводять вид також для Мармароських гір. Однак наші ретельні польові дослідження у наведеному регіоні не підтверджують цю інформацію.

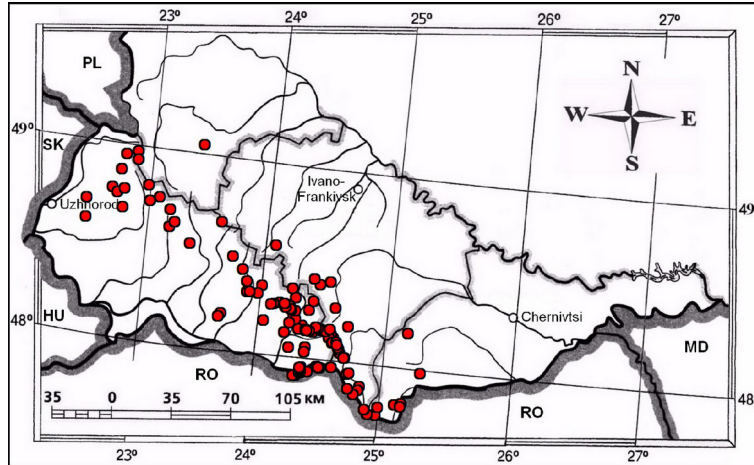


Рис. 6. Карта поширення *Th. alpestris* у західних регіонах України

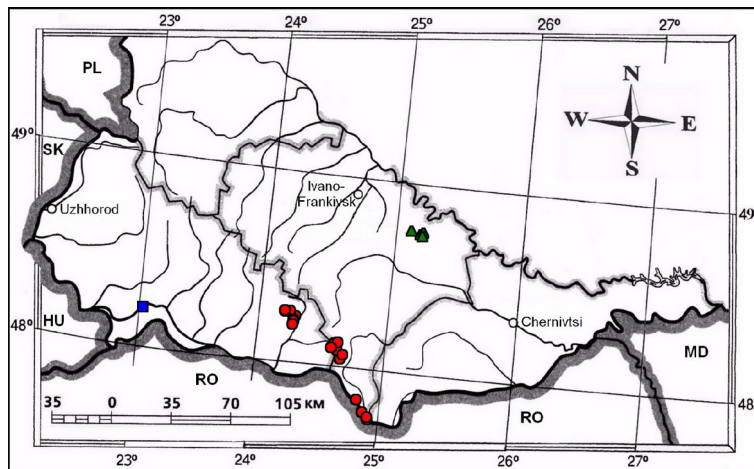


Рис. 7. Карта поширення *Th. pulcherrimus* (●), *Th. jankae* (■) та *Th. moldavicus* (▲) у західних регіонах України

Локальним поширенням у західних регіонах України характеризуються *Th. jankae* та *Th. moldavicus*, для яких відомі поодинокі місцезнаходження. *Th. jankae* виявлений нами лише на г. Чорна Гора в околицях м. Виноградів Закарпатської обл. (рис. 7), де він входить до складу ксеротермних трав'яних і чагарникових угруповань. Це місцезнаходження сильно віддалене від області суцільного поширення виду, що простягається у північній і центральній частинах Балканського півострова. Тому, ймовірно, тут вид зберігся з минулих

геологічних часів і має змогу існувати сьогодні завдяки сприятливим умовам середовища, визначальними з яких є кліматичні чинники. На підтвердження такої думки виступають оригінальна флора і рослинність г. Чорна Гора, які виявляють південно-європейські генетичні зв'язки [17]. Зокрема, у наведеному місцезнаходженні, окрім *Th. jankae*, представлені інші представники балканської та субсередземноморської флори, такі як *Fraxinus ornus* L., *Doronicum hungaricum* (Sadler) Rchb. f., *Tilia tomentosa* Moench тощо.

*Th. moldavicus* у західних областях України поширений лише на кількох пагорбах з оголеннями гіпсів в околицях сіл Хотимир, Жабокруки та Гарасимів Тлумацького р-ну Івано-Франківської обл. (рис. 7). Ці місцезнаходження, виявлені вперше М. Koczwara [21, 25], в подальшому підтверджені зборами інших дослідників, які зберігаються у гербаріях України (KW) і Польщі (KRAM), та матеріалами наших польових досліджень [11]. Місцезнаходження *Th. moldavicus* у західних регіонах України сильно віддалені від основної території поширення виду (Крим, Причорномор'я). Цей факт, а також диз'юнктивне поширення *Th. moldavicus* окремими локусами, імовірно, свідчать про реліктовий характер його ареалу, на що вказували інші дослідники [8, 9]. М. В. Клоков [8], характеризуючи хорологічні особливості *Th. moldavicus*, розглядає його як південнопонтичний ендемік. Підтвердження поширення цього виду на теренах Південно-Західного Поділля дає змогу уточнити характер його ендемізму і віднести *Th. moldavicus*, таким чином, до групи західно-подільсько-південнопонтичних ендеміків.

#### Географічний аналіз видів роду *Thymus*

Відповідно до флористичного районування Земної кулі [23] за зональними характеристиками нами виділено три типи ареалів видів роду *Thymus* флори західних регіонів України. Більшість видів характеризується температурно-субмеридіональним зональним типом ареалу. До цієї групи належать *Th. glabrescens*, *Th. pannonicus*, *Th. pulcherrimus*, *Th. alternans*, *Th. alpestris*, *Th. pulegioides* та *Th. jankae*. По одному виду характеризуються іншими зональними типами ареалів. Зокрема, субтемператно-субмеридіональний тип ареалу виявляє локально поширений на території Південно-Західного Поділля *Th. moldavicus*. Для псамофіта *Th. serpyllum*, південна межа ареалу якого проходить у центральній частині західних регіонів України, характерний аркто-температний тип ареалу.

Три види є виключно складовими флор гірських систем Європи: Карпат (*Th. alternans*, *Th. pulcherrimus*) та Карпат і Судет (*Th. alpestris*). Тому, окрім зонального, вони характеризуються і чітким висотним розподілом. Висотне поширення характерне також для широкоареального *Th. pulegioides* у тих частинах його ареалу, де наявні гірські масиви. Загалом, аналіз висотного поширення видів роду *Thymus* флори західних регіонів України дає змогу віднести їхні ареали до чотирьох висотних типів. Зокрема, рівнинний тип ареалу характерний для *Th. moldavicus*, *Th. jankae*, *Th. pannonicus*, *Th. glabrescens* та *Th. serpyllum*, монтанно-рівнинний – для *Th. pulegioides* та *Th. alternans*, альпійсько-субмонтанний – для *Th. pulcherrimus*, альпійсько-монтанний – для *Th. alpestris*. Наведений розподіл свідчить про відсутність чіткої приуроченості більшості видів до певної висоти. Лише висотне поширення *Th. alternans* і *Th. pulegioides* зазвичай обмежується рівнинно-монтанним максимальним діапазоном. Види *Th. pulcherrimus* і *Th. alpestris* приурочені до гірських поясів, хоча, звичайно, не виявляють поширення виключно в одному поясі, а одночасно трапляються у кількох.

Розподіл таксонів чебреців за регіональним поширенням дав змогу виділити два типи ареалів: європейський і євразійський. Для більшості видів (8) характерний європейський тип. При цьому найбільші за площею ареали представлені у неморальних *Th. serpyll-*

*lum* та *Th. pulegioides* і степовому та лісостеповому *Th. glabrescens*. Ці види, окрім західних областей України, поширені і в суміжних регіонах України. Набагато меншими розмірами характеризуються ареали високогірних і ендемічних таксонів. У межах України вони трапляються лише в західних її областях (*Th. alpestris*, *Th. alternans*, *Th. pulcherrimus*, *Th. jankae*) або мають також обмежене поширення у південних регіонах України (*Th. moldavicus*). Євразійським типом ареалу характеризується лише *Th. pannonicus*. Цей вид поширений у широтному напрямку в межах степової та лісостепової зон від країн Центральної Європи і досягає на сході Китаю.

На основі класифікації за кліматичними особливостями для видів роду *Thymus* флори західних регіонів України нами встановлено п'ять типів ареалів. Більшість видів поширені в областях з океанічним кліматом. Зокрема, *Th. jankae* та *Th. pulegioides* характеризуються євриокеанічним, *Th. moldavicus* – субокеанічно-параокеанічним, *Th. alpestris*, *Th. alternans* та *Th. pulcherrimus* – субокеанічним типами ареалів. Три види поширені в областях із континентальним кліматом: у *Th. glabrescens* і *Th. pannonicus* ареали субконтинентально-євконтинентального, а у *Th. serpyllum* – параконтинентально-субконтинентального типів.

Відповідно до класифікації географічних елементів, запропонованої Ю.Д. Клеоповим [7], види роду *Thymus* флори західних регіонів України належать до п'яти типів геоелементів. Найбільшу кількість видів об'єднує гірський тип. Він представлений гірськоцентральноевропейським геоелементом, який складають *Th. alpestris*, *Th. alternans*, *Th. pulcherrimus*, асоційовані з гірськими системами Судет і/або Карпат. Європейський тип репрезентований європейським геоелементом із видами *Th. serpyllum* та *Th. pulegioides*. Субсередземноморський тип представлений субсередземноморським (*Th. glabrescens*) та балканським (*Th. jankae*) геоелементами, які частково проникають на території ареалів європейського типу геоелементів. Найменшу кількість видів об'єднують такі типи геоелементів як євразійський і ендеміки вузьких територій, для представників яких характерні відповідно найбільший та найменший розміри ареалів. Євразійський тип представлений євразійським геоелементом із видом *Th. pannonicus*. До ендеміків вузьких територій належить західноподільсько-південнопонтичний ендемік *Th. moldavicus*.

Цікавим є той факт, що на територіях, які межують із західними регіонами України, трапляється різна кількість видів роду *Thymus*, відповідно до прийнятої нами уніфікованої таксономічної концепції. Зокрема, у флорі Польщі, згідно з опрацьованими літературними джерелами [24, 26] та гербарними зразками гербаріїв KRAM та KRA, цей рід представлений 7 видами, у флорі Словаччини відомо 8 видів чебреців [19, 22], у флорі Угорщини – 5 [29], у флорі Румунії – 16 [20], у флорі Молдови – 6 [2], у флорі Білорусі – лише 3 види [16]. Водночас у східних і південно-східних регіонах України представлено сім видів роду *Thymus* [10, 15], а на півострові Крим – 5 [6]. Переважна більшість видів на цих територіях мають європейський тип ареалу. Аналіз розподілу видів роду *Thymus* в межах західних, східних і південних регіонів України, а також у суміжних із західними регіонами України країнах Європи, свідчить про загальну тенденцію збільшення кількості видів у балканському напрямку. Це, загалом, відповідає даним історичної біогеографії роду *Thymus*, який виник у Західному Середземномор'ї та звідси іррадіював на терени Європи, Азії й Африки. При цьому Балканський півострів став одним із найбільших вторинних центрів розвитку роду й основою для подальших міграцій його представників у Східну Європу й Азію [4]. Порівняння видового складу чебреців флори західних регіонів України та суміжних територій дало змогу встановити, що видове різноманіття роду *Thymus* у флорі західних облас-

тей України є більш спорідненим із різноманіттям чебреців у флорі Польщі, Словаччини та інших країн Центральної Європи, серед яких переважають представники, пристосовані до умов океанічного типу клімату. Натомість видовий склад чебреців флори західних регіонів України кардинально відрізняється від такого у східних і південно-східних регіонах України, де більшість представників пристосовані до умов більш континентального типу клімату або характеризуються широкою екологічною амплітудою.

Отже, аналіз сучасного поширення видів роду *Thymus* на території західних регіонів України свідчить, що унікальні місцезнаходження виявлені на Закарпатській низовині, в Українських Карпатах, на Передкарпатті й у південно-західній частині Подільської височини. Тут розміщений один із центрів видового різноманіття роду в Україні. У результаті географічного аналізу встановлено, що ареали більшості видів роду *Thymus* флори західних регіонів України сконцентровані у температурно-субмеридіональній зоні Європи і тяжіють до областей із океанічним кліматом. Тому таксономічний склад чебреців західних областей України більш споріднений із таким у флорі країн Центральної Європи, ніж із різноманіттям роду у флорі східних і південно-східних регіонів України. За висотним розподілом переважають види з рівнинним типом ареалів. Аналіз географічних елементів свідчить про домінування видів гірського типу геоелементів.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Берко Й. М. Будова пагонових систем видів секції *Goniothymus* Klok. роду *Thymus* L. флори України // Укр. ботан. журнал. 1987. Т. 44. № 6. С. 45–51.
2. Гейдеман Т. С. Род 28. Чебрець (Тимьян) – Чимбру (Тимиан) – *Thymus* L. // Определитель высших растений Молдавской ССР / отв. ред. С.К. Черепанов. 2-е изд., перераб. и доп. Кишинев: Штиинца, 1975. С. 418–419.
3. Географічна енциклопедія України: в 3-х т. К.: «Українська Радянська Енциклопедія» ім. М.П. Бажана, 1989–1993. Т. 1: А – Ж. 1989. 416 с; Т. 2: З – О. 1990. 480 с; Т. 3: П – Я. 1993. 480 с.
4. Гогина Е. Е. Изменчивость и формообразование в роде Тимьян. М.: Наука, 1990. 208 с.
5. Дідух Я. П., Плюта П. Г., Протопопова В. В. та ін. Екофлора України / відп. ред. Я.П. Дідух. Т. 1. К.: Фітосоціоцентр, 2000. 284 с.
6. Ена А. В. Природная флора Крымского полуострова. Симферополь: Н. Орианда, 2012. 232 с.
7. Клеонов Ю. Д. Анализ флоры широколиственных лесов европейской части СССР / отв. ред. Д.Н. Доброчаева. К.: Наук. думка, 1990. 352 с.
8. Клоков М. В. Рід 748. Чебрець – *Thymus* L. // Флора УРСР. Т. 9. К.: Вид-во АН УРСР, 1960. С. 294–348.
9. Клоков М. В., Шостенко Н. А. Чебрецы европейской части СССР // Учен. зап. Харьков. гос. ун-та. 1938. Т. 3. № 14. С. 107–157.
10. Котов М. И. Род 35. Тимьян (Чебрець) – *Thymus* L. // Определитель высших растений Украины / отв. ред. Ю.Н. Прокудин. К.: Наук. думка, 1987. С. 311–312.
11. Начичко В. О. Рід *Thymus* L. (*Labiatae* Juss.) у флорі Волино-Поділля // Наук. вісн. Чернівецьк. ун-ту. Біологія (Біол. системи). 2011. Т. 3. Вип. 3. С. 291–297.
12. Начичко В. О. Цікаві знахідки *Thymus serpyllum* L. на Львівщині // Біорізноманіття. Екологія. Адаптація. Еволюція: мат-ли VI Міжнар. конф. молодих вчених, присв. 150-річчю від дня народження видатного ботаніка Володимира Липського (Одеса, 13–17 травня 2013 р.). Одеса: Печатний дом, 2013. С. 42–43.

13. Начичко В. О. Рід *Thymus* L. (*Lamiaceae*) у флорі Заходу України: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.05. К., 2015. 21 с.
14. Начичко В. О., Гончаренко В. І. Гібриди роду *Thymus* L. (*Lamiaceae*) у флорі західних регіонів України: таксономічний склад і поширення // Біологічні студії. 2016. Т. 10. № 1. С.163–186.
15. Остапко В. М., Бойко А. В., Мосякин С. Л. Сосудистые растения юго-востока Украины. Донецк: Ноулидж, 2010. 247 с.
16. Сауткина Т. А. 23. *Thymus* L. – Тимьян, Чабрец // Определитель высших растений Беларуси / под. ред. В.И. Парфенова. Минск: Дизайн ПРО, 1999. С. 271.
17. Стойко С., Гадач Е., Шимон Т., Михалик С. Заповідні екосистеми Карпат. Львів: Світ, 1991. 248 с.
18. Толмачев А. И. Введение в географию растений. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1974. 244 с.
19. Čap J. 31. *Thymus* L. Dúška (materiana dúška) // Flóra Slovenska. Vol. 5/1. Bratislava: VEDA, 1993. S. 335–367.
20. Ciocârlan V. 28. *Thymus* L. – Cimbru, Cimbrișor // Flora ilustrată a României: Pteridophyta et Spermatophyta. București: Ceres, 2009. P. 662–667.
21. Koczwara M. *Thymus odoratissimus* M. B. nowy składnik flory Polski // Kosmos (Lwów). 1928. R. 52. Z. 3–4. S. 558–561.
22. Mártonfi P. *Thymus alternans* Klokov – a new species of Slovak flora // Biologia (Bratislava). 1996. Vol. 51. Iss. 1. P. 27–29.
23. Meusel H., Jäger E., Weinert E. Vergleichende Chorologie der Zentraleuropäischen Flora. Bd. 1. Jena: Fischer, 1965. 583 S.
24. Mirek Z., Piękoś-Mirkowa H., Zajac A., Zajac M. Flowering plants and pteridophytes of Poland. A checklist. Kraków, 2002. 442 p.
25. Pawłowski B. Rozmieszczenie geograficzne kilku macierzanek (*Thymus* L.) w Polsce i zachodniej Ukrainie // Fragm. Flor. et Geobot. 1967. Ann. 13(1). S. 15–50.
26. Pawłowski B. *Thymus* L., Macierzanka // Flora Polska. T. 11. Warszawa, Kraków: PWN, 1967. S. 167–210.
27. Schmidt P. Zur taxonomischen Abgrenzung und Verbreitung von *Thymus serpyllum* L. emend. Mill. // Wiss. Z. Univ. Halle. Math.-Naturwiss. R. 1969. Bd. 18. H. 6. S. 810–818.
28. Schmidt P., Knapp H. D. Die Arten der Gattung *Thymus* L. (*Labiatae*) im herzynischen Florengebiet // Wiss. Z. Univ. Halle. Math.-Naturwiss. R. 1977. Bd. 26. H. 2. S. 71–118.
29. *Thymus* L. – Kakukkfű // Új magyar fűvészkönyv. Magyarország hajtásos növényei. Határozókulcsok / szerk. G. Király. Jósvalő, 2009. Old. 356–357.

Стаття: надійшла до редакції 24.06.16

доопрацьована 11.01.17

прийнята до друку 15.02.17

**BOTANICAL-GEOGRAPHICAL CHARACTERIZATION OF *THYMUS* L.  
(*LAMIACEAE*) SPECIES IN THE FLORA OF WESTERN REGIONS OF UKRAINE**

**V. Nachychko, V. Honcharenko**

*Ivan Franko National University of Lviv  
44, Cheremshyna St., Lviv 79014, Ukraine  
e-mail: nachychko@gmail.com*

The paper presents the results of botanical-geographical analysis of *Thymus* L. species in the flora of western regions of Ukraine. The study of current thyme distribution on this territory shows that a significant part of the identified species is confined to the Transcarpathian lowland, Ukrainian Carpathians, Pre-Carpathians and the southwestern part of Podillya height. Here is located one of the centers of *Thymus* diversity in Ukraine. Distribution of the range-bordered species within the studied area has been clarified: *Th. serpyllum* L. emend. Mill., *Th. pannonicus* All., *Th. glabrescens* Willd., and *Th. alternans* Klokov. It was revealed that *Thymus* species in the flora of western regions of Ukraine are featured in relatively high variety of geographic range types. Based on the zonal characteristics, altitudinal breakdown, and regional distribution patterns, the species with temperate-submeridional, plain, and European types of range, respectively, are predominant. According to the climate affinity, the ranges of most *Thymus* species in this area are inclined towards regions with oceanic climate. Thus, thyme species composition in western regions of Ukraine shows closer affinity to thyme diversity in the flora of Central Europe than of the eastern and south-eastern regions of Ukraine. The analysis of geographical elements shows the dominance of species belonging to the mountain type of geoelements.

*Keywords:* *Thymus* L., botanical-geographical analysis, western regions of Ukraine, geographic range, endemics



## ISOENZYME DIVERSITY WITHIN GENUS *MELICA* (POACEAE) – SYSTEMATIC IMPLICATIONS

G. Angelov<sup>1</sup>, I. Bednarska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences  
23, Acad. G. Bonchev St., bl. 1113, Sofia, Bulgaria*

*e-mail: jorkata\_1953@mail.bg*

<sup>2</sup>*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine*

*4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine*

*e-mail: ibednarska@ukr.net*

Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) of six enzymes was employed to reveal the systematic position and relationships of four species within genus *Melica*. The variation of the isoenzymes anodal esterase, cathodal peroxidase, acid phosphatase, superoxide dismutase, amylase and glutamate dehydrogenase was analyzed. The aim of the present study was to examine the variation of a set of isoenzymes in attempt to evaluate the systematic position and relationships of four species of genus *Melica* L. Systematic relationships were evaluated by calculating coefficient of divergence D. The species *M. uniflora* was clearly differentiated from *M. ciliata* and *M. transsilvanica*. Moreover, the species *M. uniflora* possessed two species-specific isoforms. It was shown that the species *M. nutans* is closely related to *M. uniflora* but genetically is a well defined entity within genus *Melica*. The results of the present study correlated well with the main morphological features of the examined taxa of genus *Melica*.

*Keywords: Melica, PAGE, isoenzymes, variation, systematic relationships*

The species *Melica nutans* L. is shortly-rhizomatous, long-lived perennial grass. Spikelets are 6–8 mm long, eventually nodding, with 2–3 fertile florets, falling together when ripe. Diploid, 2n=18. While several European *Melica* species are very variable and subjected to different taxonomic treatments, *Melica nutans* is morphologically homogenous [1]. This species occupies shady and often rocky places. It is distributed mostly of Europe, but rarely in Mediterranean region and the islands [14].

Species *M. uniflora* Retz. is rhizomatous, perennial grass. Spikelets are 3–7 mm long, erect, with 1 fertile floret, diploid, 2n=18. It occurs mainly in shady places. Its range of distribution in Europe is northwards to Scotland, and eastwards to Moldova [14] and the neighboring south-western regions of Ukraine [5].

The complex *Melica ciliata* – *M. transsilvanica* consists of group of sub-Mediterranean-continental species. Intricate morphological variability and traits overlapping makes the *Melica ciliata* – *M. transsilvanica* complex a taxonomically problematic group [4]. The morphological variability concerns mainly indumentum of plants' vegetative parts and type of panicle branching. For the existence of continual variability, the number of taxa and its rank differ significantly in the taxonomic conception of different authors [11, 14, 18]. This circumstance causes confusion in synonymy as well disagreement concerning the distribution of some taxa. In particular, question about the eastern border of *Melica ciliata* s.str. is still disputable. According to Szczepaniak & Cieślak [13], *M. ciliata* is sub-Mediterranean species whose main continuous geographical range covers the area from the Atlantic and Mediterranean region, Central Europe, to southern

Ukraine and the Crimea. However, Ukrainian authors found that *M. ciliata* s.str. is very rare species in Podolian upland's south regions [5] and Transcarpathia.

The analysis of morphological characters proved to be insufficient for the proper taxa distinction within the complex *Melica ciliata*-*M. transsilvanica*. So, alternative diagnostic molecular markers were used. Study of genetic and morphological variation in natural populations of *Melica ciliata* and *M. transsilvanica* by DNA markers [12, 13] demonstrated effectiveness of AFLP analysis. Moreover, it was shown that earlier reported localities in Poland are wrong and this species does not occur in Poland. Despite of effectiveness of AFLP method for large-scale studies within Europe, it is expensive and rather laborious for smaller regional studies. Alternatively, the isoenzyme analysis is also widely employed in biosystematic studies. Large-scale geographic patterns in widespread Euroasian woodland grass *M. nutans* were studied by sets of isoenzyme systems [15, 16, 17]. Electrophoretic patterns of six isoenzymes in Bulgarian populations of *M. uniflora* were examined in order to reveal their isoenzyme variation [1].

The aim of the present study was to examine the variation of a set of isoenzymes in attempt to evaluate the systematic position and relationships of the above listed species. Within genus *Melica* L. The analysis of populations from the main parts of species' distribution, e.g. Bulgaria, will result in adequate comparative data.

#### Material and methods

The enzymes anodal esterase (EST), cathodal peroxidase (PER), acid phosphatase (ACP), superoxide dismutase (SOD), amylase (AMY) and glutamate dehydrogenase (GDH) were analyzed individually in two natural populations of each *Melica transsilvanica*, *M. ciliata*, *M. uniflora*, and *M. nutans* from Bulgaria. Leaves were grinded in 0.01 M Tris, 0.08 M glycine, 0.005 M cysteine, 20 % sucrose, pH 8.3. Anodally migrating isoforms were resolved on 7.5 % polyacrilamide slab gels as described [3]. The cathodal PER was run on 7.5 % polyacrilamide slab gels [7]. The length of gels was 10 cm for AMY, 7.5 cm for ACP and GDH, 7 cm for SOD, 6.25 cm for anodal EST and 6 cm for cathodal PER. The following staining recipes were used: AMY [7], PER [6], EST [8], GDH and ACP [9], SOD [2].

Systematic relationships among the above mentioned taxa of genus *Melica* were assessed by calculating coefficient of divergence D (15) according to the following formula:

$$D = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_j - x_k)^2}$$

where, N is the number of isoforms for each enzyme,  $x_j$  and  $x_k$  are the mean frequencies of i-th isoform in taxa j and k.

#### Results and discussion

**Anodal esterase.** Totally eight isoforms of the enzyme were electrophoretically resolved in *Melica transsilvanica*, *M. ciliata*, *M. uniflora* and *M. nutans* (Table 1). Isoform 43 was shared by all species, being rare (frequency of 0.04) in *M. ciliata*. Excepting *Melica transsilvanica*, isoforms 16 and 32 were common for the rest of taxa. Similarly, isoform 19 was observed in all taxa but *M. uniflora*. The values of coefficient D indicated that the species *M. uniflora* and *M. nutans* were most closely related (D=0.11) while the former was most distantly positioned (D=0.25) from *Melica transsilvanica*.

**Cathodal peroxidase.** Nine isoforms of the enzyme were found in the populations of the studied species group (Table 2). Most of isoforms were shared by all species. Excepting *Melica transsilvanica*, isoform 28 was monomorphically fixed throughout the studied group. Isoform 34 was invariant in *M. uniflora* and *M. nutans*. Isoform 55 was species-specific for the species

*M. uniflora*. The values of coefficient D varied in a narrow range (0.14–0.18) and the studied taxa proved to be almost equidistantly positioned as judged by molecular marker cathodal peroxidase.

Table 1

Mean isoform frequencies of anodal esterase in the studied populations of *Melica uniflora*, *M. nutans*, *M. ciliata* and *M. transsilvanica*

Species	Isoforms							
	9	11	16	19	24	31	32	43
<i>M. uniflora</i>	0.00	0.79	0.74	0.00	0.00	0.09	0.23	0.31
<i>M. nutans</i>	0.12	0.48	0.64	0.12	0.42	0.22	0.65	0.84
<i>M. ciliata</i>	0.03	0.00	0.96	0.96	0.00	0.00	0.16	0.04
<i>M. transsilvanica</i>	0.00	0.00	0.00	0.12	0.75	0.12	0.00	0.12

Table 2

Mean isoform frequencies of cathodal peroxidase in the studied populations of *Melica uniflora*, *M. nutans*, *M. ciliata* and *M. transsilvanica*

Species	Isoforms								
	20	25	28	30	32	34	38	50	55
<i>M. uniflora</i>	0.58	1.00	1.00	1.00	0.00	1.00	0.42	0.39	0.13
<i>M. nutans</i>	0.14	0.82	1.00	0.14	0.72	1.00	0.92	0.78	0.00
<i>M. ciliata</i>	0.75	1.00	1.00	0.25	0.79	0.71	0.17	0.00	0.00
<i>M. transsilvanica</i>	0.62	0.88	0.62	0.62	0.00	0.75	0.50	0.00	0.00

**Acid phosphatase.** In total, nine isoforms of ACP were detected in the studied species of genus *Melica* (Table 3). Most of isoforms, namely 11, 14, 26, 30, 34, were shared by all examined species. Similarly, isoform 29 occurred in all studied taxa but *M. uniflora*. The values of coefficient D ranged from 0.09 (*M. nutans* vs *M. transsilvanica*) to 0.14 for the species pairs *M. transsilvanica*/*M. uniflora* and *M. ciliata*/*M. nutans*, respectively.

Table 3

Mean isoform frequencies of acid phosphatase in the studied populations of *Melica uniflora*, *M. nutans*, *M. ciliata* and *M. transsilvanica*

Species	Isoforms							
	11	14	18	22	26	29	30	34
<i>M. uniflora</i>	0.32	0.32	0.22	0.46	1.00	0.00	0.59	0.59
<i>M. nutans</i>	0.52	0.64	0.00	0.00	0.64	0.08	0.32	0.32
<i>M. ciliata</i>	0.04	0.79	0.00	0.63	0.46	0.21	0.79	0.12
<i>M. transsilvanica</i>	0.63	0.89	0.12	0.00	0.50	0.25	0.77	0.12

**Superoxide dismutase.** Nine isoforms of the enzyme marker SOD were detected in the studied species of genus *Melica* (Table 4). Monomorphically-fixed isoform 60 was common for the whole species group. Isoforms 30, 40, 44 and 48 were also detected with different frequencies in all examined taxa. Isoform 57 was species-specific for *M. uniflora*. The values of coefficient D fluctuated from 0.06 (*M. nutans* vs *M. transsilvanica*) to 0.18 when *M. ciliata* and *M. transsilvanica* were contrasted.

Table 4

Mean isoform frequencies of superoxide dismutase in the studied populations of *Melica uniflora*, *M. nutans*, *M. ciliata* and *M. transsilvanica*

Species	Isoforms								
	25	30	40	44	48	50	54	57	60
<i>M. uniflora</i>	0.58	0.42	0.58	0.23	0.13	0.97	0.39	0.33	1.00
<i>M. nutans</i>	0.23	0.16	0.32	0.00	0.54	0.45	0.18	0.00	1.00
<i>M. ciliata</i>	0.00	0.78	1.00	0.21	0.04	0.00	0.00	0.00	1.00
<i>M. transsilvanica</i>	0.00	0.12	0.75	0.12	0.75	0.75	0.00	0.00	1.00

**Amylase.** Totally eight isoforms of the enzyme were electrophoretically resolved in *Melica transsilvanica*, *M. ciliata*, *M. uniflora* and *M. nutans* (Table 5). Isoform 10 was shared by all studied species. Excepting *M. uniflora*, isoform 5 was also common for the whole group. Isoforms 40 and 44 were observed in *M. uniflora* and *M. nutans* only. In similar, isoform 8 was specific for species pair *Melica transsilvanica*, *M. ciliata*. The values of coefficient D varied in a wide range – from 0.11 (*M. uniflora* and *M. nutans*) to 0.30 when *M. ciliata* and *M. transsilvanica* were compared.

Table 5

Mean isoform frequencies of amylase in the studied populations of *Melica uniflora*, *M. nutans*, *M. ciliata* and *M. transsilvanica*

Species	Isoforms							
	5	8	10	17	20	26	40	44
<i>M. uniflora</i>	0.00	0.00	0.22	1.00	0.00	0.00	0.88	0.44
<i>M. nutans</i>	0.42	0.00	0.48	1.00	0.34	0.16	0.48	0.24
<i>M. ciliata</i>	0.79	0.26	0.53	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00
<i>M. transsilvanica</i>	0.25	0.25	0.12	0.88	0.00	0.00	0.00	0.00

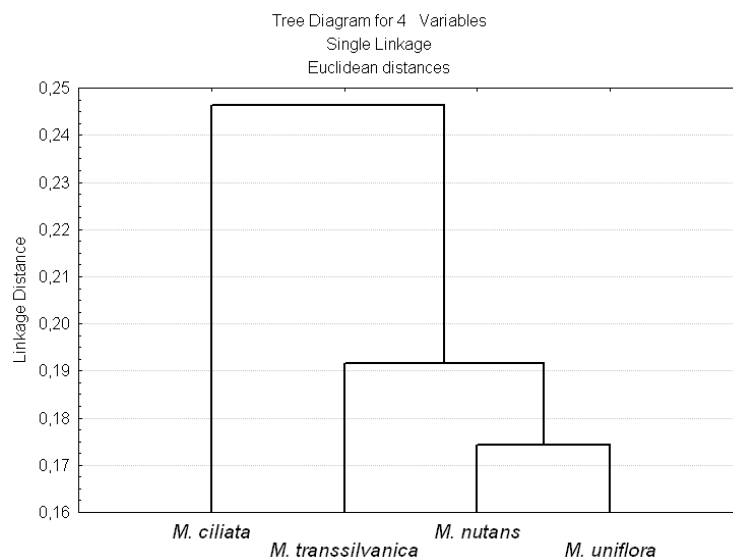
**Glutamate dehydrogenase.** In total, five isoforms of the enzyme were detected in the studied species of genus *Melica*. Isoforms 13 and 15 were common for the whole studied group. The species *M. nutans* shared the electrophoretic patterns of *M. uniflora*. Thus, the latter two taxa possessed identical isoenzyme structure in respect to the enzyme marker glutamate dehydrogenase.

The mean values of coefficient D averaged over the five enzymes surveyed, namely anodal EST, catodal PER, ACP, SOD and AMY, are shown in Table 6 and graphically in Figure.

Table 6

Mean values of coefficient D for pair-wise comparisons among the studied taxa of genus *Melica*

Species	Mean values of coefficient D				
	Number	1	2	3	4
<i>M. uniflora</i>	1	0.00			
<i>M. nutans</i>	2	0.12	0.00		
<i>M. ciliata</i>	3	0.17	0.17	0.00	
<i>M. transsilvanica</i>	4	0.17	0.13	0.19	0.00



The dendrogram of Cluster analysis for four *Melica* species on the base D coefficient

Pair-wise comparisons of *M. uniflora* with species *M. ciliata* and *M. transsilvanica* resulted in high values of coefficient D equal to 0.17 in both cases. Thus, it was clearly differentiated from species pair *M. ciliata* and *M. transsilvanica*. It should be noted that the mean value of coefficient D for the comparison between *M. nutans* and *M. uniflora* was the lowest one (0.12) – an indication for high similarity of isoenzyme structure of both taxa. In addition, the species *M. uniflora* possessed two species-specific isoforms. This result demonstrated that the species *M. nutans* and *M. uniflora* are closely related taxa within genus *Melica*. It should be pointed out that both *M. nutans* and *M. uniflora* are rhizomatous plants while the species *M. ciliata* and *M. transsilvanica* are caespitose ones. Moreover, *M. nutans* and *M. uniflora* are among the minority of species within the genus which are characterized with obtuse and glabrous lemma, while the rest of species have pointed (acute) lemma with long hairs. Thus, they were clearly differentiated from both *M. ciliata* and *M. transsilvanica*. Thus, the results of the present study correlated with the main morphological features of the examined taxa of genus *Melica*.

## REFERENCES

1. Angelov G. Electrophoretic spectra of six isoenzymes in natural populations of *Melica uniflora* (Poaceae) from Bulgaria // Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci. 2012. Vol. 65(8). P. 1071–1077.
2. Baur E., Schorr R. Genetic polymorphism of tetrazolium oxidase in dogs // Sci. 1969. Vol. 166. P. 1524–1525.
3. Davis B. Disc electrophoresis. I. Method and application to human serum proteins // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1964. Vol. 121. P. 404–427.
4. Hempel W. Taxonomische und chorologische Untersuchungen an Arten von *Melica* L. subgen. *Melica* L. // Feddes Repert. 1970. Vol. 81. P. 131–145.
5. Prokudin Yu. N., Vovk A. G., Petrova O. A., Ermolenko E. D. et Verniczenko Yu. V. (eds.). Zlaki Ukrainy (Grasses of Ukraine). Kyiv: Naukova Dumka, 1977. P. 389–399.
6. Przybylska J., Blixt S., Parzys H., Zimniak-Przybylska Z. Isoenzyme variation in the genus *Pisum*. I. Electrophoretic patterns of several enzyme systems // Genet. Polon. 1982. Vol. 23. P. 103–121.
7. Reisfeld R., Lewis U., Williams D. Disc electrophoresis of basic proteins and peptides on polyacrylamide gels // Nature. 1962. Vol. 195. P. 281–283.
8. Schmidt-Stohn G., Wehling P. Genetic control of esterase isoenzymes in rye (*Secale cereale* L.) // Theor. Appl. Genet. 1983. Vol. 64. P. 109–115.
9. Shaw C., Prasad R. Starch gel electrophoresis – a compilation of recipes // Biochem. J. 1970. Vol. 4. P. 297–320.
10. Stuessy T. Plant Taxonomy. New York: Columbia Univ. Press. 1990.
11. Szczepaniak M. Struktura filogeograficzna gatunków kompleksu *Melica ciliata* – *M. transsilvanica* (Poaceae) w Europie // Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica. 2013. Vol. 20 (1). P. 109–130.
12. Szczepaniak M., Cieślak E. Genetic variation and structure in natural populations of *Melica ciliata* and *M. transsilvanica* (Poaceae) as indicated by AFLP markers // Biodiv. Res. Conserv. 2006. Vol. 3–4. P. 39–43.
13. Szczepaniak M., Cieślak E. Genetic and morphological differentiation between *Melica ciliata* L. and *M. transsilvanica* Schur (Poaceae) in Europe reveals the non-existence of *M. ciliata* in the Polish flora // Acta Soc. Bot. Pol. 2011. Vol. 80(4). P. 301–313.
14. Tutin T. *Melica* L. – In: Tutin, T.G. et al. (eds.). Flora Europaea. Cambridge Univ. Press, Cambridge. 1980. Vol. 5. P. 178–179.

15. Tyler T. Geographic variation and dispersal history in Fennoscandian populations of two forest herbs // *Plant. Syst. Evol.* 2002a. Vol. 233. P. 47–64.
16. Tyler T. Large-scale geographic patterns of genetic variation in *Melica nutans* a widespread Eurasian woodland grass // *Plant. Syst. Evol.* 2002b. Vol. 236. P. 73–87.
17. Tyler T. Studies in the *Melica ciliata* complex: Distribution of allozyme variation within and among individuals, populations and geographic regions // *Plant Syst. Evol.* 2004. Vol. 248. P. 1–30.

Стаття: надійшла до редакції 03.02.17

прийнята до друку 16.03.17

## РІЗНОМАНІТНІСТЬ ІЗОЕНЗИМІВ У МЕЖАХ РОДУ *MELICA* (РОАСЕАЕ) – РЕЗУЛЬТАТИ ВИКОРИСТАННЯ В СИСТЕМАТИЦІ

Г. Ангелов<sup>1</sup>, І. Беднарська<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут Біорізноманіття та Вивчення Екосистем

Болгарської академії наук

вул. акад. Г. Бончева, 23, Софія 1113, Болгарія

e-mail: jorkata\_1953@mail.bg

<sup>2</sup>Інститут екології Карпат НАН України

вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна

e-mail: ibednarska@ukr.net

З метою оцінки систематичного положення та взаємовідносин між чотирма видами роду *Melica* було використано електрофорез шести ферментів у поліакриламідному гелі (PAGE). Проведено аналіз мінливості ізоферментів анодної естерази, катодної пероксидази, кислої фосфатази, супероксиддисмутази, амілази і глутамат-дегідрогенази. Систематичні відносини оцінювали шляхом розрахунку коефіцієнта дивергенції. Встановлено, що за набором зазначених молекулярних маркерів *Melica uniflora* чітко відрізняється від *M. ciliata* та *M. transsilvanica*. Крім того, *M. uniflora* містить дві видоспецифічні ізоформи. Також було показано, що *M. nutans* тісно пов'язана з *M. uniflora*, проте генетично вид досить добре вирізняється в межах роду *Melica*. Представлені результати виявилися добре скорельовані з діагностично значущими ознаками морфологічної будови досліджених таксонів роду *Melica*.

*Ключові слова:* *Melica*, PAGE, ізоензими, мінливість, систематичні взаємовідносини

## МОХОПОДІБНІ ТА СУДИННІ РОСЛИНИ НА ТЕРИТОРІЇ ЗАЛІЗНИЦІ МІСТА ЛЬВОВА

**З. Мамчур, М. Чуба, Ю. Драч**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79000, Україна  
e-mail: dzvinkamatchur@gmail.com, marichkachuba@gmail.com*

У статті наведено список видів рослин на території залізничних колій у м. Львові, який охоплює 409 видів (41 вид мохоподібних і 368 види судинних рослин), що належать до 275 родів, 86 родин із шести відділів: Marchantiophyta, Bryophyta, Equisetophyta, Polypodiophyta, Pinophyta, Magnoliophyta. Проаналізовано особливості систематичної та фракційної структур флори, характеру розподілу видів у різних екоотопах залізниці. Показано, що у процесі заростання території залізниці переважають мохоподібні-апофіти (92,7 %), серед яких 52,6 % евантапофітів і 47,4 % геміапофітів. Серед судинних рослин також домінують апофіти (57,6 %), але активно проникають адвентивні види (37,2 %), серед яких 57,7 % становлять кенофіти і 42,3 % – археофіти. Незначна кількість у флорі індигенофітів: мохоподібних – 7,3 % і судинних рослин – 5,2 %. Серед досліджених типів екоотопів рослини найчастіше обирають для поселення територію прилеглих до залізниці смуг (77,5 %), трапляються на насипах і в канавах (52,5 %), а також на залізничному полотні (40,7 %). Виявлено низку рослин, проникнення і поширення яких є небезпечним для природних екосистем.

*Ключові слова:* мохоподібні, флора, синантропізація, залізничні колії, м. Львів

Львівська магістраль є однією з найстаріших ділянок залізниці України: сполучення між Львовом і Віднем було відкрито у листопаді 1861 р. Загалом, у Львівській області довжина залізничних колій загального користування становить близько 1310 км, середня густота залізничної мережі в регіоні – 60 км на 1000 км<sup>2</sup>. Найважливішими залізничними магістралями є: Київ-Львів-Прага (Будапешт), Варшава-Перемишль-Львів-Бухарест. Найбільшим залізничним вузлом є Львів. За останні десятиліття обсяги транспортних перевезень знизилися. Так, вантажооборот упав із 6,2 млн т у 2000 р. до 3,5 млн т у 2014; а на перевезенні пасажирів це позначилося значно менше: у 2000 р. – 32,4 млн пасажирів, у 2014 – 30 млн [19]. Незважаючи на такі тенденції, залізничний транспорт і досі є одним із найважливіших чинників, який, окрім позитиву, має й такі негативні наслідки як руйнування природних ландшафтів, фрагментацію біотопів, забруднення середовища, що призвело до зникнення певних видів аборигенної флори. Залізничне сполучення сприяє також активним міграціям адвентивних видів рослин, у тому числі й інвазійних видів. Окрім того, залізничні насипи є техногенними екоотопами (забруднені нафтопродуктами, важкими металами, продуктами видування й опадання сипучих вантажів: вугілля, руди, цементу тощо), і саме на них формується своєрідний рослинний комплекс [26, 29–31].

Метою дослідження було виявити видовий склад рослин на залізничних коліях на території м. Львова, вивчити характер розподілу видів у різних типах екоотопів залізниці, а також з'ясувати особливості систематичної та фракційної структур флори.

### **Матеріали та методи**

Дослідження рослин залізничних колій проводили традиційним маршрутним методом упродовж вегетаційного періоду 2015–2016 років два-три рази за сезон. На території

залізниці м. Львова було обстежено 30 випадково обраних трансект довжиною 300 м кожна, як на активно діючих, так і неінтенсивного використання, а також закинутих за останні десятиліття. Було обстежено три типи екоотопів: саме залізничне полотно, де рослини росли між шпалами, біля рейок тощо, трав'янисті схили і кам'янисті насипи, канава, стежки та смуги обабіч залізниць. У роботі використано матеріали власних польових досліджень і дані літературних джерел [20]. Збір і визначення матеріалу проводили за загальноприйнятими методиками, виділення синантропної фракції бріофлори – за М. Бойком [1–3]. Аналіз адвентивної фракції фітобіоти проводили за класифікацією Я. Корнася з уточненням В. Протопопової та Я. Дідуха [8, 17, 27]. Латинські назви таксонів наведені за М. Бойком, С. Мосякіним, М. Федорончуком [4, 28].

### Результати і їхнє обговорення

Флору залізниць досліджували багато вчених, в Україні це М. Котов (1927), С. Мосякін (1995), Р. Бурда, В. Тохтар (1992, 1993), М. Шевера (1996), В. Дрель (1999), Т. Сова, С. Мосякін (2002), І. Устинов та ін. (2004), Г. Верзилов, Е. Кононенко (2005), В. Ніколайчук та ін. (2009), Т. Пушкарьова (2010), К. Звягінцева (2013) [5, 7, 10, 13, 16, 18, 21, 22–25] та ін. Повне дослідження видового складу вищих рослин і особливостей фракційної та екологічної структур флори залізничних колій Львова проведено вперше.

Загалом, у складі флори залізниці м. Львова ми виявили 409 видів рослин із шести відділів: 41 вид мохоподібних і 368 видів судинних рослин (табл. 1).

Таблиця 1

Кількість родин, родів і видів у відділах рослин на території залізниці м. Львова

Відділ	Кількість родин	Кількість родів	Кількість видів
Marchantiophyta	1	1	1
Bryophyta	14	30	40
Equisetophyta	1	1	4
Polypodiophyta	1	1	1
Pinophyta	1	2	2
Magnoliophyta	68	240	361
Разом:	86	275	409

Характерною рисою спектра провідних родин мохоподібних залізниць м. Львова є незначна участь печіночних мохів, високий відсоток видів родин *Brachytheciaceae* (19,5 %) і *Pottiaceae* (9,8 %), а також вищий, порівняно з природною бріофлорою, родини *Mniaceae* (12,2 %) [6, 14, 15]. Для флори судинних рослин характерне переважання представників родин *Asteraceae* (16,6 %), *Poaceae* (11,1 %) і *Fabaceae* (8,7 %), що є типовим для флори міста [9, 11, 12, 15]. Значна частка видів належить до родин *Brassicaceae* (6,3 %), *Onagraceae* (2,4 %) та *Scrophulariaceae* (2,2 %) (табл. 2). Спектр провідних родин мохоподібних охоплює 33 види (80,5 % від загальної кількості видів), а судинних рослин – 232 види (63 %) (рис. 1).

У родовому спектрі бріофітів перше місце за кількістю видів належить родам *Brachythecium* (12,2 %), *Orthotrichum* (7,3 %), *Plagiomnium* (7,3 %). Серед судинних рослин найчисленнішими родами є *Trifolium* і *Vicia* (по 2,2 %), *Bromus*, *Epilobium* (по 1,6 %) та *Equisetum*, *Poa*, *Artemisia*, *Geranium*, *Rumex* (по 1,3 %) (табл. 3).

Мохоподібні селяться найчастіше у смугах (68,3 %), які прилягають до залізниць, причому на різноманітних субстратах: найбільше епігейних, але трапляються епілітні, зрідка епіфітні й епіксільні види. Значна частина росте на насипах і в канавах (56,1 %). На залізничному полотні діючих залізниць знайдено 9,8 % видів мохоподібних, а на закинутих залізницях – 7,3 %. Переважна більшість судинних рослин росте у смугах (78,8 %), на насипах і в канавах (53,5 %) і трохи менше – на залізничному полотні (44,9 %). У всіх типах екоотопів трапляються 18 % судинних рослин.



Таблиця 2

## Спектр провідних родів і родин флори на території залізниці м. Львова

Родина	Кількість родів	%	Кількість видів	%
<b>Bryophyta</b>				
Brachytheciaceae Schimp.	3	9,7	8	19,5
Mniaceae Schwägr.	3	9,7	5	12,2
Pottiaceae Schimp.	4	12,9	4	9,8
Amblystegiaceae Kindb.	3	9,7	4	9,8
Grimmiaceae Arn.	2	6,5	3	7,3
Bryaceae Schwägr.	2	6,5	3	7,3
Orthotrichaceae Arn.	1	3,2	3	7,3
Hypnaceae Schimp.	3	9,7	3	7,3
<b>Magnoliophyta</b>				
Asteraceae Bercht. & J.Presl	39	16	61	16,6
Poaceae Barnhart	27	11,1	41	11,1
Fabaceae Lindl.	13	5,3	32	8,7
Brassicaceae Burnett	17	7	23	6,3
Rosaceae Juss.	13	5,3	21	5,7
Lamiaceae Martynov	10	4	13	3,5
Polygonaceae Juss.	5	2	13	3,5
Caryophyllaceae Juss.	10	4,1	11	3
Onagraceae Juss.	3	1,2	9	2,4
Scrophulariaceae Juss.	5	2	8	2,2

Таблиця 3

## Видовий склад бріофітів і судинних рослин у різних екотопах залізниці м. Львова

Вид	Екотопи <sup>1</sup>	Трапляння <sup>2</sup>	Вид	Екотопи <sup>1</sup>	Трапляння <sup>2</sup>
1	2	3	4	5	6
Marchantiophyta					
<i>Marchantia polymorpha</i> L.	НК, См	2			
Bryophyta					
<i>Encalypta streptocarpa</i> Hedw.	См	1	<i>Orthotrichum diaphanum</i> Schrad. ex Brid.	НК	1
<i>Funaria hygrometrica</i> Hedw.	См	2	<i>Orthotrichum pumilum</i> Sw.	См	1
<i>Grimmia pulvinata</i> (Hedw.) Sm.	НК	1	<i>Amblystegium juratzkanum</i> Schimp.	НК	1
<i>Schistidium apocarpum</i> (Hedw.) Bruch et Schimp.	НК	1	<i>Amblystegium serpens</i> (Hedw.) Schimp.	НК, См	3
<i>Schistidium crassipilum</i> Blom	НК, См	2	<i>Drepanocladus polygamus</i> (Schimp.) Hedenäs	См	1
<i>Fissidens taxifolius</i> Hedw.	См	1	<i>Hygroamblystegium varium</i> (Hedw.) Mönk.	См	1
<i>Ceratodon purpureus</i> (Hedw.) Brid.	ЗП, НК, См	3	<i>Leskea polycarpa</i> Hedw.	См	2
<i>Barbula unguiculata</i> Hedw.	НК, См	3	<i>Brachytheciastrum velutinum</i> (Hedw.) Ignatov et Huttunen	См	1
<i>Didymodon acutus</i> (Brid.) Saito	НК	1	<i>Brachythecium albicans</i> (Hedw.) Schimp.	НК	2
<i>Syntrichia ruralis</i> (Hedw.) Web. et Mohr	ЗП, НК	3	<i>Brachythecium campestre</i> (H.Müll.) Schimp.	НК, См	1
<i>Tortula muralis</i> Hedw.	НК	2	<i>Brachythecium glareosum</i> (Bruch ex Spruce) Schimp.	ЗП*, НК, См	2
<i>Bryum argenteum</i> Hedw.	ЗП, НК	3	<i>Brachythecium rutabulum</i> (Hedw.) Schimp.	НК, См	3

## Продовження табл. 3

1	2	3	4	5	6
<i>Bryum caespiticium</i> Hedw.	3П, HK, 3 См		<i>Brachythecium salebrosum</i> (Hoffm. ex Web. et Mohr) Schimp.	3П*, См	2
<i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> (Hedw.) J.R. Spence et H.P. Ramsay	3П*	1	<i>Oxyrrhynchium hians</i> (Hedw.) Loeske	HK, См	2
<i>Plagiomnium ellipticum</i> (Brid.) T. Kop.	HK	1	<i>Sciuro-hypnum reflexum</i> (Starke) Ignatov et Huttunen	См	1
<i>Plagiomnium rostratum</i> (Schrad.) T. Kop.	HK	2	<i>Calliergonella cuspidata</i> (Hedw.) Loeske	HK, См	1
<i>Plagiomnium undulatum</i> (Hedw.) T. Kop.	См	1	<i>Hypnum fertile</i> Sendt.	См	1
<i>Pohlia melanodon</i> (Brid.) J. Shaw	См	1	<i>Pylaisia polyantha</i> (Hedw.) Schimp.	См	1
<i>Rhizomnium punctatum</i> (Hedw.) T. Kop.	См	1	<i>Ctenidium molluscum</i> (Hedw.) Mitt.	См	1
<i>Orthotrichum anomalum</i> Hedw.	HK	2	<i>Pleurozium schreberi</i> (Willd. ex Brid.) Mitt.	См	1
Equisetophyta					
<i>Equisetum arvense</i> L.	3П, HK, 2 См		<i>Equisetum pratense</i> Ehrh.	3П, HK, См	1
<i>Equisetum hyemale</i> L.	HK, См	1	<i>Equisetum sylvaticum</i> L.	HK, См	2
<i>Equisetum palustre</i> L.	HK, См	2	Polypodiophyta		
<i>Dryopteris filix-mas</i> (L.) Schott	HK, См	1	Pinophyta		
<i>Thuja occidentalis</i> L.	См	2	<i>Pinus sylvestris</i> L.	HK	1
<i>Larix decidua</i> Mill.	HK, См	1	Magnoliophyta		
Liliopsida					
<i>Alisma plantago-aquatica</i> L.	См	1	<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.	3П, См	2
<i>Asparagus officinalis</i> L.	HK, См	1	<i>Echinochloa crusgalli</i> (L.) P. Beauv.	3П, См	2
<i>Convallaria majalis</i> L.	HK	1	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	HK, См	2
<i>Maianthemum bifolium</i> (L.) F.W.Schmidt	HK, См	1	<i>Eragrostis minor</i> Host	3П, См	2
<i>Carex hirta</i> L.	3П, HK, 3 См		<i>Eragrostis pilosa</i> (L.) P. Beauv.	HK, См	2
<i>Scirpus sylvaticus</i> L.	HK	2	<i>Festuca ovina</i> L.	См	1
<i>Juncus tenuis</i> Willd.	3П	2	<i>Festuca trachyphylla</i> (Hack.) Krajina	3П, См	1
<i>Lemna minor</i> L.	HK	1	<i>Festuca rubra</i> L.	3П, См	2
<i>Agrostis capillaris</i> L.	3П, См	2	<i>Glyceria maxima</i> (C. Hartm.) Holmb.	3П, См	2
<i>Agrostis stolonifera</i> L.	3П, См	2	<i>Holcus lanatus</i> L.	3П, См	1
<i>Alopecurus pratensis</i> L.	HK, См	2	<i>Hordeum murinum</i> L.	3П, См	2
<i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	3П, См	2	<i>Lolium perenne</i> L.	3П, HK, См	2
<i>Apera spica-venti</i> (L.) P. Beauv.	3П, См	2	<i>Phleum pratense</i> L.	HK, См	1
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) J. Presl. et C. Presl.	3П, HK, 2 См		<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	HK, См	2
<i>Briza media</i> L.	3П, См	3	<i>Poa angustifolia</i> L.	3П, См	2
<i>Bromopsis inermis</i> (Leyss.) Holub	HK, См	3	<i>Poa annua</i> L.	3П, См	3
<i>Bromus carinatus</i> Hook. & Arn.	См	2	<i>Poa compressa</i> L.	3П	2
<i>Bromus hordeaceus</i> L.	HK, См	2	<i>Poa palustris</i> L.	3П	2
<i>Bromus japonicus</i> Thunb.	3П	2	<i>Poa pratensis</i> L.	3П, HK, См	2
<i>Bromus squarrosus</i> L.	3П	2	<i>Puccinellia distans</i> (Jacq.) Parl.	3П	2
<i>Bromus sterilis</i> L.	3П	2	<i>Setaria glauca</i> (L.) P. Beauv.	3П, См	2
<i>Bromus tectorum</i> L.	3П	2	<i>Setaria viridis</i> (L.) P. Beauv.	3П, См	3
<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	HK	3	<i>Vulpia myuros</i> (L.) C.C. Gmel.	См	1
<i>Corynephorus canescens</i> (L.) P. Beauv.	HK, См	2	<i>Sparganium erectum</i> L.	См	1

1	2	3	4	5	6
<i>Dactylis glomerata</i> L.	3П, HK, 2		<i>Typha latifolia</i> L.	СМ	1
	СМ				
<i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) P. Beauv.	HK, СМ 2				
		Magnoliopsida			
<i>Acer negundo</i> L.	3П, HK, 2		<i>Amorpha fruticosa</i> L.	СМ	1
	СМ				
<i>Acer platanoides</i> L.	3П, СМ 1		<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.	HK, СМ	2
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	СМ 1		<i>Genista tinctoria</i> L.	СМ	1
<i>Acer saccharinum</i> L.	СМ 1		<i>Lathyrus sylvestris</i> L.	3П, HK, 2	
				СМ	
<i>Amaranthus albus</i> L.	3П, СМ 2		<i>Lathyrus tuberosus</i> L.	HK, СМ	1
<i>Amaranthus blitoides</i> S. Wats.	3П 2		<i>Lotus corniculatus</i> L.	3П, HK, 2	
				СМ	
<i>Amaranthus blitum</i> L.	СМ 2		<i>Lupinus polyphyllus</i> Lindl.	HK, СМ	1
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	СМ 2		<i>Medicago falcata</i> L.	HK, СМ	2
<i>Rhus typhina</i> L.	СМ 1		<i>Medicago lupulina</i> L.	3П, HK, 1	
				СМ	
<i>Aegopodium podagraria</i> L.	3П, HK, 3		<i>Medicago sativa</i> L.	HK, СМ	2
	СМ				
<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm.	СМ 2		<i>Medicago x varia</i> T. Martyn	HK, СМ	1
<i>Daucus carota</i> L.	СМ 2		<i>Melilotus albus</i> Medik	HK, СМ	2
<i>Heracleum sosnowskyi</i> Manden.	HK, СМ 1		<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pall.	HK, СМ	2
<i>Pastinaca sativa</i> L.	3П, HK, 3		<i>Ononis arvensis</i> L.	HK	2
	СМ				
<i>Pimpinella saxifraga</i> L.	3П, HK, 2		<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	HK, СМ	1
	СМ				
<i>Torilis japonica</i> (Houtt.) DC.	3П, HK, 2		<i>Securigera varia</i> (L.) Lassen	3П, HK, 2	
	СМ			СМ	
<i>Vinca minor</i> L.	HK 2		<i>Trifolium arvense</i> L.	3П, HK, 3	
				СМ	
<i>Hedera helix</i> L.	СМ 2		<i>Trifolium campestre</i> Schreb.	3П, СМ	2
<i>Asarum europaeum</i> L.	СМ 2		<i>Trifolium dubium</i> Sibth.	3П, СМ	2
<i>Achillea millefolium</i> L.	3П, HK, 3		<i>Trifolium fragiferum</i> L.	3П	2
	СМ				
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	3П 2		<i>Trifolium hybridum</i> L.	3П, СМ	2
<i>Anthemis arvensis</i> L.	3П 2		<i>Trifolium medium</i> L.	HK, СМ	2
<i>Arctium lappa</i> L.	HK, СМ 2		<i>Trifolium pratense</i> L.	3П, HK, 3	
				СМ	
<i>Arctium tomentosum</i> Mill.	СМ 2		<i>Trifolium repens</i> L.	3П, HK, 3	
				СМ	
<i>Artemisia absinthium</i> L.	СМ 3		<i>Vicia angustifolia</i> Reichard	3П, HK, 1	
				СМ	
<i>Artemisia annua</i> L.	СМ 2		<i>Vicia cracca</i> L.	3П, HK, 3	
				СМ	
<i>Artemisia campestris</i> L.	3П 2		<i>Vicia hirsuta</i> (L.) S.F. Gray	3П, HK, 2	
				СМ	
<i>Artemisia verlotiorum</i> Lamotte	3П 1		<i>Vicia lathyroides</i> L.	СМ	2
<i>Artemisia vulgaris</i> L.	HK, СМ 3		<i>Vicia sepium</i> L.	СМ	2
<i>Aster novi-belgii</i> L.	HK 1		<i>Vicia tenuifolia</i> Roth	СМ	1
<i>Aster x salignus</i> Willd.	HK 2		<i>Vicia tetrasperma</i> (L.) Schreb.	СМ	1
<i>Bellis perennis</i> L.	HK, СМ 1		<i>Vicia villosa</i> Roth	HK, СМ	2
<i>Bidens tripartita</i> L.	HK, СМ 2		<i>Quercus petraea</i> Liebl.	HK	1
<i>Calendula officinalis</i> L.	HK, СМ 1		<i>Quercus robur</i> L.	HK, СМ	1
<i>Carduus acantoides</i> L.	СМ 1		<i>Quercus rubra</i> L.	HK	1
<i>Carduus crispus</i> L.	СМ 2		<i>Fagus sylvatica</i> L.	СМ	1
<i>Centaurea cyanus</i> L.	СМ 2		<i>Fumaria officinalis</i> L.	3П, СМ	2
<i>Centaurea diffusa</i> Lam.	3П 1		<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Her.	СМ	1

Продовження табл. 3

1	2	3	4	5	6
<i>Centaurea jacea</i> L.	СМ	2	<i>Geranium dissectum</i> L.	ЗП	1
<i>Matricaria recutita</i> L.	ЗП, СМ	2	<i>Geranium pratense</i> L.	ЗП, НК,	2
				СМ	
<i>Lepidotheca suaveolens</i> (Pursh) Nutt	СМ	2	<i>Geranium pusillum</i> L.	ЗП, СМ	2
<i>Cichorium intybus</i> L.	ЗП, НК,	2	<i>Geranium robertianum</i> L.	ЗП, СМ	2
	СМ				
<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	ЗП, НК,	3	<i>Geranium sibiricum</i> L.	ЗП, СМ	3
	СМ				
<i>Cirsium oleraceum</i> (L.) Scop.*	СМ	2	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	СМ	1
<i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	СМ	2	<i>Juglans regia</i> L.	НК	1
<i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	ЗП	1	<i>Ballota nigra</i> L.	НК, СМ	3
<i>Crepis biennis</i> L.	ЗП, СМ	2	<i>Galeobdolon luteum</i> Huds.	СМ	1
<i>Crepis capillaris</i> (L.) Wallr.	НК, СМ	1	<i>Galeopsis ladanum</i> L.	ЗП	1
<i>Erigeron acris</i> L.	НК, СМ	2	<i>Galeopsis tetrahit</i> L.	ЗП	1
<i>Erigeron annuus</i> (L.) Pers.	ЗП, НК,	2	<i>Glechoma hederacea</i> L.	НК, СМ	2
	СМ				
<i>Erigeron canadensis</i> L.	ЗП, СМ	3	<i>Lamium album</i> L.	ЗП, НК,	3
				СМ	
<i>Galinsoga urticifolia</i> (Kunth) Benth	ЗП, СМ	2	<i>Lamium amplexicaule</i> L.	НК, СМ	2
<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.	ЗП, СМ	2	<i>Lamium purpureum</i> L.	ЗП, НК,	3
				СМ	
<i>Gnaphalium uliginosum</i> L.	СМ	1	<i>Leonurus cardiaca</i> L.	НК, СМ	1
<i>Helianthus tuberosus</i> L.	НК, СМ	2	<i>Lycopus europaeus</i> L.	НК	1
<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench	ЗП, СМ	2	<i>Mentha longifolia</i> (L.) Huds.	НК, СМ	2
<i>Hieracium pilosella</i> L.	ЗП, НК,	2	<i>Origanum vulgare</i> L.	НК, СМ	2
	СМ				
<i>Iva xanthiifolia</i> Nutt.	НК, СМ	2	<i>Prunella vulgaris</i> L.	НК, СМ	2
<i>Lactuca serriola</i> L.	НК, СМ	2	<i>Viscum album</i> L.	НК	2
<i>Lapsana communis</i> L.	ЗП, СМ	2	<i>Lythrum salicaria</i> L.	НК	1
<i>Leontodon autumnalis</i> L.	ЗП, СМ	2	<i>Malva neglecta</i> Wallr.	НК, СМ	1
<i>Leucanthemum vulgare</i> Lam.	НК, СМ	1	<i>Malva sylvestris</i> L.	ЗП, НК,	1
				СМ	
<i>Onopordum acanthium</i> L.	НК	1	<i>Fraxinus excelsior</i> L.	НК, СМ	1
<i>Picris hieracioides</i> L.	ЗП, СМ	2	<i>Fraxinus pennsylvanica</i> Marshall	СМ	1
<i>Rudbeckia hirta</i> L.	СМ	1	<i>Ligustrum vulgare</i> L.	НК	1
<i>Senecio jacobaea</i> L.	ЗП, СМ	1	<i>Syringa vulgaris</i> L.	СМ	1
<i>Senecio viscosus</i> L.	ЗП	2	<i>Chamerion angustifolium</i> (L.) Holub	НК	2
<i>Senecio vernalis</i> Waldst. et Kit.	ЗП	1	<i>Epilobium ciliatum</i> Raf.	НК	1
<i>Senecio vulgaris</i> L.	ЗП	2	<i>Epilobium hirsutum</i> L.	НК	1
<i>Solidago serotinoidea</i> A.Löve & D.Löve	НК, СМ	2	<i>Epilobium montanum</i> L.	НК	1
<i>Solidago canadensis</i> L.	НК, СМ	1	<i>Epilobium palustre</i> L.	СМ	1
<i>Sonchus arvensis</i> L.	ЗП, НК,	1	<i>Epilobium parviflorum</i> Schreb.	НК, СМ	1
	СМ				
<i>Sonchus asper</i> (L.) Hill.	ЗП, СМ	1	<i>Epilobium tetragonum</i> L.	НК, СМ	1
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	НК	1	<i>Oenothera biennis</i> L.	ЗП, СМ	2
<i>Tagetes erecta</i> L.	НК, СМ	1	<i>Oenothera rubricaulis</i> Kleb.	ЗП, СМ	2
<i>Tanacetum vulgare</i> L.	ЗП, НК,	3	<i>Oxalis acetosella</i> L.	СМ	1
	СМ				
<i>Taraxacum officinale</i> Wigg. aggr.	ЗП, НК,	2	<i>Xanthoxalis stricta</i> (L.) Small	СМ	1
	СМ				
<i>Tragopogon dubius</i> Scop.	ЗП	1	<i>Chelidonium majus</i> L.	НК, СМ	3
<i>Tragopogon pratensis</i> L.	ЗП	1	<i>Papaver rhoeas</i> L.	ЗП, СМ	1
<i>Tussilago farfara</i> L.	ЗП, НК,	3	<i>Plantago lanceolata</i> L.	ЗП, НК,	2
	СМ			СМ	
<i>Impatiens parviflora</i> DC.	ЗП, СМ	3	<i>Plantago major</i> L.	ЗП, НК,	2
				СМ	

1	2	3	4	5	6
<i>Berberis vulgaris</i> L.	HK	2	<i>Plantago media</i> L.	HK, CM	2
<i>Betula pendula</i> Roth	HK	2	<i>Fallopia convolvulus</i> (L.) A.Löve	3П, CM	2
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaerth.	CM	1	<i>Fallopia dumetorum</i> (L.) Holub	3П	2
<i>Anchusa officinalis</i> L.	3П, HK,	1	<i>Persicaria lapatifolia</i> (L.) Delarbre	CM	1
	CM				
<i>Cynoglossum officinale</i> L.	HK, CM	1	<i>Polygonum amphibium</i> L.	3П, CM	2
<i>Echium vulgare</i> L.	3П, HK,	2	<i>Polygonum aviculare</i> L.	3П, HK,	3
	CM			CM	
<i>Lycopsis arvensis</i> L.	CM	1	<i>Polygonum hydropiper</i> L.	3П, HK,	2
				CM	
<i>Myosotis arvensis</i> (L.) Hill	3П, HK,	2	<i>Polygonum mite</i> Schrank.	CM	1
	CM				
<i>Pulmonaria mollis</i> Wulf. ex Hornem.	CM	1	<i>Reynoutria japonica</i> Houtt.	HK, CM	1
<i>Symphytum officinale</i> L.	HK	1	<i>Rumex acetosa</i> L.	3П, HK,	3
				CM	
<i>Armoracia rusticana</i> P.Gaertn., B.Mey. & Scherb.	HK	1	<i>Rumex acetosella</i> L.	3П, HK,	2
<i>Barbarea stricta</i> Andrz.	CM	1	<i>Rumex confertus</i> Willd.	CM	2
<i>Berteroa incana</i> (L.) DC.	3П, HK,	2	<i>Rumex crispus</i> L.	3П, CM	1
	CM				
<i>Brassica napus</i> L.	3П, HK,	1	<i>Rumex obtusifolius</i> L.	CM	1
	CM				
<i>Brassica oleracea</i> L.	3П, HK,	1	<i>Portulaca oleracea</i> L.	3П	2
	CM				
<i>Bunias orientalis</i> L.	HK, CM	2	<i>Anagallis arvensis</i> L.	HK, CM	2
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	3П, CM	2	<i>Lysimachia nummularia</i> L.	HK	2
<i>Cardaria draba</i> (L.) Desv.	HK, CM	2	<i>Lysimachia vulgaris</i> L.	CM	2
<i>Descurania sophia</i> (L.) Webb ex Prantl	3П, CM	1	<i>Primula elatior</i> (L.) Hill	CM	2
<i>Diploxys muralis</i> (L.) DC.	3П, CM	2	<i>Clematis vitalba</i> L.	HK	2
<i>Diploxys tenuifolia</i> (L.) DC.	3П, CM	2	<i>Consolida regalis</i> S.F.Gray	3П	2
<i>Erysimum cheiranthoides</i> L.	CM	1	<i>Ranunculus acris</i> L.	3П, HK,	2
				CM	
<i>Lepidium densiflorum</i> Schrad.	3П	1	<i>Ranunculus repens</i> L.	3П, HK,	2
				CM	
<i>Lepidium latifolium</i> L.	CM	2	<i>Reseda lutea</i> L.	3П, CM	2
<i>Lepidium ruderale</i> L.	3П, CM	2	<i>Rhamnus cathartica</i> L.	HK, CM	2
<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	CM	1	<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	HK, CM	2
<i>Rapistrum perenne</i> (L.) ALL.	3П	1	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	HK, CM	1
<i>Rorippa austriaca</i> (Crantz) Besser	3П	1	<i>Fragaria vesca</i> L.	HK, CM	2
<i>Sinapis arvensis</i> L.	3П, HK,	1	<i>Fragaria viridis</i> Duch.	HK, CM	3
	CM				
<i>Sisymbrium loeselii</i> L.	3П, HK,	2	<i>Geum urbanum</i> L.	HK, CM	1
	CM				
<i>Sisymbrium officinale</i> (L.) Scop.	3П, CM	1	<i>Malus domestica</i> Borkh.	CM	1
<i>Sisymbrium volgense</i> M. Bieb. ex Fourn.	3П, CM	1	<i>Padus avium</i> Mill.	HK	1
<i>Thlaspi arvense</i> L.	3П, CM	1	<i>Potentilla anserina</i> L.	3П, CM	2
<i>Humulus lupulus</i> L.	HK, CM	2	<i>Potentilla argentea</i> L.	3П, HK,	2
				CM	
<i>Sambucus nigra</i> L.	HK, CM	2	<i>Potentilla reptans</i> L.	3П	1
<i>Symphoricarpos albus</i> (L.) S. F. Blake	HK	1	<i>Prunus avium</i> (L.) L.	HK	1
<i>Viburnum opulus</i> L.	HK	1	<i>Prunus divaricata</i> Ledeb	HK	1
<i>Arenaria serpyllifolia</i> L.	3П, CM	2	<i>Prunus domestica</i> L.	HK	1
<i>Cerastium holosteoides</i> Fr.	HK, CM	2	<i>Prunus spinosa</i> L.	HK	2
<i>Herniaria glabra</i> L.	3П	2	<i>Pyrus communis</i> L.	HK	1

1	2	3	4	5	6
<i>Lychnis flos-cuculi</i> L.	HK, CM	2	<i>Rosa canina</i> L.	HK, CM	1
<i>Myosoton aquaticum</i> (L.) Moench	HK	2	<i>Rosa rugosa</i> Thunb.	HK, CM	2
<i>Melandrium album</i> (MilL.) Garcke	3П, HK,	2	<i>Rubus caesius</i> L.	3П, HK,	2
	CM			CM	
<i>Sagina nodosa</i> (L.) Fenzl	3П	2	<i>Rubus idaeus</i> L.	3П, HK,	2
				CM	
<i>Sagina procumbens</i> L.	3П	2	<i>Sanguisorba minor</i> Scop. s.str.	3П	2
<i>Saponaria officinalis</i> L.	HK, CM	2	<i>Sorbus aucuparia</i> L.	HK, CM	1
<i>Silene vulgaris</i> (Moench) Garcke	3П, HK,	2	<i>Galium aparine</i> L.	3П, HK,	3
	CM			CM	
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	HK, CM	2	<i>Galium mollugo</i> L.	HK, CM	2
<i>Euonymus europaea</i> L.	CM	1	<i>Galium verum</i> L.	HK, CM	2
<i>Euonymus verrucosa</i> Scop.	CM	1	<i>Populus tremula</i> L.	HK, CM	1
<i>Atriplex patula</i> L.	CM	2	<i>Salix babylonica</i> L.	CM	1
<i>Chenopodium album</i> L.	HK, CM	2	<i>Salix caprea</i> L.	HK	1
<i>Chenopodium strictum</i> Roth	CM	2	<i>Salix cinerea</i> L.	HK	1
<i>Kochia scoparia</i> (L.) Schrad.	3П	2	<i>Salix pentandra</i> L.	CM	1
<i>Hypericum perforatum</i> L.	3П, HK,	2	<i>Dodartia orientalis</i> L.*	HK, CM	2
	CM				
<i>Calystegia sepium</i> (L.) R. Br.	3П, HK,	1	<i>Linaria vulgaris</i> Mill.	3П, HK,	2
	CM			CM	
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	3П, HK,	2	<i>Odontites vulgaris</i> Moench	HK, CM	2
	CM				
<i>Ipomoea purpurea</i> (L.) Roth	CM	1	<i>Verbascum nigrum</i> L.	3П, CM	1
<i>Cornus sanguinea</i> L.	CM	1	<i>Verbascum phlomoides</i> L.	3П, HK,	1
				CM	
<i>Carpinus betulus</i> L.	CM	1	<i>Veronica beccabunga</i> L.	HK, CM	2
<i>Corylus avellana</i> L.	CM	1	<i>Veronica chamaedrys</i> L.	3П, HK,	2
				CM	
<i>Sedum acre</i> L.	3П	2	<i>Veronica verna</i> L.	3П, CM	2
<i>Sedum rupestre</i> L.	3П, CM	1	<i>Lycium barbarum</i> L.	HK	2
<i>Cucurbita pepo</i> L.	3П, CM	1	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	CM	1
<i>Echinocystis lobata</i> (Michx.) Torr. et Gray	HK, CM	2	<i>Solanum nigrum</i> L.	3П	1
<i>Thladiantha dubia</i> Bunge	HK, CM	2	<i>Solanum dulcamara</i> L.	CM	1
<i>Cuscuta europaea</i> L.	CM	1	<i>Solanum tuberosum</i> L.	CM	1
<i>Dipsacus sylvestris</i> Huds.	CM	1	<i>Tilia cordata</i> Mill.	HK	1
<i>Knautia arvensis</i> (L.) Coult.	HK, CM	1	<i>Ulmus laevis</i> Pall.	HK, CM	2
<i>Scabiosa ochroleuca</i> L.	HK, CM	1	<i>Urtica dioica</i> L.	3П, HK,	3
				CM	
<i>Euphorbia cyparissias</i> L.	3П, HK,	2	<i>Urtica urens</i> L.	CM	1
	CM				
<i>Euphorbia esula</i> L.	3П, HK,	1	<i>Viola arvensis</i> Murray	3П, CM	3
	CM				
<i>Euphorbia helioscopia</i> L.	3П	1	<i>Parthenocissus inserta</i> (A. Kern.) Fritsch	3П, HK,	2
				CM	

**Примітки:** <sup>1</sup>Екотопи: 3П – залізничне полотно (3П\* – недіюча ділянка колії); НК – насипи, канали, CM – смуги. <sup>2</sup>Трапляння: 1 – поодинокі, 2 – спорадично, 3 – часто. \* – відомий із літературних джерел [20]

Флора мохоподібних і судинних рослин охоплює 250 видів-апофітів (38 видів мохоподібних і 212 судинних рослин). Серед мохоподібних знайдено індигонофіти (7,3 %) і апофіти (92,7 %), серед яких евантапофіти (47,4 %) і геміапофіти (52,6 %). Флора судинних рослин залізниці представлена трьома фракціями: природною (індигонофіти – 5,2 %), апофітною (57,6 %) й адвентивною (37,2 %), в якій – кенофіти (57,7 %) й археофіти (42,3 %) (рис. 1).

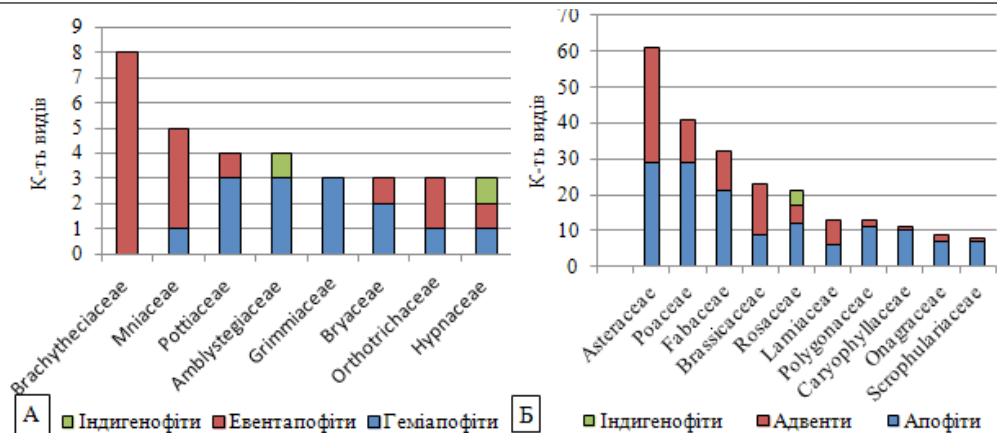


Рис. 1. Розподіл видів провідних родин мохоподібних (А) і судинних (Б) рослин за фракціями флори на території залізниці м. Львова

Мохоподібних-евентапофітів знайдено найбільше у смугах (52 %), значно менше на насипах і в канавах (37 %), а на залізничному полотні – лише на недіючих ділянках колії (11 %). Мохи-геміапофіти трапляються у всіх типах екотопів, переважають на насипах і в канавах (46,4 %), смугах (39,3 %), а також ростуть на залізничному полотні, біля рейок між шпалами тощо (14,3 %) (рис. 2).

Більшість адвентивних видів рослин поширені у смугах (74,5 %) та на залізничному полотні (47,4 %). Трохи менша кількість видів антропогенного походження росте на насипах і в канавах (40,1 %). Також серед них були зафіксовані види, поширені у всіх типах екотопів (11,7 % від усіх адвентів). Для апофітів найсприятливішими умовами для росту є прилеглі смуги (76,4 %) та насипи і канали (59,3 %). Найменше видів природного походження поширені на залізничному полотні (44 %). Серед апофітів також трапляються види, поширені у всіх типах екотопів (23,6 %). Індигенофіти зазвичай ростуть у смугах (78,9 %), на територіях насипів і канав (57,9 %), проте один із них виявлений на діючому залізничному полотні.

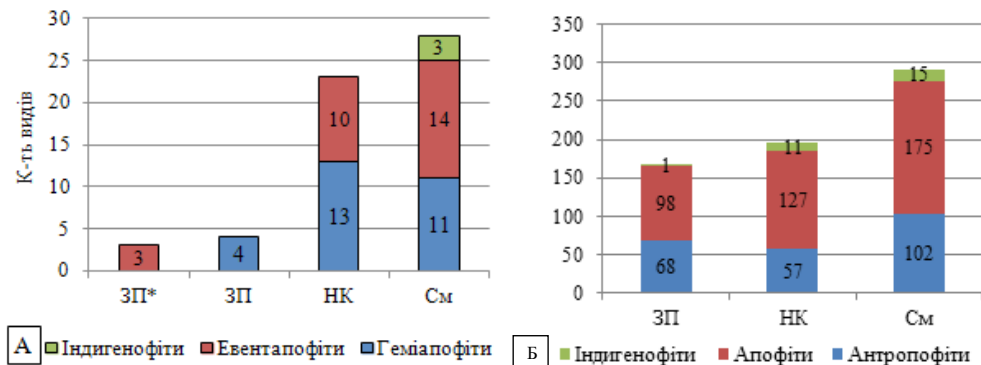


Рис. 2. Розподіл видів мохоподібних (А) і судинних (Б) рослин за екотопами на території залізниці м. Львова: ЗП – залізничне полотно (ЗП\* – недіюча ділянка колії), НК – насипи і канали, См – смуги

На території залізниць ми виділили групу рослин, проникнення та поширення яких є небезпечним для природних екосистем і людини [23–25]: *Erigeron annuus*, *E. canadensis*,

*Robinia pseudoacacia*, *Acer negundo*, *Solidago canadensis*; *Ambrosia artemisiifolia*, *Cuscuta europaea*, *Heracleum sosnowsky*, *Sisymbrium volgense*, *Amaranthus retroflexus*, *Rhus typhina*. Також ми виокремили для спостереження ті інвазійні види, які особливо інтенсивно поширюються останнім часом: *Geranium sibiricum*, *Amorpha fruticosa*, *Reynoutria japonica*, *Xanthium strumarium*.

Отже, незважаючи на ступінь трансформації антропогенних (у тому числі техногенних) екоотопів залізниці у м. Львові та наявності у флорі значної кількості чужорідних видів рослин, на дослідженій території спостерігається домінування аборигенної фракції флори (як мохоподібних, так і судинних рослин). Співвідношення апофітної до адвентивної фракцій флори судинних рослин становить 1,5:1,0, що дає можливість стверджувати про збереження на території залізниць Львова природних видів рослин, які зазвичай обирають прилеглі смуги і зрідка трапляються на залізничному полотні, насипах і в канавах.

**Подяка.** Висловлюємо подяку *dr hab. Bożena Denisow (Department of Botany University of Life Sciences in Lublin, Poland)* та *dr Małgorzata Wrzesień (Maria Curie-Skłodowska University in Lublin, Poland)* за допомогу у визначенні видів рослин.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бачурина Г. Ф., Мельничук В. М. Флора мохів Української РСР. Андрееві, брієві. Вип. 1. К.: Наук. думка, 1987. 180 с.; Вип. 2. 1988. 180 с.; Вип. 3. 1989. 176 с.
2. Бачурина Г. Ф., Мельничук В. М. Флора мохів України. Вип. 4. К.: Академперіодика, 2003. 255 с.
3. Бойко М. Ф. Синантропна бріофлора України // Чорноморськ. ботан. журнал. 2005. Т. 1. № 2. С. 24–32.
4. Бойко М. Ф. Другий чекліст мохоподібних України // Чорноморськ. ботан. журнал. 2014. Т. 10. № 4. С. 426–487.
5. Верзілов Г. В., Кононенко Е. М. Чим засмічене імпордне зерно. Карантинні бур'яни та схожі до них види // Карантин і захист рослин. 2005. № 9. С. 14–15.
6. Данилків І. С., Лобачевська О. В., Мамчур З. І., Сорока М. І. Мохоподібні українського Розточчя. Львів, 2002. 320 с.
7. Дрель В. Ф. Адвентивна флора залізниць Луганської області (загальний аналіз та проблеми натуралізації): автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.05. К., 1999. 22 с.
8. Екофлора України / відп. ред. Я.П. Дідух. К.: Фітосоціоцентр, 2000. Т. 1. 480 с.; Т. 2. 2004. 480 с.; Т. 3. 2002. 496 с.; Т. 5. 2007. 584 с.
9. Зав'ялова Л. В. Систематична структура урбанofлори Чернігова // Укр. ботан. журнал. 2010. Т. 67. № 1. С. 71–78.
10. Звягінцева К. О. Аналіз флори залізниць міста Харкова // Вісн. Харків. ун-ту. Сер. біол. 2013. Вип. 17. № 1056. С. 44–53.
11. Звягінцева К. А. Природная фракция урбанofлоры Харькова: анализ и аннотированный конспект // Фиторазнообразие Восточной Европы. 2013. Т. 7. № 3. С. 5–28.
12. Звягінцева К. О. Систематична структура урбанofлори Харкова // Укр. ботан. журнал. 2014. Т. 71. № 4. С. 455–459.
13. Котов М. І. Географічне дослідження рослинності на території залізниць України // Пр. с.-г. ботан. 1927. Т. 1. № 2. С. 133–146.
14. Мамчур З. І. Антропогенна трансформація епіфітної бріофлори м. Львова та його околиць // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2003. Вип. 34. С. 135–141.
15. Мамчур З. І., Чуба М. В. Екологічні особливості синантропної флори території центральної цільної забудови міста Львова // Біологічні Студії. 2016. Т. 10. № 1. С. 143–154.



16. Мосякін С. Л. Додаткові відомості про поширення деяких видів роду *Amaranthus* L. (Amaranthaceae) в Україні // Укр. ботан. журнал. 1995. Т. 52. № 3. С. 384–387.
17. Протопопова В. В. Синантропная флора Украины и пути ее развития. К.: Наук. думка, 1991. 202 с.
18. Пушкарьова Т. М. Еколого-фітомеліоративна характеристика синантропних видів трав в урбоекосистемах м. Львова: автореф. дис. ... канд. с.-г. наук: 03.00.16. К., 2010. 24 с.
19. Регіональна доповідь про стан навколишнього природного середовища у Львівській області в 2014 році. Доступно на [www.menr.gov.ua/docs/activity-dopovidi/regionalni/regionalni-dopovidi-u-2014-rotsi/Lvivska\\_2014.pdf](http://www.menr.gov.ua/docs/activity-dopovidi/regionalni/regionalni-dopovidi-u-2014-rotsi/Lvivska_2014.pdf)
20. Сичак Н. М., Кагало О. О. Доповнення до флори Львівської області (рівнинна частина) // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. 2010. Т. 1(8). № 1. С. 173–196. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nozbr\\_2010\\_1\(8\)\\_1\\_12.\\_](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nozbr_2010_1(8)_1_12._)
21. Сова Т. В., Мосякін С. Л. *Vulpia octoflora* (Walt.) Rydb. (Poaceae) – новий адвентивний вид флори України // Укр. ботан. журнал. 2002. Т. 59. № 5. С. 542–546.
22. Тохтар В. К. Флора залізниць південного сходу України: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. К., 1993. 16 с.
23. Устинов І. Д., Устинова А. Ф., Сизовенко Л. Е. Экспансия карантинных сорняков на территории Украины и меры борьбы с ними // Информ. бюл. ВПРС МОББ. 2004. № 34. С. 212–218.
24. Шевера М. В. Тенденція до експансії адвентивних рослин по залізницях у Закарпатті // Укр. ботан. журнал. 1996. Т. 53. № 1–2. С. 136–138.
25. Burda R. I., Tokhtar V. K. Invasion, distribution and naturalization of plants along railroads of the Ukrainian South-East // Укр. ботан. журнал. 1992. Vol. 49. N 5. С. 14–18.
26. Hansen M. J., Clevenger A. P. The influence of disturbance and habitat on the presence of non-native plant species along transport corridors // Biol. Conserv. 2005. 125 (2): 249–259. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2005.03.024>
27. Kornaś J. Geograficzno-historyczna klasyfikacja roślin synantropijnych. Synantropizacja szaty roślinnej // 1. Neofityzm i apofityzm, materiały Sympozjum w Nowogrodzie. Mater. Zakł. Fitosoc. Stos. Warszawa, Białowieża, 1968. № 25. S. 33–41.
28. Mosyakin S. L., Fedoronchuk M. M. Vascular Plants of Ukraine a nomenclatural checklist. К.: М. G. Kholodny Institute Botany, 1999. 345 p.
29. Tikka P. M., Högmander H., Koski P. S. Road and railway verges serve as dispersal corridors for grassland plants // Landsc. Ecol. 2001. 16:659–666. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1013120529382>.
30. Westermann J., von der Lippe M., Kowarik I. Seed traits, landscape and environmental parameters as predictors of species occurrence in fragmented urban railway habitats // Basic Appl. Ecol., 2011; 12: 29–37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.baae.2010.11.006>.
31. Wrzesień M., Denisow B., Mamchur Z., Chuba M., Resler I. Composition and structure of the flora in intra-urban railway areas // Acta Agrobot. 2016. 69 (3): 1666. <http://dx.doi.org/10.5586/aa.1666>

Стаття: надійшла до редакції 31.10.16

доопрацьована 15.03.17

прийнята до друку 17.03.17

---

**MOSSES AND VASCULAR PLANTS  
ON RAILWAY TRACKS IN THE LVIV CITY**

**Z. Mamchur, M. Chuba, Yu. Drach**

*Ivan Franko National University of Lviv*

*4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*

*e-mail: dzvinkamamchur@gmail.com, marichkachuba@gmail.com*

The article presents a list of plants on railway tracks in the Lviv city, which includes 409 species (41 species of mosses and 368 species of vascular plants) which belong to 275 genera and 86 families of six divisions: Marchantiophyta, Bryophyta, Equisetophyta, Polypodiophyta, Pinophyta, Magnoliophyta. The features of systematic and factional flora's structures, character of the distribution of species of vascular plants and mosses in the different ecotypes of railway were analyzed. It is shown that bryophytes-apophytes prevail on the territory of the railway (92.7 %), including eventapophytes (52.6 %) and hemiapophytes (47.4 %). Among vascular plants apophytes also dominate (57.6 %), but adventitious species actively penetrate (37.2 %) (including archeophytes (42.3 %) and kenophytes (57.7 %)). There is a small number of indigeneous species: mosses – 7.3 %, vascular plants – 5.2 %. Plants often choose the territory adjacent to the railroad bands (77.5 %) for their growth, they happen on embankments and ditches (52.5 %), and also on railway line (40.7 %). We found a number of plants that are dangerous to the natural ecosystem, including invasive species, quarantine and hazardous, and also those species that are especially spread intensely over the area recently.

*Keywords:* bryophytes, flora, synanthropization, railway tracks, Lviv city

УДК 579.873.1:577.181.4

## PECULIARITIES OF CODON CONTEXT AND SUBSTITUTION WITHIN STREPTOMYCETE GENOMES

I. Rokytskyy, S. Kulaha, H. Mutenko, M. Rabyk, B. Ostash

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: b.ostash@lnu.edu.ua*

Actinobacteria of genus *Streptomyces* attract great interest of researchers. Their genomes encode cryptic gene clusters for as-yet-unknown antibiotics; heterologous expression of metagenomic libraries in model *Streptomyces* strains allow to discover new classes of compounds. However, it is crucial to understand the rules that govern codon usage in streptomycete genes, if we are to maximize the chances and level of expression of foreign genes in *Streptomyces*. In this study we addressed two questions related to codon usage in streptomycete genomes. First, we explored if there are patterns of dicodon usage in *Streptomyces*. Second, we searched for significant differences in patterns of codon substitution in different families of orthologous genes at different phylogenetic depth and degree of essentiality. To this end, we revealed several codon context rules, which are mainly associated with anomalous frequency of G/C downstream of C-ending codons. We developed a new bioinformatics tool, based on previously described bubble plot approach, allowing matrix-like visualization of codon substitution patterns in the dataset. Using this tool, we show that transcriptional factors of AdpA family carry significant fraction of nonsynonymous substitutions, although changes in its pattern for different actinobacterial orders (and as compared to *Streptomyces*) do not follow simple rules.

*Keywords:* *Streptomyces*, codon context, codon substitution patterns

As of March 2017, there are 290 finished and over 1000 draft *Streptomyces* genomes in GenBank database. This huge body of data is expected to revitalize drug discovery through genome mining for novel gene clusters encoding as-yet-unknown metabolites [7]. One popular approach is to express *Streptomyces* metagenomic libraries in a “universal” host, saving the time spent to develop fermentation and secondary metabolism (SM) activation strategies for different actinobacteria [6]. However, full realization of this approach would require much better knowledge of factors that limit expression of foreign DNA. Most of SM gene clusters are silent (not transcribed). In addition to manipulations of transcriptional control of SM [17], optimization of codon sequences are desirable if one wants to maximize the gene expression at the level of translation [12]. *Streptomyces* genomes are GC-rich (around 70 %), and their codon usage is skewed towards preferential use of GC-rich synonymous codons. This feature, termed codon usage bias (CUB), is in the focus of intense research in model (GC-“neutral”) organisms, such as *E. coli* or yeast [13]. CUB is part of a larger phenomenon of codon usage dependency (CUD) – any nonrandom association of codons in a single sequence (codon context) or in a given position of multiple sequence alignment (codon substitution/ conservation). For *Streptomyces* types, global causes and consequences of CUD are not studied. We can think of CUD within a genome as a “horizontal” axis of codon change [10]. By contrast, evolution of codon sequences (e.g codon changes observed in homologous positions of genes across different species/genera) can be considered a “vertical” axis of imaginary codon space. Evolution of codon sequences has been ex-

plored to some extent, primarily for conserved genes that can be used as phylogenetic markers for actinobacteria [4]. It is desirable to have a tool to visualize codon substitutions for large datasets. Approach was proposed that is graphically based on two-dimensional matrix where different codon substitution frequencies are shown as circles of different color and diameter (the bubble plot) [5]. To the best of our knowledge, no publicly or commercially available tool exists to compute codon-based bubble plots. In this work we took computational biology approach to address two questions related to “horizontal” and “vertical” axes of codon change in *Streptomyces*. First, does usage of certain codon influence the choice of the downstream one? Second, can we detect difference in patterns of codon substitution for large sets of homologous sequences derived from SM and primary metabolism? To this end, we provide evidence for significantly biased associations of certain codons in *Streptomyces*. In-house scripts were written as a first step towards the online program for bubble plot building. As a test case, we used the developed scripts for comparative analysis of several groups of actinobacterial genes. Main findings of this analysis, limitations and potential avenues of future use of bubble plots are discussed.

### Materials and Methods

*Streptomyces* genome sequences were accessed via NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>). Genome and codon sequences were viewed and analyzed with UGENE bioinformatics toolkit [11]. Computational and statistical analysis of codon sequences were carried out in Mathematica software. Codon pair analysis was carried out using Anaconda software (<http://bioinformatics.ua.pt/software/anaconda/>) [10] Clusters of AdpA orthologous sequences of *Actinobacteria* were generated using AdpA protein of *Streptomyces clavuligerus* (SCLAV\_1957) as a query and reciprocal best BLASTP hit strategy [9] for ortholog identification. Clusters of SsgA/SsgB orthologs and their coding sequences were taken from [4]. Python scripts were used to develop the bubble plot program. Bubble plot workflow is detailed in Results section. Phylogenetic relationships among actinobacterial orders were reconstructed from conservative actinobacterial proteins using PhyloPhLan phylogenetic pipeline [15]. Bioinformatics toolkit (<https://toolkit.tuebingen.mpg.de/>) [1] and RevTrans1.4 server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/RevTrans/>) [16] were used to access various programs for multiple sequence alignment. Where appropriate, statistical significance of differences in observed and expected codon and k-mers frequencies was evaluated using bootstrap approach followed by parametric tests (t-test, ANOVA).

### Results and Discussions

**“Horizontal” axis: searching for codon context dependencies in *Streptomyces*.** Diconon usage is the simplest form of codon associations. Let  $N_1N_2N_3|Z_1Z_2Z_3$  be dicodon sequence, where vertical bar demarcates last (third) letter ( $N_3$ ) of upstream codon  $N$  and the first letter ( $Z_1$ ) of downstream codon  $Z$ . Usage of codon  $Z$  would be considered random with regard to  $N$  if  $Z$  occurs at frequencies equal to product of background frequencies of  $Z_1, Z_2, Z_3$  in any given genome. All significant deviations of  $Z$  frequency in context of  $N$  would be considered nonrandom. There is large body of empirical data showing that  $k$ -mers larger than triplet within ORFs are nonrandom [3, 14], and this observation is at the heart of several gene finding algorithms [2]. If hexamers are not random, then we should observe dependencies at a more elementary level. Particularly, we wanted to reveal codons  $N$  whose wobble position ( $N_3$ ) determines the distribution of bases expected at  $Z_1$ . The  $N_3|Z_1$  dependencies are more straightforward to infer and yet more challenging to interpret as compared to dicodon ones. If found and considered significant by some statistical measures, the  $N_3|Z_1$  dependency usually implies that wobble position (often irrelevant at the level of protein) of  $N$  narrows down the set of possible codons  $Z$ , and, consequently, aminoacids we expect to observe in respective position of proteins. Existence of such dependencies in several studied cases offers new mechanistic explanation for CUB, e.g. certain codon  $N$  is used because it is the most preferable for occurrence of next codon  $Z$  [10]. We looked for such scenario in *Strep-*

*tomycetes* genomes. The frequencies of all possible 244 quadruplets  $N_1N_2N_3|Z_1$  have been calculated for the entire set of open reading frames (ORFome) of model strain *S. coelicolor* M145. Here null hypothesis would be as follows.  $Z_1$  is random in context of  $N_1N_2N_3$  when  $N_1N_2N_3|Z_1$  occurs at background frequency of  $Z_1$  in genome. The most pronounced deviations from null hypothesis were observed for C|C, C|G and A|C codon boundaries. This was found for all quadruplets having such boundaries. Examples of observed deviations are shown in Fig. 1. Interestingly, we have found that start codon ATG is nonrandomly associated with adenine (see Fig. 1, D). If this is true for other genomes, then ATG|A association can be used to map start codons.

Our data suggest nonrandom usage of certain interocodon dinucleotides. This most likely reflects nonrandom codon pair usage [10], although other factors cannot be ruled out. We proposed a statistical model to discriminate between different forces that shape the quadruplet usage. In an initial model (used to generate Fig. 1), for each codon we had four quadruplet frequencies  $N_1N_2N_3|Z_1$ , since  $Z_1$  is in one of 4 mutually exclusive states (A/T/G/C). Then, for example,  $P(GTT|G) = \Sigma(GTT|G)/\Sigma(GTT|N)$ . Our new proposal is  $P(GTT|G) = \Sigma(GTT|G)/\Sigma(GTN|N)$ . ( $\Sigma(GTN|N) = 16$  possible dinucleotides). In denominator the frequencies of 16 quadruplets are summed up (except for codon  $N_1N_2N_3$  for which third letter leads to stop codon – then we will have 12 quadruplets – e.g.  $TGN|N$ ). With this approach, all observed deviations of quadruplet frequencies from null (random) distribution are caused by factors other than  $N_3|Z_1$  dependencies. Using parametric approaches, one can calculate  $p$  and standard deviations (SD) expected for random distribution of  $N_1N_2N_3|Z_1$  and compare to observed data (Fig. 2).

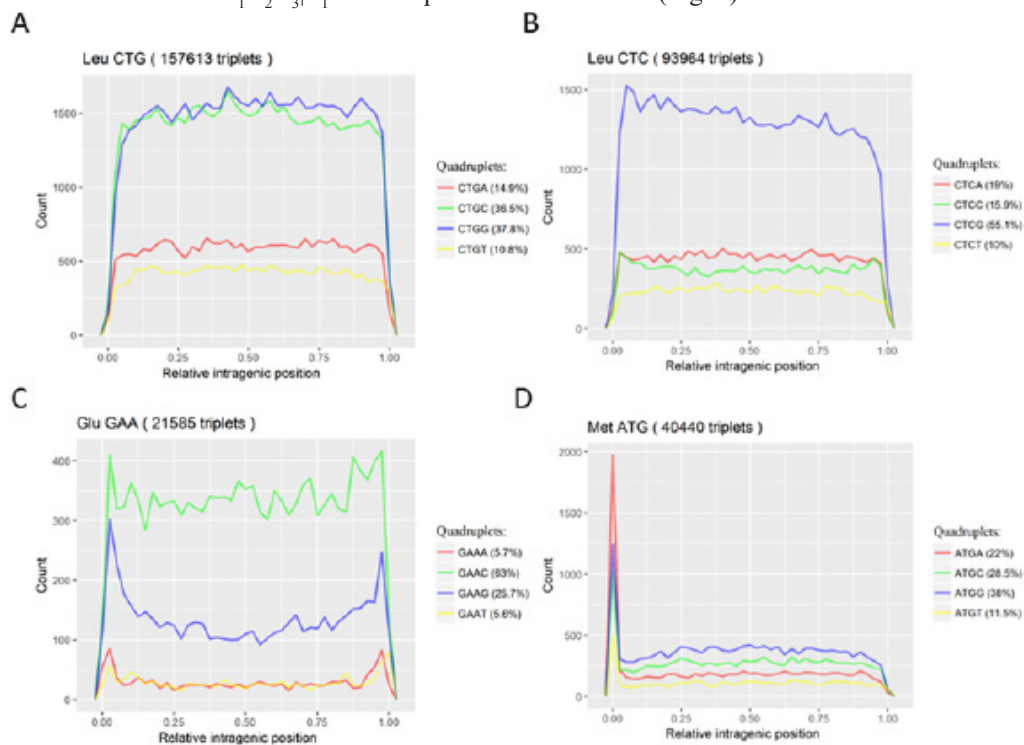


Fig. 1. Examples of observed quadruplet frequencies in *S. coelicolor* genome: occurrence at background frequencies of 4<sup>th</sup> nucleotide (A), biased associations for C|C, C|G, A|C (B, C), and biased ATG|A association at the beginning of the ORF (D). The x axis represents cumulative distribution of the quadruplets over relative lengths (0.0÷1.0) of all ORFs. The y axis represents absolute count of any given quadruplet in the ORFome

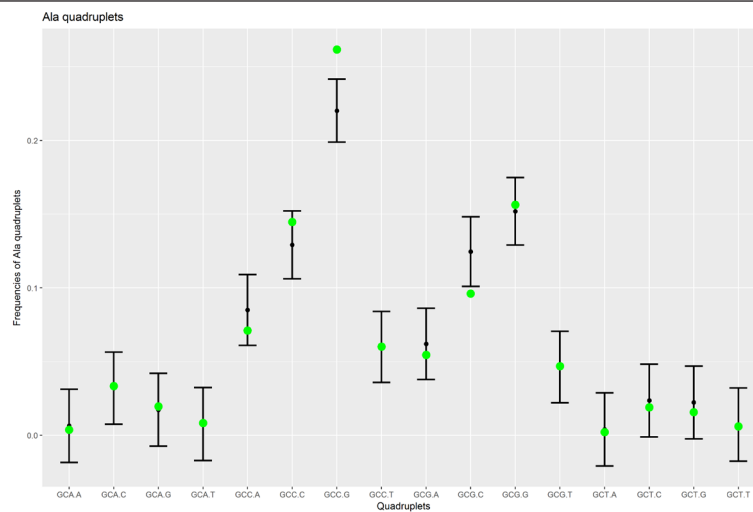


Fig. 2. Fit of observed values of quadruplet frequencies (green dots) against expected null (normalized by frequency of  $N_3|Z_1$ ) distribution (black bars). Black dots – mean expected value. SD was calculated as described in the text. Quadruplet GCC|G is out of the null distribution

As can be seen from Fig. 2, nonrandom quadruplets can be found even after taking into account nonrandomness of  $N_3|Z_1$  dinucleotides. With the new model, 11.88 % (29 out of 244) of quadruplets did not fall into the null distribution (for old model 133 values were out of the null distribution). We also performed bootstrap analysis of significance of our findings [8], by randomly shuffling 145 genes of *S. coelicolor* and building 1000 permuted codon datasets. We applied both initial and new statistical models to bootstrapped data. Again, C|G, C|C dinucleotides at codon boundaries deviated from null distribution, irrespective of the model (data not shown). In all, it can be concluded from our (limited) dataset that cytosine in wobble position leads to higher than random probability to find guanine in first position of next codon. Nonrandom dicodon usage contributes to the observed dependency, although other, as-yet-unknown factor(s) are at work.

Aforementioned results encouraged us to look for CUD on a scale of many *Streptomyces* genomes, where all possible codon dependencies could become more salient and general, and be converted into a set of codon context rules. For this purpose we used specialized software Anaconda [10]. Briefly, the software functions as virtual ribosome, that reads triplets of ORFs, records dicodon types and performs their statistical analysis. CUDs are represented by Anaconda in the form of heatmaps; an example of the latter is shown on Fig. 3. We compiled 50 *Streptomyces* genomes and subjected them to Anaconda analysis. First, we asked if there are significant differences in codon pairs between the analyzed genomes. This can be done by subtracting codon heatmaps (like the one on Fig. 3) for two different genomes; presence of any significant differences would show up as pixels that have colors other than black (no difference) or grey (no data). We revealed that the set of genomes picked up for analysis is rather homogeneous – large deviations in codon pairs were not detected (data not shown).

We built a median heatmap on basis of 50 streptomycete genomes in order to identify specific codon-pair context biases within the latter (Fig. 4). To suppress noise in the maps, values were filtered to display only those codon residuals that lie out of two SD. Green cells correspond to preferred context and red cells indicate rejected ones. All other cases were colored in black. This approach granted us clearer vision of extreme codon contexts. The main patterns are as fol-

lows: NNU|CNG (Fig. 4, A, D) and GNA|CNN (Fig. 4, C, F). There were also two patterns of dependency between non-adjacent bases: CUS|NS<sub>2</sub>N (Fig. 4, B, E) and CUS|NW<sub>2</sub>N (Fig. 4, E). Here, downstream of G/C-ending leucine codons (CUC and CUG) G/C nucleotides are rejected and U/A are preferred at Z<sub>2</sub> position (N<sub>1</sub>N<sub>2</sub>N<sub>3</sub>|Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>). The leucine pattern generally agrees with results discussed above (see Fig. 1, A, B).

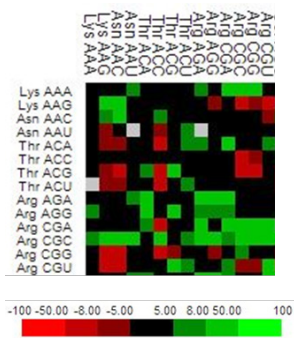


Fig. 3. Fragment of 64×64 codon heatmap that reflects all possible codon transitions for the listed (on axes) set of codons in *S. coelicolor* ORFome. Codon residuals are coded on color scale from red (rejected context) to green (preferred context). Statistically insignificant values are indicated in black. Grey pixels, no data

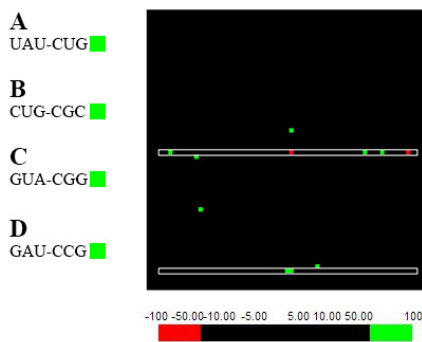


Fig. 4. Median 64×64 codon heatmap of 50 *Streptomyces* genomes. In order to identify specific codon-pair contexts, map was filtered to display codon residuals that are above 50-fold difference. Green cells correspond to preferred and red cells to rejected contexts. All other cases were colored in black. Contexts A-D correspond to single pixels, E and F – boxed lines of matrix

**“Vertical” axis: searching for patterns of codon substitutions in different datasets of orthologous genes.** We developed in-house Python scripts to automate the generation of bubble plot that depict codon substitution in alignment of multiple codon sequences. The pipeline of our analysis was as follows. First, a set of orthologous proteins has to be collected. Coding sequences of the proteins has to be identified. Second, coding sequences are subjected to amino acid sequence-guided codon alignment (program RevTrans). Third, multiple codon alignments are subjected to bubble plot analysis. Typical bubble plots are shown in Fig. 5. One of them is generated on basis of conserved sporulation-associated gene *ssgA* (Fig. 5), and it features paucity of nonsynonymous substitutions. Another graph revealed codon substitutions in a set of sequences encoding transcriptional factors of AdpA family (data not shown), master regulators of SM and morphogenesis in *Streptomyces*. Dominance of synonymous single nucleotide substitutions implies conservancy on amino acid level. The presence of other types of substitution indicates the effect of selective pressure on the sequences, as we observed for *adpA* orthologs within family *Micromonosporaceae*.

We were able to identify AdpA homologs across the entire phylogenetic tree of actinobacteria, however their functional meaning remains poorly understood. From initial analysis of a single genus (*Streptomyces*) it was apparent, that *adpA* coding sequences still experience evolutionary change. If so, by comparing the intensity and types of codon substitutions in phylogenetically different *adpA* groups, we might be able to pinpoint, qualitatively, those that evolve slower

or faster than *adpA* from *Streptomyces*. For this purpose, we have chosen 2 different *adpA* sets from distant actinobacterial orders *Streptomycetales* and *Streptosporangiales*. The corresponding bubble plots are shown on Fig. 6.

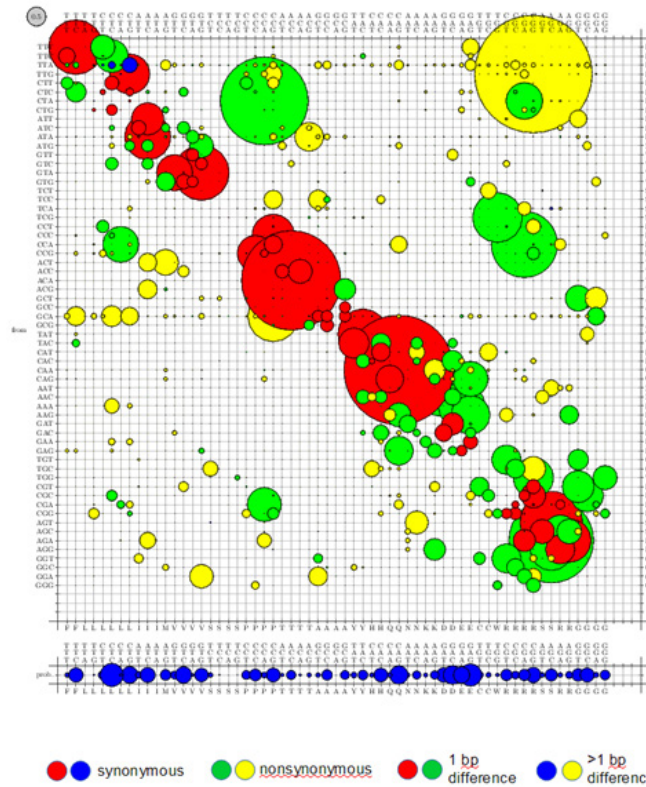


Fig. 5. Bubble plot visualizations for orthologs of highly conserved gene *ssgA* (A). Codons are ordered according to biochemical similarity of respective amino acids. Diameters of the bubble represent the probability of substitution one codon (rows) by another (columns). Color code labels synonymous/nonsynonymous (red and blue/green and yellow) substitutions that differ by one (red and green) or more (blue and yellow) nucleotides. Blue diagram (below the matrix) shows overall codon usage. All plots are equally scaled (grey circle, top left corner of the plot)

It becomes apparent from our analysis that *adpA* orthologs from phylogenetically distinct orders have different evolutionary paths. Particularly, numerous synonymous substitutions (red bubbles) suggest the action of purifying selection on certain set of sequences (as seen in Fig. 6, B). In contrast, *adpA* coding sequences from order *Streptomycetales* feature surprisingly low number of synonymous changes and increased incidence of nonsynonymous substitutions (green and yellow circles, Fig. 6, A). This kind of pattern is consistent with the idea that streptomycete *adpA* genes are subject to positive selection and still exploring their sequence space. Of course, at this stage we cannot rule out the contribution of other as-yet-unknown factors to the codon sequence evolution in case of *Streptomyces*.

To conclude, we revealed several codon context dependencies within *Streptomyces* genomes. They mostly point to nonrandom use of G/C at codon boundaries, although more distant dependencies were also revealed (see Fig. 4). Python-based script was developed after bubble plot concept, which simplifies process of visualizing codon substitutions. We provided several



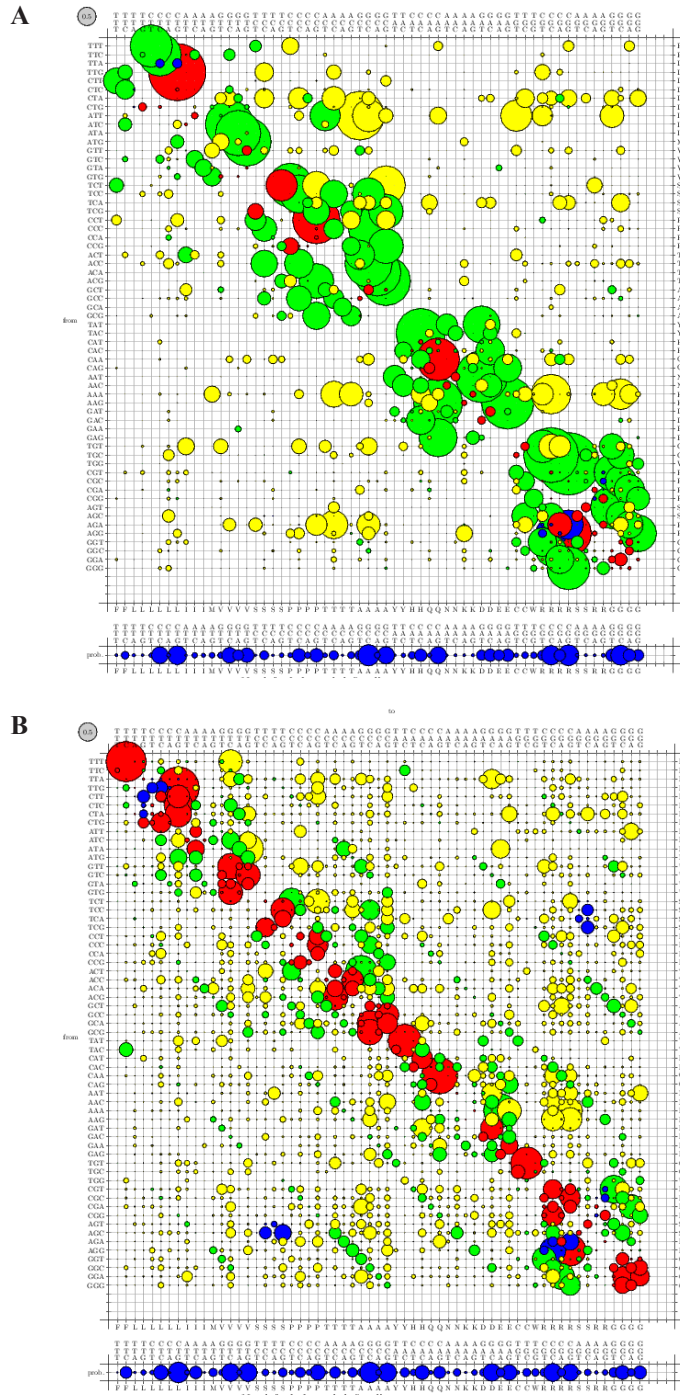


Fig. 6. Bubble plot visualisations for *adpA* orthologs within orders *Streptomycetales* (A) and *Streptosporangiales* (B). Color code, see Fig. 5

examples showing what kind of information is provided by the plots. The graphical outcome of the program resembles empirical matrices, such as PAM or BLOSUM, used for description of amino acids substitutions. Like the latter, bubble plots lose the positional information about codon changes (namely, it is not known where exactly in a codon sequence any given substitution occurs or predominates). Here we underscore that the aim of bubble plot is to convert all kinds of codon changes seen in multiple sequence alignment into a single and visually comprehensible picture, which reveals global trends (prevalence of synonymous/nonsynonymous changes) and permits to pinpoint the most interesting types of substitutions for further research. We hope that this approach will be useful to study codon sequence evolution and to define what kind of changes are the most acceptable in sets of natural genes. This information may help optimize synthetic coding sequence. Work is in progress to develop online version of bubble plot service.

**Acknowledgements.** *This work was supported by grant BG-41Nr from Ministry of Education and Science of Ukraine (to B.O.)*

#### REFERENCES

1. Alva V., Nam S. Z., Söding J., Lupas A. N. The MPI bioinformatics Toolkit as an integrative platform for advanced protein sequence and structure analysis // *Nucleic Acids Res.* 2016. Vol. 44. P. W410–415.
2. Azad R. K., Borodovsky M. Probabilistic methods of identifying genes in prokaryotic genomes: connections to the HMM theory // *Brief Bioinform.* 2004. Vol. 5. P. 118–130.
3. Fickett J. W., Tung C. S. Assessment of protein coding measures // *Nucleic Acids Res.* 1992. Vol. 25. P. 6441–6450.
4. Girard G., Traag B.A., Sangal V. et al. A novel taxonomic marker that discriminates between morphologically complex actinomycetes // *Open Biol.* 2013. Vol. 3. P. 130073.
5. Goldman N., Yang Z. A codon-based model of nucleotide substitution for protein-coding DNA sequences // *Mol. Biol. Evol.* 1994. Vol. 11. P. 725–736.
6. Iqbal H. A., Low-Beinart L., Obiajulu J. U., Brady S. F. Natural product discovery through improved functional metagenomics in *Streptomyces* // *J. Am. Chem. Soc.* 2016. Vol. 138. P. 9341–9344.
7. Katz L., Baltz R. H. Natural product discovery: past, present, and future // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2016. Vol. 43. P. 155–176.
8. Kulesa A., Krzywinski M., Blainey P., Altman N. Sampling distributions and the bootstrap // *Nat. Methods.* 2015. Vol. 12. P. 477–478.
9. Kuzniar A., van Ham R.C., Pongor S., Leunissen J. A. The quest for orthologs: finding the corresponding gene across genomes // *Trends Genet.* 2008. Vol. 24. P. 539–551.
10. Moura G., Pinheiro M., Arrais J. et al. Large scale comparative codon-pair context analysis unveils general rules that fine-tune evolution of mRNA primary structure // *PLoS One.* 2007. Vol. 2. P. e847.
11. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit // *Bioinformatics.* 2012. Vol. 28. P. 1166–1167.
12. Osswald C., Zipf G., Schmidt G. et al. Modular construction of a functional artificial epothilone polyketide pathway // *ACS Synth. Biol.* 2014. Vol. 3. P. 759–772.
13. Plotkin J.B., Kudla G. Synonymous but not the same: the causes and consequences of codon bias // *Nat. Rev. Genet.* 2011. Vol. 12. P. 32–42.
14. Pride D. T., Meinersmann R. J., Wassenaar T. M., Blaser M. J. Evolutionary implications of microbial genome tetranucleotide frequency biases // *Genome Res.* 2003. Vol. 3. P. 145–158.

15. Segata N., Börnigen D., Morgan X. C., Huttenhower C. PhyloPhlAn is a new method for improved phylogenetic and taxonomic placement of microbes // Nat. Commun. 2013. Vol. 4. P. 2304.
16. Wernersson R., Pedersen A.G. RevTrans: multiple alignment of coding DNA from aligned amino acid sequences // Nucleic Acids Res. 2003. Vol. 31. P. 3537–3539.
17. Zarins-Tutt J. S., Barberi T. T., Gao H. et al. Prospecting for new bacterial metabolites: a glossary of approaches for inducing, activating and upregulating the biosynthesis of bacterial cryptic or silent natural products // Nat. Prod. Rep. 2016. Vol. 33. P. 54–72.

Стаття: надійшла до редакції 27.12.17

доопрацьована 04.04.17

прийнята до друку 05.04.17

## ОСОБЛИВОСТІ КОНТЕКСТНОГО ВЖИВАННЯ ТА ЗАМІЩЕННЯ КОДОНІВ У ГЕНОМАХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

І. Рокицький, С. Кулага, Г. Мутенко, М. Рабик, Б. Остах

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: b.ostash@lnu.edu.ua

Актинобактерії роду *Streptomyces* привертають великий інтерес дослідників, оскільки їхні геноми кодують криптичні кластери генів біосинтезу нових антибіотиків. Також гетерологічна експресія метагеномних бібліотек у модельних штамів *Streptomyces* дає змогу виявляти нові класи сполук. Важливо розуміти правила, які визначають вживання кодонів у генах стрептоміцетів, щоби підвищити шанси і рівень експресії чужорідних генів у *Streptomyces*. У цьому дослідженні ми розглянули два питання, пов'язаних із вживанням кодонів у геномах стрептоміцетів. По-перше, ми дослідили закономірності вживання дикодонів у *Streptomyces*. По-друге, ми шукали істотні відмінності в характері заміщень кодонів у різних сімействах ортологічних генів на різних філогенетичних відстанях і різного ступеня важливості. Як результат, ми виявили кілька правил контекстного вживання кодонів, які в основному пов'язані з аномальною частотою G/C після С-кінцевого нуклеотиду попереднього кодона. Ми розробили новий інструмент біоінформатики на основі описаного раніше методу “бульбашкових” графіків, що дає змогу візуалізувати закономірності кодонних заміщень у наборі даних у вигляді матриці. Використовуючи цей інструмент, ми виявили, що гени транскрипційних факторів родини AdpA у випадку порядку *Streptomycetales* несуть частку несинонімічних замін значно більшу, ніж це спостерігається для груп *adpA* з інших порядків актинобактерій. Характер заміщень кодонів для різних порядків актинобактерій (порівняно зі *Streptomycetales*) не описується простими залежностями.

*Ключові слова:* *Streptomyces*, кодонний контекст, патерни заміщення кодонів

УДК: 630.1+581.6+581.525+(477.63)

## СУЧАСНИЙ ЖИТТЄВИЙ СТАН ЛІСОВИХ КУЛЬТУРФІТОЦЕНОЗІВ КРИВОРІЖЖЯ

**В. Савосько, М. Квітко**

*Криворізький державний педагогічний університет  
просп. Гагаріна, 54, Кривий Ріг 50086, Україна  
e-mail: savosko@list.ru*

За методикою В.А. Алексєєва встановлено сучасний життєвий стан лісових культурфітоценозів Криворіжжя, котрі репрезентують основні різновиди штучних деревно-чагарникових насаджень регіону та розташовані у контрастних екологічних умовах. Прогнозуючи сукупний ефект дії природних і антропогенних факторів, виділили зони екологічних умов територій розміщення лісових культурфітоценозів: 1) сприятливих; 2) відносно сприятливих; 3) відносно несприятливих; 4) несприятливих. У більшості випадків лісові культурфітоценози регіону були створені у 30–60-х роках минулого століття з використанням дуба звичайного (*Quercus robur* L.) та ясеня звичайного (*Fraxinus excelsior* L.). У зонах сприятливих і відносно сприятливих екологічних умов сучасний життєвий стан лісових культурфітоценозів регіону оцінений як «Здоровий» (83–86 балів за шкалою В.А. Алексєєва), у зонах відносно несприятливих і несприятливих – як «Ослаблений» (64–68 балів за шкалою В.А. Алексєєва). У природних лісових фітоценозах (зона сприятливих екологічних умов) дерева першого і третього ярусів мають максимальні числові значення життєвого стану. Крім того, стан листків рослин цих фітоценозів виявився найменш вразливим до дії природних факторів. У культурних лісових фітоценозах регіону найвищі показники життєвого стану також виявлені для дерев першого ярусу. Проте для дерев третього ярусу характерні мінімальні значення цього показника, що, ймовірно, негативним чином вплине на подальший розвиток лісових культурфітоценозів. Крім того, стан крони лісових культурфітоценозів Криворіжжя виявився найменш вразливим до негативної дії антропогенних і природних факторів.

*Ключові слова:* лісові культурфітоценози, життєвий стан, Криворіжжя

У промислових регіонах, розташованих у степовій зоні, деревні та чагарникові рослини постійно зазнають подвійного негативного впливу: посушливих умов і антропогенного забруднення [3, 4, 19, 21–23]. Як наслідок, ці рослини дуже часто характеризуються обмеженим ростом, пригніченим станом і прискореним старінням, а їхні штучні насадження – зменшенням фітомеліоративної значущості [5, 13, 14, 26, 28, 30]. Тому є актуальним дослідження лісових культурфітоценозів на індустріальних теренах Степу, зокрема на Криворіжжі.

Криворізький гірничо-металургійний регіон (Криворіжжя) – це визначний осередок промисловості України, де внаслідок впливу надпотужних підприємств із видобутку залізної руди, її збагачення та вироблення чавуну і сталі утворився особливий природно-територіальний комплекс [7, 8, 15]. У зв'язку з цим створення нових стійких і високоефективних лісових культурфітоценозів та оптимізація наявних штучних деревно-чагарникових насаджень є дуже важливою потребою регіону на сьогоднішній день. Також слід зазначити, що Криво-

ріжжя одночасно являє собою унікальний науково-практичний полігон для різноманітних екологічних досліджень.

Як відомо, деревно-чагарникові насадження, створені людиною та залишені поза її увагою після утворення наметів крони, в подальшому саморозвиваються [10, 24, 25, 29]. При цьому за несприятливих умов промислових регіонів є теоретично можливим як майбутній прогрес, так і регрес цих штучних фітоценозів. Ось чому з'ясування провідних факторів впливу на ріст і розвиток штучних деревно-чагарникових насаджень та механізмів їхньої дії є дуже актуальним питанням на сьогоднішній день. Отримані результати дадуть можливість впровадити оптимізаційні заходи, які забезпечать поступову трансформацію штучних деревно-чагарникових насаджень у екологічно стійкі фітоценози. Першим кроком у цій справі, на нашу думку, є встановлення сучасного стану лісових культурфітоценозів.

З теоретичної та практичної точок зору під час комплексного вивчення штучних деревно-чагарникових насаджень у промислових регіонах важливим є з'ясування їхнього інтегрального стану як показника їхнього сучасного росту і розвитку й індикатора перспективності їхнього подальшого функціонування. При цьому визначення життєвого стану лісових природних і штучних насаджень дає змогу провести комплексну оцінку їхньої фактичної життєздатності за умови негативного впливу антропогенних і природних чинників. Проведений аналіз наукової літератури [9, 11, 12, 19, 20] показав, що найефективнішу оцінку сучасного життєвого стану лісових культурфітоценозів доцільно виконувати за методикою В.А. Алексєєва [1]. Крім того, необхідно враховувати рекомендації авторів [12, 13] стосовно біологічних особливостей листяних деревних видів і дію антропогенних факторів.

**Мета роботи** – проаналізувати сучасний життєвий стан лісових культурфітоценозів Криворіжжя, котрі розташовані у контрастних екологічних умовах.

#### **Матеріали та методи**

Об'єктами досліджень є лісові культурфітоценози Криворіжжя, котрі репрезентують основні різновиди штучних деревно-чагарникових насаджень Криворіжжя: об'єкти садово-паркового господарства (Довгинцівський і Веселотернівський дендропарки), санітарно-захисні зони (ПАТ «Арселор Міттал Кривий Ріг»), водозахисні зони (лісосмуги Карачунівського водосховища і р. Бокова) та міські лісозахисні пояси (урочища «Дубки», «Дніпропетровського шосе», «Кільце Косіора»). Зазначені лісові культурфітоценози розташовані в контрастних екологічних умовах, що визначаються дією природних і антропогенних факторів. Для контролю були використані природні насадження Гурівського лісництва, які перебувають поза зоною впливу промислових підприємств регіону та розміщені в заплаві р. Бокова (Долинський р-н, Кіровоградська обл.).

У лісових культурфітоценозах були закладені моніторингові ділянки, де протягом 2013–2015 років за загальноприйнятими методами [2, 6] проводили класичні лісотаксаційні обстеження: встановлювали розподіл дерев за вертикальною структурою; вимірювали висоту й діаметр стовбура на висоті 1,3 м дерев першого, другого і третього ярусів.

Сучасний життєвий стан лісових культурфітоценозів встановлювали за методикою В.А. Алексєєва [1]. Спочатку в межах кожної моніторингової ділянки проводили нумерацію всіх дерев першого, другого і третього ярусів. Потім за діагностичними ознаками для кожного дерева визначали: 1) щільність крони ( $y$  % від нормальної щільності); 2) наявність на стовбурі мертвих гілок ( $y$  % від загальної кількості гілок на стовбурі); 3) ступінь ушкодження листків токсикантами, патогенами і комахами (середня площа некротів). Наприкінці за діагностичними ознаками встановлювали категорію стану дерева (табл. 1).

Таблиця 1

Категорія оцінки дерев	Визначення категорії стану дерева (за [1, 12])		
	Діагностичні ознаки, %		
	Щільність крони	Наявність мертвих гілок	Ступінь ушкодження листків
Здорове	80–100	0–15	0–10
Ослаблене	55–80	15–45	10–45
Сильно ослаблене	20–55	45–69	45–70
Відмираюче	1–20	70–99	70–100
Сухе	0	100	Немає листків

У камеральних умовах розраховували життєвий стан лісових культурфітоценозів за формулою [1]:

$$L = \frac{100 * n1 + 70 * n2 + 40 * n3 + 5 * n4}{N},$$

де: L – життєвий стан деревостану (умовні бали); n1 – кількість здорових дерев на ділянці (шт.); n2 – кількість ослаблених дерев на ділянці (шт.); n3 – кількість сильно ослаблених дерев на ділянці (шт.); n4 – кількість відмираючих дерев на ділянці (шт.); 100, 70, 40, 5 – коефіцієнти, що виражають життєвий стан здорових, ослаблених, сильно ослаблених і відмираючих дерев; N – загальна кількість дерев на моніторинговій ділянці зі сухостоєм (шт.).

Сучасний життєвий стан лісових культурфітоценозів оцінювали за шкалою, яка запропонована В.А. Алексєєвим [1]: «Здоровий» має 80–100 умовних балів (у.б.); «Ослаблений» – 50–80 у.б., «Сильно ослаблений» – 20–50 у.б.; «Повністю зруйнований» – нижче 20 у.б.

### Результати і їхнє обговорення

#### *Оцінка екологічних умов території розташування лісових культурфітоценозів.*

Ріст і розвиток деревно-чагарникових рослин, як відомо, відбувається за інтегрального впливу екологічних факторів, котрі поділяються на природні й антропогенні [10, 24, 27]. Серед природних факторів найбільш значущими є родючість (трофність) і вологість (гідрологічність) ґрунтів. У класичній схемі (едафічній сітці) П.С. Погребняка-Є.В. Алексєєва, яка враховує ці характеристики, виділяють провідні категорії едафотопів. Трофність ґрунтів при цьому включає: бори – бідні (А), субори – відносно бідні (В), сугруди – відносно багаті (С), груди – багаті (D). Гідрологічні умови – дуже сухі (0), сухі (1), свіжі (2), вологі (3), сирі (4), мокрі (5) [16, 17]. На Криворіжжі едафотопи представлені лише сугрудами та грудями, в той час як їхня вологість охоплює достатньо широкий діапазон – від сухих до сирих [18].

Серед антропогенних факторів атмосферні забруднювачі є найкритичнішими для росту й розвитку деревно-чагарникових рослин [5, 13, 14, 30]. Тому їхня дія і була використана для попередньої градації екологічних умов цих рослин. Вона ґрунтувалася на методиці оцінки стану атмосфери І.А. Добровольського [8], яка враховує відстань від промислових підприємств і фітоіндикаційні показники та є адаптованою до регіону. Автор вирізняв зони забруднення атмосферного повітря: 1) значного (ЗЗЗ), 2) порівняно значного (ЗПЗЗ), 3) середнього (ЗСЗ), 4) незначного (ЗНЗ), 5) періодичного забруднення (ЗПНЗ).

Поєднуючи можливий вплив природних і антропогенних факторів, ми запропонували матрицю екологічних характеристик територій розташування лісових культурфітоценозів Криворіжжя (табл. 2). Загалом, враховуючи ефект дії природних і антропогенних факторів, ми відокремили зони екологічних умов території розташування лісових культурфітоценозів Криворіжжя: 1) сприятливих, 2) відносно сприятливих, 3) відносно несприятливих, 4) несприятливих.

Таблиця 2

Екологічна оцінка території розташування лісових культурфітоценозів Криворіжжя

Грунтово-гідрологічні умови	Забруднення атмосфери (за І.А. Добровольським [8])				
	ЗЗЗ	ЗПЗЗ	ЗСЗ	ЗНЗ	ЗПНЗ
Сухі сугруди С1	–	Урочище «Дніпропетровське шосе»	Довгинцівський дендропарк	Водозахисні насадження	–
Свіжі сугруди С2	Насадження СЗЗ ПАО «Арселор Міттал Кривий Ріг»	Урочище «Кільце Косіора»	–	Карачунівського водосховища	–
Вологі груди D3	–	–	Урочище «Дубки»	–	Водозахисні насадження
Сирі груди D4	–	–	–	Дендропарк «Веселі Терни»	р. Бокова Гурівський ліс

**Примітка.** зони забруднення атмосфери наведені в тексті, СЗЗ – санітарно-захисна зона

**Стан лісових фітоценозів у зоні сприятливих екологічних умов.** Лише фітоценози природного походження – Гурівського лісу, які розташовані у заплаві р. Бокова та перебувають поза впливом атмосферних забруднювачів, можуть бути віднесені до зони сприятливих екологічних умов. У лісовому фітоценозі (орієнтовний вік – 150–160 років) фіксуються перший, другий і третій яруси дерев, котрі сформувалися за домінуванням дуба звичайного (*Quercus robur* L.).

Результати досліджень свідчать, що сучасний життєвий стан дерев першого, другого і третього ярусів природного фітоценозу Гурівського лісу оцінюється виключно як «Здоровий» – 86 умовних балів (у.б.) за шкалою В.А. Алексєєва (табл. 3). Таке ж значення (86 у.б.) встановлено для крон дерев, в той час як стан їхніх гілок трохи кращий (87 у.б.). Одночасно виявлено певні ушкодження листків, стан яких може бути оцінений лише як «Ослаблений» (78 у.б.).

Таблиця 3

Стан лісових культурфітоценозів Криворіжжя у контрастних екологічних умовах

Показники стану лісових культурфітоценозів		Зони екологічних умов території розташування лісових культурфітоценозів Криворіжжя				
		Сприятливих	Відносно сприятливих	Відносно несприятливих	Несприятливих	
Біологічні характеристики	Домінуючі види	Д зв Я зв К пл	Д зв Я зв В гл К яс	Д зв Я зв А бл Д чр Л сл С зв	Д зв Я зв В гл К яс	
	Походження	Природне	Природне	штучне	Штучне	
Життєвий стан деревостану різних ярусів	Вік, роки	150–160	50–110	50–80	60–80	
	I+II+III ярусів	Бал	86	83	64	68
	Оцінка	Здоровий	Здоровий	Ослаблений	Ослаблений	
	I+II ярусів	Бал	81	87	66	66
	Оцінка	Здоровий	Здоровий	Ослаблений	Ослаблений	
	I ярусу	Бал	89	88	74	72
	Оцінка	Здоровий	Здоровий	Ослаблений	Ослаблений	
	II ярусу	Бал	75	83	61	58
	Оцінка	Ослаблений	Здоровий	Ослаблений	Ослаблений	
	III ярусу	Бал	89	46	42	51
Оцінка	Здоровий	Сильно ослаблений	Сильно ослаблений	Ослаблений		

**Примітка:** Д зв – дуб звичайний *Quercus robur* L.; К пл – клен польовий *Acer campestre* L.; Я зв – ясен звичайний *Fraxinus excelsior* L.; В гл – в'яз гладкий *Ulmus laevis* L.; К яс – клен ясенелистий *Acer negundo* L.; А бл – акація біла *Robinia pseudoacacia* L.; Д чр – дуб червонолистий *Quercus rubra* L.; Л сл – липа серцелиста *Tilia cordata* L.; С зв – сосна звичайна *Pinus sylvestris* L.

У природних насадженнях Гурівського лісу виявлені певні відмінності у показниках життєвості різних окремих ярусів насаджень. Так, життєвий стан дерев першого та другого ярусів можна оцінити як «Здоровий» (81 у.б.). Стан дерев першого ярусу, що в основному представлений дубом звичайним (*Quercus robur*), є більш високий – 89 у.б.

У той час як окремо сучасний стан другого ярусу, сформований, окрім дуба звичайного (*Quercus robur*), також ясенем звичайним (*Fraxinus excelsior*) і кленом польовим (*Acer campestre*), оцінено лише як «Ослаблений» (75 у.б.). Стан третього ярусу, який, на думку дослідників [10, 24, 29], є дуже важливим для розуміння здатності лісового фітоценозу до самовідновлення, оцінений як «Здоровий» і має найбільшу кількість умовних балів – 89.

#### **Стан лісових культурфітоценозів у зоні відносно сприятливих екологічних умов.**

Лісові культурфітоценози, що розташовані у цій зоні, представлені насадженнями дендропарку «Веселі Терни», урочищем «Дубки» та водозахисними лісосмугами р. Бокова. Усі вони перебувають у зонах незначного та періодичного незначного забруднення атмосфери, а їхні едафотопи – вологі та сирі груди (табл. 2). Лісові культурфітоценози цієї екологічної зони сформовані дубом звичайним (*Quercus robur*), ясенем звичайним (*Fraxinus excelsior*), в'язом гладким (*Ulmus laevis* L.) і кленом ясенелистим (*Acer negundo* L.). У насадженнях (з орієнтовним віком 50–110 рр.) чітко фіксуються перший, другий яруси та на 56 % моніторингових ділянок – ще і третій ярус.

У зоні відносно несприятливих екологічних умов виявлено високі показники життєвості дерев I-II-III ярусів (табл. 3), як загалом (87 умовних балів за шкалою В.А. Алексеева), так і за окремими діагностичними ознаками. Так, стан крони оцінюється як «Здоровий» – 81 у.б. (межі коливання від 67 у.б. до 95 у.б.). Проте стан гілок можна оцінити лише як «Ослаблений» – 77 у.б. (межі варіювання: 61 у.б. – 93 у.б.). Показники життєвості листків коливаються від ослабленого (77 у.б.) до здорового (93 у.б.) при середньому значенні 86 у.б. (життєвий стан – здоровий).

Як відомо, дерева першого та другого ярусів формують ценотичну основу природних і штучних фітоценозів, а також зумовлюють їхню меліоративну ефективність [10, 24, 25, 29]. Отримані результати свідчать, що сучасний життєвий стан дерев цих ярусів оцінюється як «Здоровий» – 87 у.б. (межі коливань: 70 у.б. – 90 у.б.), що дещо перевищує умовний контроль (81 у.б.). Цілком логічно, що дерева першого ярусу лісових фітоценозів найбільш розвинені, тому характеризуються максимальними показниками сучасного життєвого стану – 88 у.б. (межі коливань: 67 у.б. – 99 у.б.). У той час як дерева другого ярусу характеризуються трохи пригніченим станом і меншими числовими значеннями відносного життєвого стану – 83 у.б. (межі коливань: 65 у.б. – 95 у.б.).

Дослідники [3, 10, 24, 25, 29] відзначають, що стан дерев третього ярусу індикує потенційну здатність лісу до самовідновлення та зумовлює його подальший розвиток. Однак у культурфітоценозах зони відносно сприятливих екологічних умов дерева цього ярусу характеризуються найменшими числовими значеннями життєвості – 46 у.б., що вказує на «Сильно ослаблений» їхній сучасний стан.

**Стан лісових культурфітоценозів у зоні відносно несприятливих екологічних умов.** Експозиції Довгинцівського дендропарку, а також водозахисна смуга Карачунівського водосховища репрезентують лісові культурфітоценози зони відносно несприятливих екологічних умов (табл. 2). Усі насадження розташовані в зонах середнього та незначного забруднення атмосфери, а їхні едафотопи – це сухі сугруди. Винятки спостерігаються на двох моніторингових ділянках водозахисних насаджень, де діагностовано свіжі сугруди. Крім того, територія цих лісових культурфітоценозів активно використовується для відпочинку, що зумовлює додатковий негативний вплив. Насадження в основному сформовані



дубом звичайним (*Quercus robur*), ясенем звичайним (*Fraxinus excelsior*), акацією білою (*Robinia pseudoacacia* L.), дубом червоним (*Quercus rubra* L.), липою серцелистою (*Tilia cordata* L.), сосною звичайною (*Pinus sylvestris* L). Слід зазначити, що в межах Довгинцівського дендропарку спостерігається значне різноманіття домінантів культурфітоценозів [19, 22]. У насадженнях фіксуються перший, другий і третій (81 % ділянок) яруси з орієнтовним віком 50–80 р.

За результатами наших досліджень, показники життєвості дерев I-II-III ярусів, що перебувають у зоні відносно несприятливих екологічних умов, віддзеркалюють негативний вплив факторів росту і розвитку рослин (табл. 3). Сучасний життєвий стан дерев I-II-III ярусів можна оцінити лише як «Ослаблений» (64 умовних бали за шкалою В.А. Алексєєва). Показники життєвості насаджень за окремими діагностичними ознаками цих насаджень також були оцінені виключно як «Ослаблені». Стан крони змінювався від 39 до 89 у.б. при середньому 64 у.б. Стан гілок становив 61 у.б. (межі варіювання 45 – 78 у.б.). Показники життєвості листків коливаються від 37 до 87 у.б., а в середньому – 62 у.б. Сучасний життєвий стан дерев I та II ярусів оцінюється як «Ослаблений» – 66 у.б. (межі коливань 40 – 80 у.б.). Ці значення істотно менші за контрольні показники.

Встановлено, що в зоні відносно несприятливих екологічних умов, як у попередніх випадках, дерева I ярусу характеризуються максимальними показниками сучасного життєвого стану – 74 у.б. (межі коливань: 40 – 95 у.б., оцінка «Ослаблений»). Одночасно дерева II ярусу характеризуються пригніченим статусом, тому значення їхнього життєвого стану менші і становлять 61 у.б. (межі коливань 40 – 79 у.б., стан «Ослаблений»). Також слід зазначити, що дерева III ярусу мають найменші числові значення життєвості – 42 у.б., що вказує на їхній стан як «Сильно ослаблений».

**Стан лісових культурфітоценозів у зоні несприятливих екологічних умов.** Лісові культурфітоценози, що належать до цієї зони, представлені насадженнями санітарно-захисної смуги металургійного комбінату (ПАО «Арселор Міттал Кривий Ріг») та містозахисної смуги (урочища «Кільце Косіора» та «Дніпропетровське шосе»). Усі моніторингові ділянки розташовані у зонах значного і періодично значного забруднення атмосфери, де поширені лише сухі та свіжі сугруди (табл. 2). Лісові культурфітоценози мають орієнтовний вік 60–80 р. і сформовані такими видами, як ясен звичайний (*Fraxinus excelsior*), дуб звичайний (*Quercus robur*), клен ясенелистий (*Acer negundo*), в'яз гладкий (*Ulmus laevis*). У всіх насадженнях фіксуються перший, другий ярус, а третій ярус на деяких ділянках відсутній або майже не розвинений.

У зоні несприятливих екологічних умов закономірно виявлені невисокі показники життєвості дерев I-II-III ярусів – 68 умовних балів за шкалою В.А. Алексєєва, що вказує на їхній ослаблений стан (табл. 3). Стан крони також оцінюється як «Ослаблений» – 64 у.б. (коливається від 52 до 76 у.б.). Показники стану гілок перебувають практично на одному рівні – 65 у.б. (межі варіювання: 50 – 79 у.б.). Стан листків має найвищі значення – 75 у.б. (границі коливань: 60 – 89 у.б.). Проте їхня життєвість може бути оцінена лише як «Ослаблена». Сучасний життєвий стан дерев I та II ярусів оцінюється як «Ослаблений» – 66 у.б. (межі коливань 49 – 83 у.б.). Дерев першого ярусу характеризуються найбільшими показниками життєвого стану – 72 у.б. (межі коливань: 56 – 88 у.б.). Дерев II і III ярусів перебувають у пригніченому стані та мають найменші показники життєвості, відповідно, 58 у.б. (границі варіювання: 46 – 73 у.б.) та 51 у.б. (межі коливань: 10 – 86 у.б.).

Сучасний життєвий стан природних лісових фітоценозів, що розташовані у максимально сприятливих екологічних умовах (достатній рівень зволоження, родючі ґрунти, брак дії атмосферних забруднювачів) оцінюється як «Здоровий». При цьому дерева I і III

ярусів мають максимальні числові значення цього показника. Стан листків дерев цих фітоценозів виявився найменш вразливим до дії природних факторів.

Сукупний вплив природних і антропогенних екологічних факторів Криворіжжя зумовлює, в більшості випадків, «Ослаблений» сучасний життєвий стан лісових культур-фітоценозів. Найбільш вразливими виявилися дерева третього ярусу, котрі в природних умовах є потенційним фактором щодо самовідновлення фітоценозів.

У подальших дослідженнях вважаємо доцільним провести більш детальні та поглиблені математичні розрахунки щодо з'ясування питомої ваги впливу окремих екологічних факторів. Також доцільно визначити еколого-біогеохімічні маркери сучасного стану лісових культурфітоценозів і прогнозу їхнього подальшого розвитку.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Алексеев В. А.* Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение. 1989. № 4. С. 51–57.
2. *Анучин Н. П.* Лесная таксация. М.: Лесная промышленность, 1977. 522 с.
3. *Бельгард А. Л.* Степное лесоведение. М.: Лесная промышленность, 1971. 336 с.
4. *Горейко В. А.* Искусственные лесные насаждения в степи // Питання степового лісознавства та лісової рекультивациі земель. 2010. Вип. 39. С.7–19.
5. *Горышина Т. К.* Растение в городе. Л.: Изд-во ЛГУ, 1991. 152 с.
6. *Гром М. М.* Лісова таксация. Львів: УкрДЛТУ, 2005. 352 с.
7. *Губин Г. В., Дядечкин Н. И.* Горнометаллургический комплекс и экологическая безопасность в Криворожском регионе // Металлургическая и горнорудная промышленность. 2007. № 2. С. 105–107.
8. *Добровольский И. А.* Эколого-биогеоценологические основы оптимизации техногенных ландшафтов степной зоны Украины путем озеленения и облесения: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.16. Днепропетровск, 1979. 62 с.
9. *Задорожная Д. В.* Интегральная оценка жизнеспособности *Platanus×acerifolia* (Aiton) Willd. в городских насаждениях // Промышленная ботаника. 2013. Вып. 13. С. 136–142.
10. *Казенс Дж.* Введение в лесную экологию. М.: Лесная промышленность, 1982. 141 с.
11. *Ковылина О. П., Зарубина И. А., Ковылин А. Н.* Оценка жизненного состояния сосны обыкновенной в зоне техногенного загрязнения // Хвойные бореальной зоны. 2008. XXV. № 3–4. С. 284–289.
12. *Кулагин А. А., Шагиева Ю. А.* Древесные растения и биологическая консервация промышленных загрязнений. М.: Наука, 2005. 190 с.
13. *Кулагин Ю. З.* Древесные растения и промышленная среда. М.: Наука, 1980. 115 с.
14. *Кучерявий В. П.* Озеленення населених місць. Львів: Світ, 2005. 456 с.
15. *Лысый А. Е., Рыженко С. А., Козятин И. П.* Экологические и социальные проблемы и пути оздоровления крупного промышленного региона (на примере Криворожского железорудного бассейна). Кривой Рог: Этюд Сервис, 2007. 428 с.
16. *Оцінка лісорослинного потенціалу земель: метод. посіб. К.: Вид. дім «ЕКО-інформ», 2010. 80 с.*
17. *Погребняк П. С.* Основы лесной типологии. К.: Изд-во АН СССР, 1955. 456 с.
18. *Савосько В. М.* Грунтовой покрив Криворіжжя // Фізична географія Криворіжжя: монографічна навч. книга. Кривий Ріг: ТОВ «Центр-принт», 2012. С. 154–175.
19. *Савосько В. М., Копич О. Ю.* Ботаніко-екологічна характеристика деревно-чагарникових насаджень Довгинцівського дендропарку (м. Кривий Ріг) // Інтродукція рослин. 2012. № 1. С. 105–113.
20. *Савосько В. М.* Видовий склад та екоморфний спектр деревно-чагарникових насаджень парку «Веселі Терни» (м. Кривий Ріг) // Інтродукція рослин. 2013. № 2. С. 78–82.
21. *Савосько В. М.* Вміст і розподіл органічного вуглецю у культурбіогеоценозах деревних насаджень степу в умовах промислового регіону // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 64. С. 226–234.

22. Савосько В. М., Квітко М. О. Сучасний стан основних насаджень Довгинцівського дендропарку (м. Кривий Ріг) // Промислова ботаніка. 2014. Вип. 14. С. 106–114.
23. Сірик А. А. Природна стиглість лісових насаджень в степу України // Наукові праці Миколаїв. держ. гуманітарного ун-ту імені Петра Могили. Сер. екол. 2000. Вип. 1. Т. 6. С. 20–22.
24. Спурр С. Г. Лесная экология. М.: Лесная промышленность, 1984. 480 с.
25. Сукачев В. Н., Дылис Н. В. Основы лесной биогеоценологии. М.: Наука, 1964. 318 с.
26. Терек О. І. Пацула О. І. Ріст і розвиток рослин. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2011. 328 с.
27. Barnes B. V., Zak D. R., Denton S. R. et al. Forest Ecology. New York: John Wiley & Sons Inc., 1997. 774 p.
28. Nowak D. J., Hirabayashi S., Bodine A., Greenfield M. Tree and forest effects on air quality and human health in the United States // Environ. Pollut. 2014. N 193. P. 119–129.
29. Perry D. A. Forest Ecosystems. Baltimore: The Johns Hopkins Press, 1994. 656 p.
30. Yang J., McBride J., Zhou J., Sun Z. The urban forest in Beijing and its role in air pollution reduction // Urban Forestry & Urban Greening. 2005. N 3. P. 65–78.

Стаття: надійшла до редакції 31.10.16

доопрацьована 16.02.17

прийнята до друку 09.03.17

## CURRENT LIFE STATE OF CULTIVATED FOREST COMMUNITY IN KRYVORIZHZHYA

V. Savosko, M. Kvitko

*Kryvyi Rih State Pedagogical University  
54, Gagarin Ave., Kryvyi Rih 50086, Ukraine  
e-mail: savosko@list.ru*

According to the procedure V.A. Alekseev the current life state of cultivated forest community in Kryvorizhzhya was investigated. These cultivated forest communities represent the main types of artificial trees and bushes planted in the region and arranged in contrasting environmental conditions. Predicting the cumulative effect of the action of natural and anthropogenic factors, selected areas of environmental conditions cultivated forest communities: 1) favorable; 2) a relatively favorable; 3) relatively adverse; 4) adverse. In most cases, cultivated forest communities in region were established in 30–60 years of the last century with the use of the common oak (*Quercus robur* L.) and European ash (*Fraxinus excelsior* L.). In areas favorable and relatively favorable environmental conditions the current life state of cultivated forest communities in region was rated as “Healthy” (83–86 points by a scale V.A. Alekseev). In areas of relatively unfavorable and negative – as “weakened” (64–68 points by a scale V.A. Alekseev). In natural forest plant communities (favorable environmental conditions of the zone), wood first and third tiers have maximum numerical values of current life state. In addition, the state leaves these phytocenoses was the least vulnerable to the effects of natural factors. The cultivated forest communities in the region higher life status indicators are also identified for the first tier of trees. However, the third tier of trees characterized by minimum values of this parameter, which is likely to negatively affect the further development of cultivated forest communities. In addition, the crown condition of phytocenoses was the most vulnerable to the effects of anthropogenic and natural factors.

*Keywords:* cultivated forest communities, current life state, and Kryvyi Rih ore mining region

## БІОТОПНА ХАРАКТЕРИСТИКА КУМОК (*BOMBINA*) ГІБРИДНОЇ ЗОНИ ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОГО ПЕРЕДКАРПАТТЯ

Л. Вовнянко

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: Vovnianko-Luba@i.ua

На теренах Західної України має місце природна гібридизація кумки звичайної (*Bombina bombina*) та кумки гірської (*Bombina variegata*). У результаті цього утворюється гібридна смуга, частина якої пролягає північно-західним Передкарпаттям. Результати досліджень дали можливість встановити екологічні особливості як гібридів, так і батьківських видів кумок щодо вибору ними відповідних оселищ. Для встановлення видової приналежності особин кумок застосовували фенетичні відмінності цих видів. Встановивши таксономічну приналежність особин кумок, ми фіксували різноманітні дані про водойми, у яких вони були виявлені, а саме: розмір водойми, тип водойми, походження водойми, наявність водяної рослинності, прозорість води, висота над рівнем моря та географічні координати, що сумарно дало інформацію про характер біотопу кумок. У результаті ми отримали детальний опис преференцій кумок щодо їхніх оселищ. Так, кумка звичайна надає перевагу великим природним заплавам із прозорою водою та водяною рослинністю, гірська – малим антропогенним калюжам із непрозорою водою та без водяної рослинності, а гібриди наявні у водоймах різного типу, надаючи перевагу водоймам антропогенного походження без водяної рослинності з непрозорою водою.

*Ключові слова:* *Bombina bombina*, *Bombina variegata*, гібридна зона, оселища, Передкарпаття

Наукові дослідження звичайної та гірської кумок (*Bombina bombina* та *Bombina variegata*) розпочалися наприкінці XIX ст., після виходу у 1886 р. статті «On two European Species of Bombinator», автором якої був Джордж Альберт Буленже [7]. У ній він детально описав ці види і вперше звернув увагу на можливість схрещування звичайної та гірської кумок. А вже на зламі XIX і XX ст. учені висунули гіпотезу про гібридизацію двох споріднених видів кумок у природі [3].

На теренах Західної України відзначена природна гібридизація двох видів кумок у зоні їхнього контакту в регіоні Українських Карпат [2, 9].

Н.А. Полушина у своїй праці наводить дані про висотний розподіл кумок у Карпатах. Так, гірська кумка відома в горах від 250 до 1900 м, а звичайна не заходить вище 300 м. Отже, межі видових ареалів цих видів чітко залежать від висотного фактора і пролягають уздовж гірських систем Європи. Загалом, це звичайні європейські види, які займають широкий ареал: *B. bombina* трапляється у рівнинній північно-східній частині Європи, а *B. variegata* – у гористій південно-західній [6, 10].

Одним із останніх досліджень підтверджено, що гібридні смуги кумок у регіоні Українських Карпат простягаються вздовж передгір'їв, на рівні від 200–250 до 300 м н.р.м. Їхня ширина становить у середньому 5–10 км. На північно-східному макросхилі Українських Карпат вони проходять через Самбір, Стрий, Калуш, Івано-Франківськ, Коломию, Чернівці, а на південно-західному – через Ужгород, Мукачеве, Іршаву та Хуст [3].

Метою представленої роботи є встановлення біотопних характеристик і особливостей оселищ кумок у районі гібридної зони північно-західного Передкарпаття на основі фенетичних відмінностей досліджуваних видів кумок.

### Матеріали та методи

Роботу проводили в регіоні українського Передкарпаття у межах Львівської обл. протягом весняно-літнього сезону 2013–15 рр. Загалом виділили 32 локалітети у п'яти районах Львівської обл. (Старосамбірський, Стрийський, Самбірський, Дрогобицький і Сколівський).

Загальний план черевного малюнка кумок є видоспецифічним. Так, плями кумки звичайної є зазвичай взаємоізолювані та покривають меншу частину черева, а у кумки гірської зливаються між собою і покривають більшу його частину. Гібриди мають проміжний малюнок поміж батьківських видів [8].

Провівши кореляційний аналіз між гібридним індексом і низкою морфологічних показників, які допомагають діагностувати видову приналежність кумок, Янчуков, Межжерин і Морозов-Леонов показали, що найбільше генні маркери пов'язані зі зміною характеру плямистості черева [1]. Окрім цього, дослідженнями, проведеними Янчуковим і Морозовим-Леоновим недалеко від м. Моршина, доведено високу кореляцію між значенням черевного індексу та генетичним аналізом, на підставі чого характер черевного малюнка може вважатися фенетичною ознакою [5]. Тобто з-поміж морфологічних показників саме характер розташування плям на череві дає змогу найточніше визначити вид кумки у польових умовах.

З метою встановлення видової приналежності особин кумок ми застосували методику, яку запропонували Гофман і Шимура [8]. Її суть полягає в тому, щоб виявити і підрахувати кількість сполучень між діагностичними черевними плямами, для яких є дві дискретні позиції: наявність зв'язку (= 1) і відсутність зв'язку (= 0) між ними. Максимально можлива кількість таких сполучень у однієї тварини становить 13, а мінімальна – 0. Сполучення між плямами виявляли візуально. Можлива також ситуація, коли ліва і права частини відрізняються за цими ознаками. Тоді значення ознаки становить 0,5. Максимально можлива кількість з'єднань – 13 – відповідає індексу 1 (гірська кумка), а найменша – 0, відповідає індексу 0 (звичайна кумка).

Оскільки для опрацювання цієї якісної ознаки ми використали кількісні показники, то для зручності розбили весь діапазон значень ознаки (0-1) на 3 класи (1-0,7; 0,7-0,3; 0,3-0). Центральний клас (0,7-0,3) представляє значення ознак типових гібридів, а перший (1-0,7) і останній (0,3-0) класи – гірської та звичайної кумок, відповідно. Встановивши таксономічну приналежність особин кумок, ми фіксували різноманітні дані про водойми, у яких вони були виявлені, а саме: розмір водойми, тип водойми, походження водойми, наявність водяної рослинності, прозорість води, висота над рівнем моря та географічні координати, що сумарно дало інформацію про характер біотопу кумок. На підставі аналізу отриманих показників з'явилася можливість проведення біотопної характеристики гібридної зони північно-західного Передкарпаття.

### Результати і їхнє обговорення

Залежно від способу життя, життєвого циклу тварин, місце їхнього проживання може бути представлено одним або кількома біотопами (комплексом біотопів).

Кумки, як звичайна так і гірська, тісно пов'язані зі своїми біотопами, що є важливою характеристикою під час визначення виду. Так, звичайна кумка надає перевагу добре освітленим достатньо великим за площею водоймам із чистою водою та з водяною рослинністю. Інколи може траплятися у водоймах, що повністю зарослі водяними рослинами,

але чисельність особин у них значно менша. Гірська кумка, у свою чергу, трапляється в невеликих водоймах із каламутною водою, часто без водяної рослинності. Переважно це калюжі.

Таку відмінність біотопів пояснюємо, перш за все, висотним фактором, адже гірські умови не сприяють значній кількості великих за площею водойм.

Згідно з нашими результатами, *B. bombina* у регіоні дослідження трапляється до 319 м н.р.м., а *B. variegata* починає траплятися з 308 м н.р.м. Їхні ареали перекриваються, що дає можливість для появи особин гібридного походження (рис. 1).

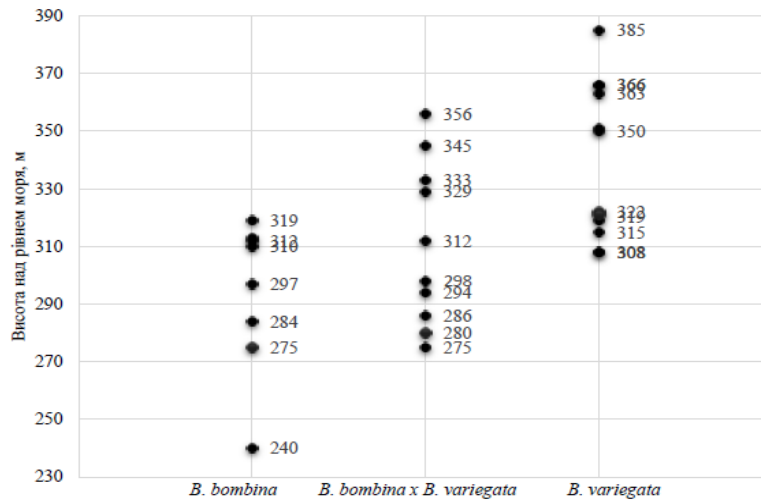


Рис. 1. Висотний розподіл досліджуваних біотопів кумок у межах гібридної зони північно-західного Передкарпаття

У результаті висотні межі території, зайнятої гібридами *B. bombina x B. variegata*, лежать між 275 і 356 м н.р.м., тобто поміж батьківськими видами.

Оскільки для кумок провідну роль відіграє тип водойми [3], то при виділенні біотопів ми враховували, насамперед, тип водойми, а вже потім брали до уваги значення інших факторів середовища (див. Матеріали і методи).

Основними типами досліджуваних водойм були заплави, озера, калюжі, меліоративні рови та водойми в автомобільних колях (рис. 2).

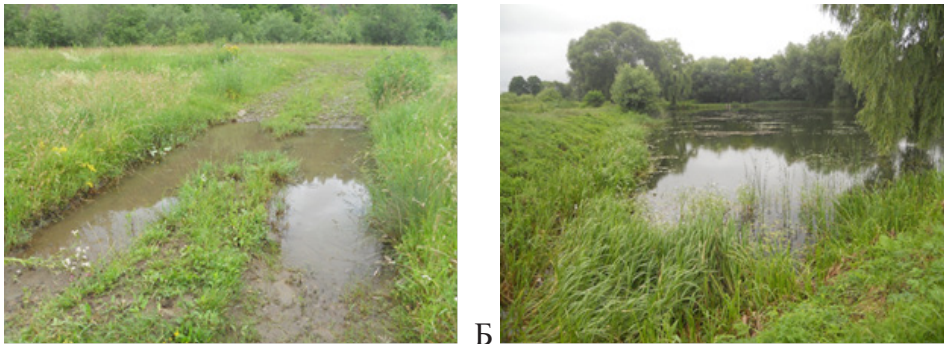


Рис. 2. Типові оселища кумок: А – автомобільна колія, типовий біотоп гірської кумки (с. Верхне Синьовидне, Стрийський р-н, Львівська обл.) Б – озеро – характерний біотоп кумки звичайної (с. Вівня, Стрийський р-н, Львівська обл.)

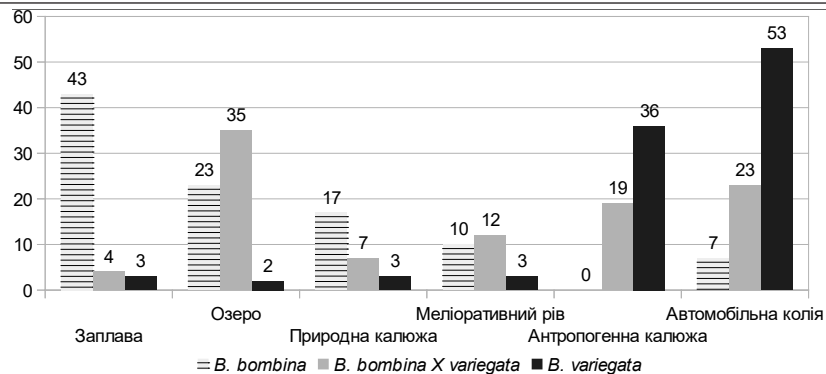


Рис. 3. Розподіл кумок за типами водойм

На рис. 3 показаний розподіл груп кумок для кожного із типів водойм. З нього видно, що кумка звичайна наявна в озерах, заплавах, природних калюжах, меншою мірою – у меліоративних ровах, а ще рідше цей вид трапляється в антропогенних калюжах. Кумка гірська, навпаки, населяє переважно автомобільні колії, тобто водойми тимчасового характеру, і трапляється також у калюжах, як антропогенних, так і природних.

Гібридні форми кумок найчастіше надають перевагу озерам, але вони є й у всіх інших типах водойм. Це вказує на їхню низьку екологічну вибагливість до типу водойм.

Кормові ресурси визначаються видовою різноманітністю, великою кількістю й доступністю тварин і рослин, що слугують поживою для наземних хребетних. При цьому провідну роль зазвичай відіграє рослинність. Вона є важливою ознакою під час характеристики водойм. За наявності водної рослинності ми розділили водойми на три групи: сильнозарослі (>60 % рослинності на площу водойми), слабозарослі (30–60 % рослинності), незарослі (<30 % рослинності) (рис. 4).

Із результатів досліджень (рис. 4) бачимо, що звичайна кумка надає перевагу водоймам із наявністю водяних рослин і не трапляється у водоймах, де немає водної рослинності. Гірська кумка існує, в основному, у водоймах, де водної рослинності немає, і майже не трапляється у водоймах із рослинністю. Гібридна форма кумок проявляє подібність і до звичайної, і до гірської кумок, оскільки трапляється і в сильнозарослих, і в слабозарослих, і в незарослих водоймах.

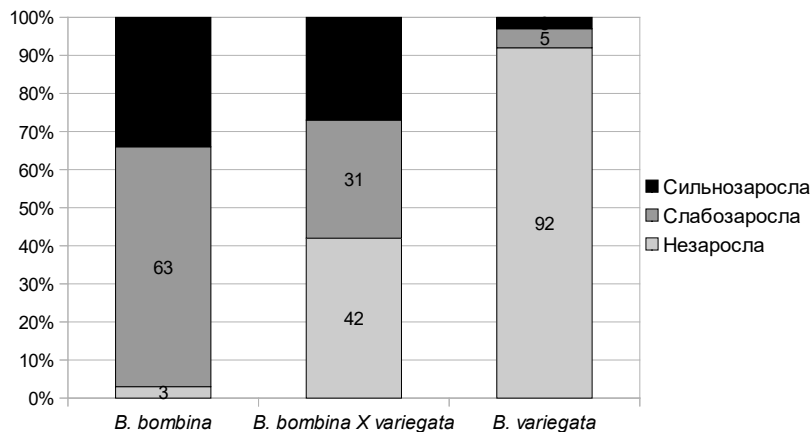


Рис. 4. Розподіл кумок за наявністю водної рослинності у водоймі

У літературі є дані про те, що водяна рослинність необхідна кумкам для відкладання ікри, яку вони прикріплюють до підводних частин рослини [4]. Наші спостереження підтверджують ці дані. Більше того, вважаємо, що водяна рослинність слугує як захист і від ймовірних хижаків, і від сильних коливань води. Пosposterігавши тривалий час за поведінкою самців звичайної кумки в період розмноження, можна стверджувати, що рослини у водоймі допомагають самцям триматися на поверхні води під час голосової активності. І часто це не лише зелена рослинність, а й різноманітні залишки минулорічних рослин (гілля дерев, очерет тощо).

Під час досліджень ми звернули увагу на походження водойм. Із рис. 5 можна бачити, що звичайна кумка надає перевагу природним водоймам, а гірська – водоймам антропогенного походження. Гібриди приблизно порівну трапляються у водоймах як природного, так і антропогенного походження.

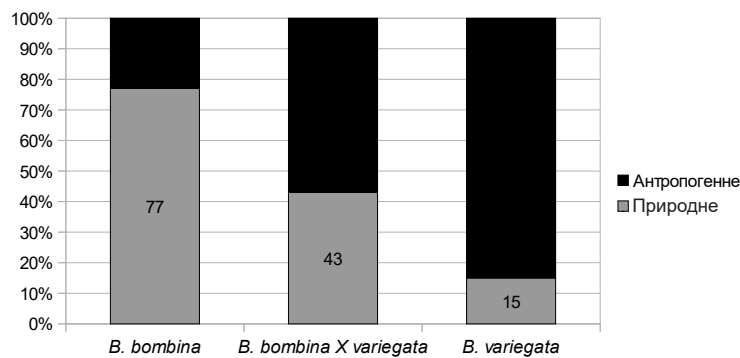


Рис. 5. Розподіл кумок у водоймах різного походження

Результати наших досліджень вказують також на те, що кумка звичайна трапляється переважно у великих за площею водоймах, а кумка гірська – у невеликих (рис. 6). Це, ймовірно, пов'язано з тим, що в гірській місцевості досліджуваного регіону дуже рідко трапляються великі водойми.

Гібридні форми кумок, як і у випадку з походженням водойм, за показником площі водойми однаковою мірою наближені як до звичайної кумки, так і до гірської кумки, адже розмір водойми, як свідчать наші результати, не має для них істотного значення.

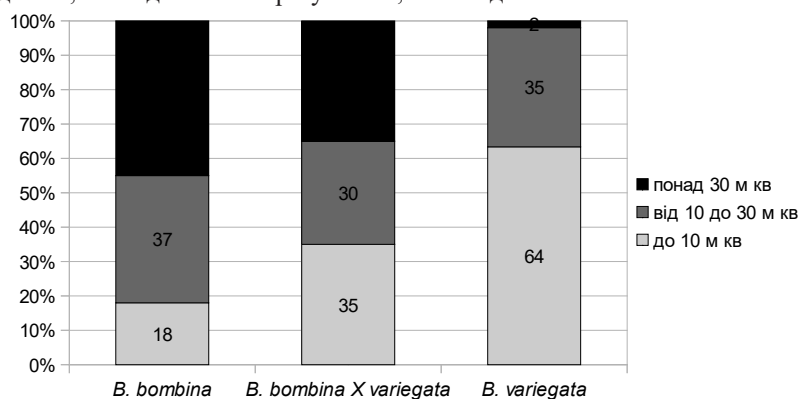


Рис. 6. Розподіл кумок за площею водойм, які вони населяють

Виявилось також, що прозорість води у водоймі теж має значення для просторового розподілу кумок.



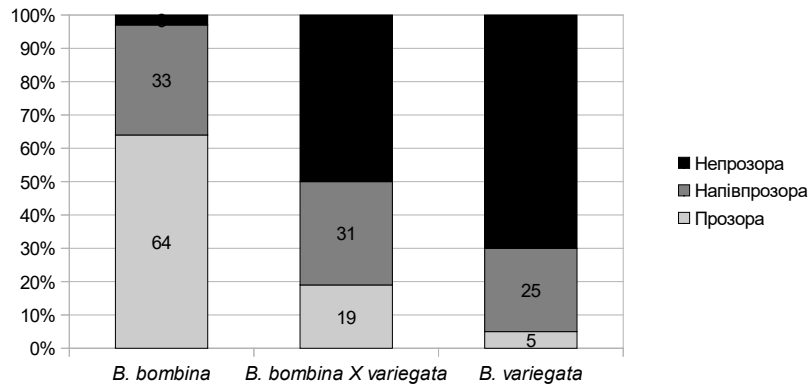


Рис. 7. Розподіл кумок за рівнем прозорості води у водоймах

Так, у ході досліджень було встановлено, що звичайна кумка надає перевагу водоймам із прозорою водою, гірська – поширена переважно в каламутних водоймах, а гібриди наявні у водоймах із різною прозорістю води, хоча найбільше їх трапляється у непрозорих водоймах, подібно до гірської кумки (рис. 7).

На підставі аналізу фенетичної мінливості кумок у гібридній зоні Північно-західного Передкарпаття і їхніх біотопних характеристик встановлено певні особливості оселищ батьківських видів кумок та їхніх гібридів.

Зокрема, виявили, що звичайна кумка надає перевагу великим природним водоймам. Гірська кумка, навпаки, переважно трапляється у невеликих водоймах антропогенного походження. Гібридні форми кумок надають перевагу озерам і автомобільним коліям, тобто тим типам водойм, які характерні для кожного з батьківських видів.

Встановлено, що звичайна кумка надає перевагу водоймам зі значною кількістю водної рослинності, у той час як гірська кумка існує, в основному, у водоймах, де водної рослинності немає; гібридна форма, яка має біотопні преференції, подібні до гірської кумки за цим критерієм, у більшості випадків трапляється у незарослих водоймах. Також з'ясовано, що звичайна кумка надає перевагу водоймам із прозорою водою, гірська – з непрозорою, а гібриди трохи частіше трапляються у непрозорих водоймах.

Наші дослідження підтвердили залежність існування від гіпсометричного чинника, того чи іншого виду кумки в регіоні північно-західного Передкарпаття. Одержані результати свідчать, що особини *B. bombina* поширені до висоти 319 м н.р.м., а особини *B. variegata* починають траплятися з 308 м н.р.м. й вище. Такий висотний розподіл підтверджує незначне перекривання ареалів батьківських видів кумок, що є достатньою умовою для появи гібридів *B. bombina x variegata*, які займають проміжне висотне положення поміж батьківськими видами (275–356 м н.р.м.). Слід звернути увагу на те, що саме такий розподіл кумок може бути зумовлений їхніми біотопними особливостями, адже просторовий і висотний розподіл досліджуваних локалітетів кумок вказує на їхні видові преференції.

Висловлюю подяку за допомогу в написанні статті канд. біол. наук Решетилу Остапові Степановичу та д-ру біол. наук Царику Йосипові Володимировичу.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Межжерин С. В., Морозов-Леонов С. Ю., Янчуков А. В. Характер генных интрогрессий в гибридной зоне *Bombina bombina* (L., 1761) и *Bombina variegata* (L., 1758) (Amphibia, Discoglossidae) Прикарпаття // Доп. НАН України. 2001. № 5. С. 161–164.

2. Полушина Н. А., Кушнірук В. О. Матеріали до батрахофауни Львівської області // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 1962. Вип. 1. С. 127–141.
3. Решетило О. С. Екологічні особливості та структура популяцій кумок (*Bombina*) в регіоні Українських Карпат: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Дніпропетровськ, 2001. 19 с.
4. Решетило О. С. Мінливість знічного індексу кумок (*Bombina*) // Вісн. зоол. 2000. Дод. № 14. С. 62–64.
5. Янчуков А. В., Морозов-Леонов С. Ю. Сравнительный анализ генетического состава гибридных популяций европейских жерлянок рода *Bombina* (Oken, 1816) из Украины и Хорватии // Цитология и генетика. 2002. 36. № 3. С. 36–40.
6. Arntzen J. W. Some hypotheses on postglacial migrations of the fire-bellied toad, *Bombina bombina* (Linnaeus) and the yellow-bellied toad, *Bombina variegata* (Linnaeus) // J. Biogeogr. 1978. Vol. 5. P. 339–345.
7. Bouleuger G. A. On two European Species of Bombinator // Proc. of the Zool. Sec. of London. 1886. S. 499–501, Taf. 50.
8. Hofman S., Szymura J. M. Rozmieszczenie kumaków, *Bombina* Oken, 1868 w Polsce // Przegl. Zool. 1998. Vol. 42. N 3–4. S. 171–185.
9. Horbulewicz L. Rozmieszczenie geograficzne kumaków i traszek na przestrzeni powiatów Sambor, Drohobycz i Stryj. – Die Verbreitung der Bombinator- und Triton-Arten im Bereiche der Bezirke Sambor, Drohobycz i Stryj (Klempolen) // Sciences Naturelles. Cracóv. 1927. S. 87–111.
10. Pracht A. Über Evolution und Systematik der Gattung *Bombina* // Herpetofauna. 1987. Vol. 9. N 48. S. 9–12.

Стаття: надійшла до редакції 31.10.16

доопрацьована 23.01.17

прийнята до друку 03.02.17

## BIOTOPE CHARACTERISTICS OF THE BELLIED-TOADS (*BOMBINA*) IN THE HYBRID ZONE OF NORTH-WEST PRE-CARPATHIANS

L. Vovnianko

Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: Vovnianko-Luba@i.ua

Natural hybridization of the fire-bellied toad (*Bombina bombina*) and the yellow-bellied toad (*Bombina variegata*) takes place in Western Ukraine. As a result, the hybrid zone has occurred, part of which stretches along North-West Pre-Carpathians. The research results have made it possible to establish the ecological peculiarities both hybrids and parental species of the Bellied-Toads concerning their habitat choice. To determine the Bellied-Toads individuals phenetic differences between the species were used. As a result, established taxonomic affiliation, the detailed habitat preferences of the Bellied-Toads were found out. The Fire-bellied Toad usually chooses large natural ponds with clear water and aquatic vegetation, the Yellow-Bellied Toad chooses small puddles of anthropogenic origin with muddy water and without aquatic vegetation; the hybrids are present in water reservoirs of different types preferring ones of anthropogenic origin mostly with muddy water and without aquatic vegetation.

**Keywords:** *Bombina bombina*, *Bombina variegata*, hybrid zone, habitats Pre-Carpathians

## ОСОБЛИВОСТІ ПОЗАКОРЕНЕВОГО НАДХОДЖЕННЯ $^{134}\text{Cs}$ У НАДЗЕМНУ ВЕГЕТАТИВНУ МАСУ ТА БУЛЬБИ КАРТОПЛІ

М. Вінічук<sup>1\*</sup>, К. Розен<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Житомирський державний технологічний університет  
вул. Черняхівського, 103, Житомир 10005, Україна

<sup>2</sup> Шведський університет сільськогосподарських наук  
7014, SE-75007, Уппсала, Швеція  
e-mail: mykhailo59@gmail.com

Показано, що у разі «мокрого» випадіння радіонукліда ( $^{134}\text{Cs}$ ) на вегетуючі рослини на початку вегетації (масові сходи – бутонізація) питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у бульбах картоплі на час збирання врожаю у середньому за три роки досліджень спостерігалася на рівні 12–130 Бк · кг<sup>-1</sup> протягом трьох років досліджень. При обприскуванні рослин у середині вегетації (цвітіння – початок формування бульб) питома активність радіонукліда в бульбах на час збирання урожаю виявилася найвищою і в середньому для трьох років коливалась у межах від 182 до 870 Бк · кг<sup>-1</sup>. Якщо радіонуклід випадав у другій половині вегетації (в'янення надземної маси рослин – дозрівання бульб), питома активність  $^{134}\text{Cs}$  при збиранні врожаю знову знизилася і була на рівні 70–310 Бк · кг<sup>-1</sup> протягом трьох років досліджень. Ще нижчі рівні питомої активності радіонукліда спостерігались у бульбі картоплі при обприскуванні рослин у другій половині серпня (закінчення росту – дозрівання бульб).

*Ключові слова:* радіоцезій-134, картопля, бульба, надземна маса рослин, «мокре» випадіння

Чорнобильська катастрофа у 1986 р. і ядерна аварія на АЕС Фукусіма-1 у 2011 р. засвідчують, що подібні випадки, в результаті яких великі площі земель забруднюються радіоактивними речовинами, ймовірні і в майбутньому. Забруднення радіонуклідами можуть зазнавати також землі сільськогосподарських угідь, зокрема в період вегетації рослин, що унеможливило використання останніх як продовольчих культур [1]. За час, що минув після аварії на Чорнобильській АЕС та у Фукусімі, було зібрано велику кількість даних, які дають змогу оцінити перехід радіонуклідів із ґрунту в рослини, але інформації про забруднення сільськогосподарських культур у результаті випадіння радіоактивних опадів безпосередньо у вегетаційний період недостатньо. Рівень питомої активності радіонуклідів у продуктах рослинництва значною мірою визначається тим, як забруднені радіонуклідами продукти споживає людина (продукти харчування, корм для тварин або в переробленому вигляді).

Якщо випадіння відбувається наприкінці періоду вегетації, тобто в період дозрівання врожаю, то шлях радіонуклідів до людини може бути коротким, особливо коли останні безпосередньо перехоплюються надземними частинами рослин, зокрема тими, що можуть бути спожиті як продукти харчування. Відомо, що рівень забруднення сільськогосподарських культур радіонуклідами під час вегетації залежить від цілої низки факторів, у тому числі і пори року, під час якої відбувається осідання радіонуклідів [3]. Серед інших факторів важливими є площа листової поверхні, величина наземної біомаси та фази росту рослин [12].

Також відомо, що зі всієї кількості радіоцезію (у даному випадку  $^{137}\text{Cs}$ ), який випав на листову поверхню рослин під час вегетації картоплі, до бульб протягом одного місяця

може перейти понад 40 % [14]. Рівень забруднення бульб картоплі майбутнього врожаю також значною мірою залежить від фази росту і розвитку рослини на час випадіння радіоактивного  $^{134}\text{Cs}$  [9]. Картопля, як правило, характеризується відносно низькими значеннями коефіцієнтів переходу радіоцезію, порівняно з іншими продовольчими культурами [16]. Разом з тим, частка цього продукту в раціоні харчування досить висока. Так, в Україні споживання картоплі в середньому становить 139,8 кг на людину протягом року [7]. Відомості про те, як залежить рівень забруднення сільськогосподарських культур від фенологічної фази їхнього росту і розвитку на час випадіння радіонуклідів, будуть корисними для прогнозування можливого використання врожаю даної культури як продукту харчування. На сьогодні відомі лише окремі публікації з експериментальними даними [9, 15, 17], що показують, яким чином рівні забруднення надземної маси рослин і бульб картоплі радіоцезієм залежать від того, в якій фазі росту й розвитку радіонуклід надходить на поверхню рослин. У ході експерименту, проведеного протягом трьох років у польових умовах, було досліджено, яким чином  $^{134}\text{Cs}$ , нанесений на листову поверхню рослин картоплі шляхом обприскування вегетуючих рослин у різні фази росту й розвитку водним розчином радіонукліда («мокре» випадіння), переходить із листя у бульби картоплі.

Метою дослідження було встановити фенологічну фазу росту й розвитку рослин картоплі, при якій у разі «мокрого» випадіння  $^{134}\text{Cs}$  рівень надходження цього радіонукліда в бульби картоплі буде найвищим. Наша вихідна гіпотеза полягала у тому, що забруднення бульб картоплі  $^{134}\text{Cs}$  є найвищим, коли рослини зазнають радіонуклідного забруднення у формі «мокрого» випадіння на початку фази цвітіння, тобто у період інтенсивного росту надземної біомаси (фаза III) і протягом фази IV, тобто інтенсивного приросту маси бульб. Крім того, було досліджено, яким чином терміни збирання врожаю картоплі впливають на рівень забруднення бульб радіоцезієм. Також було показано, яка частина активності  $^{134}\text{Cs}$  переходить до бульб у відсотках від загальної активності радіонукліда, що надійшла на одиницю площі посівів. Отримані дані можуть бути використані для прогнозування імовірних рівнів забруднення цезієм картоплі у разі «мокрого» випадіння радіонуклідів.

#### Матеріали та методи

Вегетуючі рослини картоплі обприскували розчином  $^{134}\text{Cs}$  у різні фенологічні фази росту і розвитку впродовж трьох вегетаційних періодів – 1990-го, 1991-го та 1992-го років (зазначені тут як протягом 1-го, 2-го та 3-го років) на дослідній станції поблизу м. Уппсала.

Дослід проводили за схемою, що наведена у табл. 1. Мінеральні добрива вносили з розрахунку N96, P42 K78 кг/га навесні кожного року [5, 6]. Ранньостиглий сорт картоплі «Марія» висаджували 30, 29 і 25 травня у 1-й, 2-й і 3-й рік відповідно з розрахунку 3 бульби картоплі по діагоналі в кожній із чотирьох мікроділянок розміром 0,25 м<sup>2</sup>, об'єднаних у блоки щороку. Після появи сходів рослини картоплі кожного блоку обприскували розчином  $^{134}\text{Cs}$  у той же день, згідно з рандомізованою блок-схемою. Ґрунт дослідної ділянки супіщаний, сходи рослин на поверхні ґрунту з'являлися через 3–4 тижні після посадки. Опадів за період вегетації випадало 181, 236 і 220 мм відповідно у 1-й, 2-й і 3-й рік. Середня температура повітря протягом вегетаційного періоду для трьох років становила 10 °C у травні, 15 °C у червні та 16 °C у серпні.

Перше обприскування проводили на момент появи перших 2–4 листків, подальші – відповідно до настання фенологічних фаз росту рослин. Водний розчин готували шляхом розбавлення радіонукліда ( $^{134}\text{Cs}$ ) у 0,1 н HCl, з подальшим розведенням водою до об'єму 0,25 л. Обприскування рослин проводили шляхом дощування з розрахунку 1 мм розчину на кожну ділянку, що забезпечувало таку кількість  $^{134}\text{Cs}$  на 1 м<sup>2</sup> площі, кБк: 1-й рік (перше обприскування, 27/06) – 25,36, друге, третє і четвєрте – 5,72 кожне; 2-й рік (перше об-

прискування, 19/06), друге, третє і четверте – 19,55 кожне; 3-й рік (перше обприскування, 11/06) – 19,55, друге та третє – 13,03 кожне (табл. 1).

Таблиця 1

Схема досліду, дати обприскування та кількість розчину  $^{134}\text{Cs}$ , кБк · м<sup>2</sup>

Рік	Обприскування			
	перше	друге	третє	четверте
1-й	<u>27/06*</u>	<u>12/07</u>	<u>23/07</u>	<u>07/08</u>
	25,36	5,72	5,72	5,72
2-й	<u>19/06</u>	<u>05/07</u>	<u>22/07</u>	<u>05/08</u>
	19,55	13,03	13,03	13,03
3-й	<u>11/06</u>	<u>25/06</u>	<u>15/07</u>	<u>05/08</u>
	19,55	13,03	13,03	13,03

**Примітка:** \* у чисельнику – дата обприскування, у знаменнику – кількість розчину  $^{134}\text{Cs}$

Зразки надземної маси рослин (листки та стебла) відбирали шляхом зрізання рослин на висоті 5 см над поверхнею ґрунту, а бульби картоплі (після їхньої появи) в той же день, коли і відбір проб листя. Перші зразки надземної маси рослин відбирали 29/06 (через 2 дні після обприскування) в 1-й рік, 23/07 (через 34 дні після обприскування) у 2-й рік і 26/06 (через 15 днів після обприскування) у 3-й рік. Перші зразки бульби були зібрані 08/08 (через 42 дні після обприскування) в 1-й рік, 23/07 (через 34 дні після обприскування) у 2-й рік і 20/07 (через 37 днів після обприскування) у 3-й рік.

Фенологічні фази росту і розвитку картоплі відповідно до [5] були такі: фаза I (кінець травня – початок червня, період між висаджуванням і появою перших сходів); фаза II (друга половина червня, масові сходи, формування листя, стебел і кореневої системи, бутонізація); фаза III (кінець червня – перша половина липня, цвітіння, початок формування бульб); фаза IV (кінець липня – початок серпня, наростання бульб); фаза V (серпень, в'янення надземної маси рослин, дозрівання бульб). Протягом 1-го та 2-го років зразки надземної маси рослин і бульб відбирали з двох або чотирьох повторностей, а протягом 3-го року – з чотирьох повторностей. Щороку в досліді було 4 блок-схеми. Зразки надземної маси рослин та бульб доводили до сухої ваги (с.в.) в сушильній шафі при температурі  $\approx 80$  °C протягом  $\approx$  тижня. Перед сушінням бульби картоплі розрізали на пластинки завтовшки  $\approx 2$  мм. Висушені зразки тонко подрібнювали і просівали крізь сито з розмірами отворів 2 мм.

Визначення активності  $^{134}\text{Cs}$  у зразках проводили з використанням сцинтиляційного (NaI) авто-гамма-детектора та напівпровідникового (HPGe) детектора. Отримані дані перерахували, взявши до уваги період напіврозпаду на дату відбору проб. Статистичну обробку даних проводили з використанням пакета програмного забезпечення Minitab Minitab® 16.2.4.

Коефіцієнт переходу радіонукліда (КП) розраховували як відношення питомої активності радіонукліда в рослинному матеріалі (Бк · кг<sup>-1</sup>) до щільності забруднення ґрунту після обприскування (Бк · м<sup>-2</sup>) [11]. Для оцінки переходу радіонукліда з надземної маси рослин до бульб використовували таке співвідношення:  $^{134}\text{Cs}$  у надземній масі рослин (Бк · м<sup>-2</sup>) /  $^{134}\text{Cs}$  у бульбі (Бк · м<sup>-2</sup>), м<sup>2</sup> (кг<sup>-1</sup>).

### Результати і їхнє обговорення

Загалом питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у зразках надземної маси рослин картоплі, які відбирали у перші кілька днів після обприскування, значно перевищувала питому активність  $^{134}\text{Cs}$  у зразках, які відбирали у подальші фенологічні фази росту і розвитку рослин. Питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у надземній масі рослин, які відбирали через деякий час після обпри-

скування, помітно знижувалась і залишалася на відносно низькому рівні. При випадінні радіонукліда в середині вегетації (обприскування у період 15–24/07, фаза III, цвітіння) питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у надземній масі рослин виявилася найвищою і досягала значень 8,5–8,7  $\text{кБк}\cdot\text{кг}^{-1}$  (табл. 2). При обприскуванні рослин картоплі на пізніших фазах росту і розвитку (серпень, фаза IV–V, наростання та дозрівання бульб) питома активність надземної маси рослин за  $^{134}\text{Cs}$  також була високою (12,6–21,1  $\text{кБк}\cdot\text{кг}^{-1}$ ). Це пояснюється відносно коротким проміжком часу, що минув від обприскування до відбору зразків.

Таблиця 2

Питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у надземній масі рослин картоплі,  $\text{кБк}\cdot\text{кг}^{-1}$  с.в.

Рік, дата збирання урожаю / відбирання зразків	Обприскування, дата			
	перше	друге	третє	четверте
1-й	27/06	12/07	23/07	07/08
08/08	4,89±0,13	8,49±1,60	8,66±1,70	9,86±0,71
29/08	5,69±0,44	10,8±6,9	8,51±1,40	10,6±3,30
12/09	–	–	–	–
2-й	19/06	05/07	22/07	05/08
06/08	0,55±0,38	3,66±0,91	8,57±1,43	21,1±0,66
16/08	0,37±0,22	2,52±0,38	–	12,6±1,37
27/08	–	–	5,07±0,62	8,17±0,10
3-й	11/06	25/06	15/07	05/08
16/07	0,17±0,07	0,36±0,12	0,21±0,08	–
06/08	0,12±0,07	0,27±0,05	0,66±0,20	0,10±0,06
21/08	0,11±0,08	0,24±0,04	0,84±0,16	–

Поступове зниження питомої активності  $^{134}\text{Cs}$  у надземній частині рослин спостерігали, ймовірно, за рахунок втрати радіоактивності з поверхні листя через дію таких природних факторів як вітер і дощ. У результаті частина нанесеного на поверхню листя  $^{134}\text{Cs}$ , ймовірно, надходила безпосередньо у ґрунт. Зниження питомої активності  $^{134}\text{Cs}$  у надземній масі рослин з часом також, очевидно, відбувалося за рахунок збільшення фітомаси рослин і, відповідно, «біологічного» розбавлення радіонукліда.

Підвищення концентрації  $^{134}\text{Cs}$  у надземній масі рослин, яке спостерігалось у всі терміни відбору зразків при обприскуванні рослин картоплі у фазах II і III, могло бути пов'язане зі збільшенням листової поверхні [2, 13]. Для утворення бульб картоплі необхідні вуглеводи, що утворюються у процесі фотосинтезу, інтенсивність якого безпосередньо пов'язана з розвитком листової поверхні [4, 10]. У період максимального розвитку листової поверхні остання перехоплює значну частину радіоактивності, в результаті чого питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у надземній масі рослин відповідно зростає.

Висока питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у надземній масі рослин картоплі при обприскуванні на більш пізніх фазах росту й розвитку (фаза IV, 05–15/08 та фаза V, 16–28/08) може також пояснюватися зменшенням інтенсивності надходження  $^{134}\text{Cs}$  до бульб. Ріст і розвиток бульб у цей період сповільнюється і, зрештою, зупиняється, а відповідно і призупиняється транспорт речовин із листків до бульб. Крім того, при обприскуванні на більш пізніх фазах росту й розвитку значно скорочується проміжок часу між випадінням радіонукліда та збиранням урожаю.

Величини питомої активності  $^{134}\text{Cs}$  у бульбах картоплі варіювали залежно від того, у яку фазу росту й розвитку проводили обприскування рослин, і в цілому виявилися на 1–2 порядки нижчими, ніж у надземній масі рослин. Так, у 1-й рік дослідів питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у бульбах варіювала у межах від 29 до 180  $\text{Бк}\cdot\text{кг}^{-1}$ , у 2-й рік – у межах від 7 до 870  $\text{Бк}\cdot\text{кг}^{-1}$ , а у 3-й рік – 104–860  $\text{Бк}\cdot\text{кг}^{-1}$  (табл. 3). Результати попередніх досліджень свідчать, що питома активність  $^{137}\text{Cs}$  у бульбах картоплі при кореновому надходженні радіонукліда

із ґрунту в рослини, як правило, невисока – у постчорнобильський період (1986–2005 рр.) вона варіювала в межах  $0,1\text{--}2,0 \text{ Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$  [16], або  $0,1\text{--}1,1 \text{ Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$  [8].

Таблиця 3

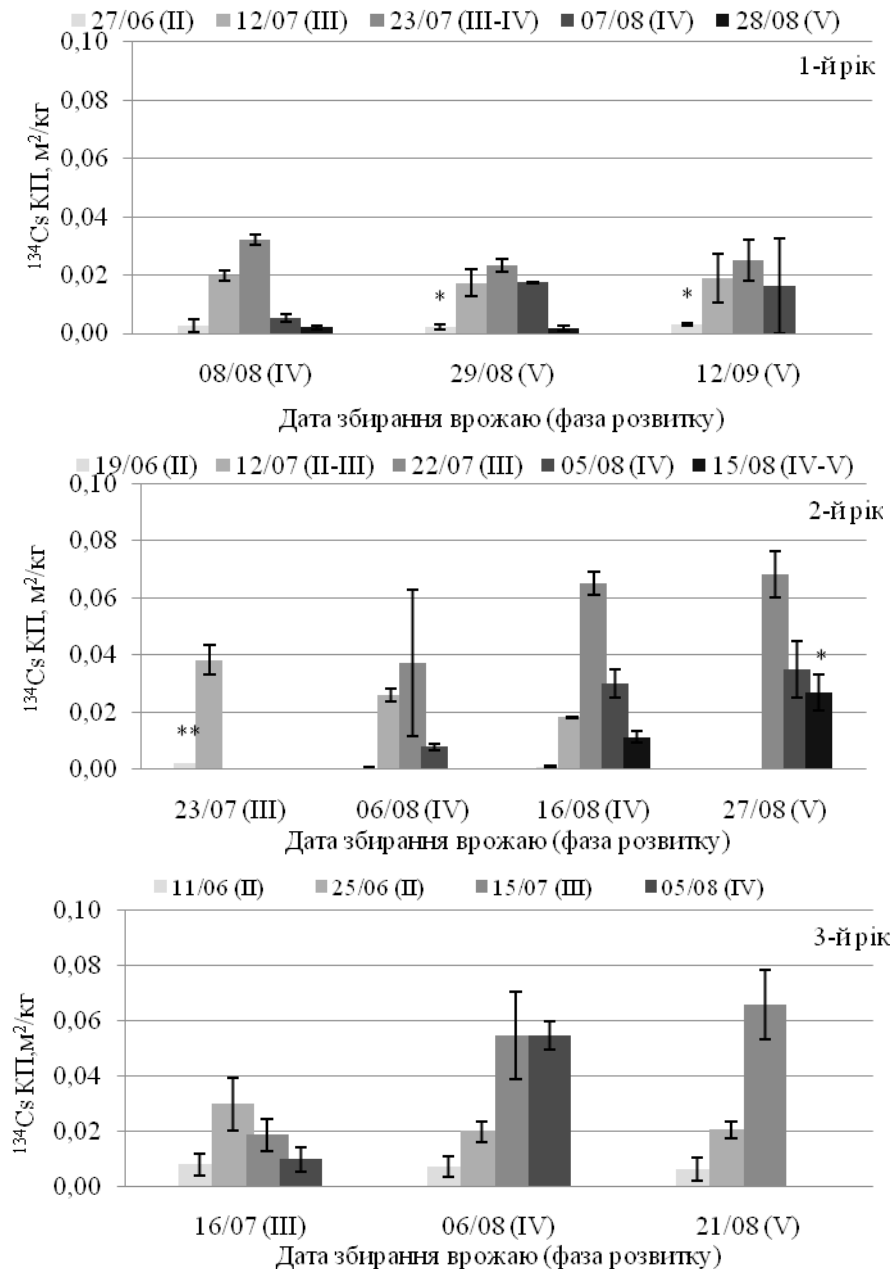
Питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у бульбах картоплі,  $\text{Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$  с.в.

Рік, дата збирання урожаю / відбирання зразків	Обприскування			
	перше	друге	третє	четверте
1-й	27/06	12/07	23/07	07/08
08/08	61,5±53	110±10	182±10	29,5±8
29/08	55,0±19	94,5±25	129±13	98,0±1
12/09	70,0±15	102±45	137±37	89,5±1
2-й	19/06	05/07	22/07	05/08
06/08	7,50±9,2	330±27	869±265	102±17
16/08	17,5±9,2	231±28	829±52	388±65
27/08	–	–	856±103	445±126
3-й	11/06	25/06	15/07	05/08
16/07	169±72	362±122	214±75	–
06/08	119±72	268±47	659±203	104±58
21/08	109±77	238±38	842±156	–

При першому обприскуванні рослин картоплі (після появи сходів) навіть за високих рівнів забруднення надземної маси рослин відносно невелика частина радіонукліда надходила у бульби картоплі. З часом питома активність радіонукліда в надземній масі рослин зменшувалась, тоді як у бульбах картоплі він накопичувався і його питома активність тут зростала. Очевидно, що транслокація радіонукліда з надземної маси рослин до бульб є відносно швидким процесом. Так, при обприскуванні рослин на ранніх фазах їхнього росту й розвитку (фаза II, 11–27/06, формування листя, стебел і кореневої системи, бутонізація), питома активність  $^{134}\text{Cs}$  у бульбах картоплі в середньому для різних термінів збирання урожаю становила  $\approx 60 \text{ Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$  у 1-й рік,  $\approx 12 \text{ Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$  у 2-й рік і  $\approx 130 \text{ Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$  у 3-й рік (табл. 3). При обприскуванні рослин у більш пізні фенологічні фази питома активність бульб картоплі за  $^{134}\text{Cs}$  зростала. Так, при обприскуванні рослин у фазу цвітіння (фаза III, 15–23/07) середній рівень питомої активності  $^{134}\text{Cs}$  у бульбах в середньому для різних термінів збирання урожаю був найвищим для 2-го і 3-го року – 870 і 840  $\text{Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$ , відповідно, і трохи нижчим – 182  $\text{Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$  для 1-го року дослідження. Коли випадіння радіонукліда на вегетуючі рослини мало місце приблизно на 2 тижні пізніше (фаза IV, інтенсивний приріст бульб, 05–07/08), рівень питомої активності  $^{134}\text{Cs}$  у бульбах картоплі в середньому для різних термінів збирання урожаю виявився приблизно удвічі нижчим і становив  $\approx 70$ ,  $\approx 310$  і  $\approx 100 \text{ Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$  для 1-го, 2-го і 3-го років відповідно. Ще нижчу активність радіонукліда спостерігали у бульбах картоплі, якщо випадіння радіонукліда мало місце у другій половині серпня (кінець IV фази – початок V фази).

Коефіцієнти переходу  $^{134}\text{Cs}$  у випадку «мокрого» його випадіння для бульб представлені на рисунку. Значення КП  $^{134}\text{Cs}$  для надземної маси рослин варіювали в діапазоні від 0,17 до 1,98 у 1-му році, від 0,02 до 1,67 у 2-му році та від 0,03 до 2,13 у 3-му році. Значення КП  $^{134}\text{Cs}$  для бульб коливалися відповідно між 0,0019 і 0,03 у 1-му році, між 0,0004 і 0,07 у 2-му році і між 0,006 і 0,07 у 3-му році. Отже, величини КП  $^{134}\text{Cs}$  для надземної фітомаси рослин картоплі у разі «мокрого» випадіння радіонукліда є на 1-2 порядки вищі, ніж КП  $^{134}\text{Cs}$  для бульб, залежно від дати випадіння радіонукліда та дати відбору зразків (збирання врожаю). При випадінні радіонукліда на початку росту і розвитку рослин (фаза II, 11–27/06) усереднені величини КП  $^{134}\text{Cs}$  для надземної маси рослин для всіх дат відбору зразків виявилися найнижчими: 0,28, 0,03 і 0,07 для 1-го, 2-го і 3-го року відповідно. Усереднені величини КП  $^{134}\text{Cs}$  для бульб картоплі при обприскуванні рослин у цей же період

для всіх дат збирання урожаю також виявилися найнижчими: 0,003, 0,001 і 0,007 для 1-го, 2-го і 3-го років відповідно (див. рисунок).



Коефіцієнти переходу ( $^{134}\text{Cs}$  КП,  $\text{m}^2/\text{kg}$ ) у бульби картоплі залежно від фенологічної фази розвитку рослин на час їх обприскування і термінів відбору зразків (збирання врожаю),  $\text{M}\pm\text{m}$ .  $n=2$ ,  $*n=4$ ,  $**n=1$ , для 3-го року  $n=4$ . Фенологічні фази розвитку картоплі: II – масові сходи, бутонізація; III – початок цвітіння; IV – наростання маси бульб; V – відмирання надземної маси рослин і дозрівання бульб



Найвищі значення КП  $^{134}\text{Cs}$  для бульб спостерігали при обприскуванні вегетуючих рослин картоплі на більш пізніх стадіях їхнього росту і розвитку та на початкових стадіях формування бульб (фаза III, початок формування бульб і фаза IV, наростання бульб, 15/07 – 07/08). Так, при обприскуванні рослин розчином радіонукліда у ці фази значення КП  $^{134}\text{Cs}$  становили 1,56, 0,89 і 1,21 для листя і 0,02, 0,05 і 0,04 для бульб у 1-й, 2-й і 3-й рік досліджу відповідно. У фазі III (цвітіння, початок формування бульб) кінчики підземних стolonів починають набухати, на кінцях яких утворюються нові бульби, в той час як фаза IV (наростання бульб) має вирішальне значення як для величини урожаю бульб, так і для їхньої якості. При обприскуванні рослин розчином радіонукліда у другій половині вегетації (16–28/08, фаза V, в'янення надземної маси рослин, дозрівання бульб) перехід радіонукліда з надземної частини до бульб сповільнюється і питома активність останніх знижується. Так, КП  $^{134}\text{Cs}$  для бульб при обприскуванні рослин картоплі у цю фазу варіювали у межах від 0,002 до 0,023 1-й і 2-й рік дослідження відповідно залежно від дати відбору зразків (збирання врожаю) картоплі.

На рис. 1 показано узагальнений результат щодо впливу обприскування вегетуючих рослин картоплі розчином радіонукліда у різні фенологічні фази росту й розвитку, а також впливу термінів відбору зразків (збору врожаю) картоплі на величину КП  $^{134}\text{Cs}$  в бульби. З метою отримання дозрілих бульб картоплі, зразки відбирали переважно в серпні (фаза IV та V) кожного року. Як видно з рисунка, спостерігаються чіткі максимуми значень КП  $^{134}\text{Cs}$  кожного року досліджень, які відповідають термінам проведення обприскування у другій половині липня (13–23/07). Загалом, ці дати збігаються з третьою фенологічною фазою росту й розвитку рослин – цвітіння та початок формування бульб картоплі. Обприскування рослин картоплі розчином радіонукліда на початкових фазах вегетації (фаза II, масові сходи, бутонізація) помітно зменшувало перехід  $^{134}\text{Cs}$  у бульби картоплі та на момент збирання врожаю КП  $^{134}\text{Cs}$  виявились у 2–3 рази нижчими ніж при обприскуванні у фазу бутонізації. При «мокрому» випадінні радіонукліда на більш пізніх стадіях росту й розвитку картоплі (фаза IV, інтенсивний ріст бульб) спостерігали ще помітніше зниження інтенсивності переходу радіоцезію з надземної маси рослин до бульб картоплі: величини КП  $^{134}\text{Cs}$  при цьому були приблизно у 4 рази нижчими, порівняно з обприскуванням у фазу бутонізації (фаза III).

Подібний ефект, хоча і менш виражений, спостерігався і для надземної маси рослин. Найвищі значення КП  $^{134}\text{Cs}$  спостерігали у зразках листя та стебел, які відбирали одночасно зі збиранням врожаю бульб у серпні (фаза IV і V). Високі значення КП  $^{134}\text{Cs}$  також спостерігали для надземної маси рослин у разі відбирання зразків у наступний день або у ближчі після обприскування дні. Зразки надземної маси рослин, які відбирали пізніше, характеризувалися нижчими значеннями КП  $^{134}\text{Cs}$ .

При «мокрому» випадінні  $^{134}\text{Cs}$  безпосередньо на вегетуючі рослини частину радіонукліда затримувала надземна фітомаса, поглинала листову поверхню й інші частини рослин. Частка  $^{134}\text{Cs}$ , що була затримана і надійшла у рослини, виражена у відсотках від загальної активності радіонукліда, що надійшла в результаті обприскування на одиницю площі (1 м<sup>2</sup>), варіювала залежно від термінів обприскування та фенологічних фаз від 0,2 до 16,3 % для листя і від 0,1 до 7,1 % для бульб. Отже, у разі «мокрого» випадіння  $^{134}\text{Cs}$  безпосередньо на вегетуючі рослини ними сумарно (надземна маса рослин + бульби) може бути перехоплено і затримано  $\approx 9$  % від загальної кількості радіонукліда, що надійшла на одиницю площі. Наведені оцінки є досить наближеними, оскільки вони значною мірою залежать від ступеня розвитку надземної фітомаси рослин. Хоча питома активність роз-

чину при першому обприскуванні у 2-й і 3-й рік була у 1,5 разу вищою ніж наступних, частка радіонукліда, що надійшла до рослин, була меншою, насамперед через недостатньо розвинену листову поверхню рослин (фаза I, 11–19/06, поява сходів). При подальших обприскуваннях рослин розчином із нижчою питомою активністю радіонукліда, але краще розвиненій надземній масі рослин остання затримувала більшу частку радіонукліда.

Також встановлено, що у разі «мокрого» випадіння  $^{134}\text{Cs}$  на вегетуючі рослини бульби можуть накопичувати у собі майже удвічі більше радіонукліда, ніж надземна маса рослин залежно від фази росту й розвитку рослин на час випадіння. КП  $^{134}\text{Cs}$  з надземної маси рослин до бульб у разі випадіння радіонукліда у кінці фази III (перша половина липня, цвітіння, початок формування бульб) і на початку фази IV (кінець липня, наростання бульб) варіювали у межах 1,5–2,3 для 2-го року та 1,3 у 3-му році. При обприскуванні рослин картоплі на початку (фаза II) або у кінці (фаза V) вегетації КП  $^{134}\text{Cs}$  з надземної маси рослин до бульб були значно нижчими і не перевищували 0,4–0,89 для 2-го і 3-го року.

Отже, рівень забруднення зрілих бульб картоплі за  $^{134}\text{Cs}$  у разі «мокрого» його випадіння на вегетуючі рослини визначається фенологічною фазою росту і розвитку, під час якої таке випадіння мало місце. Найвищі значення питомої активності  $^{134}\text{Cs}$  у бульбах спостерігаються при обприскуванні вегетуючих рослин у середині вегетаційного періоду (фаза III; цвітіння, початок формування бульб; кінець червня – перша половина липня). Результати показують, що при випадінні радіонукліда в період цвітіння та на початку формування бульб і при щільності радіоактивного забруднення ґрунту на рівні  $\approx 10 \text{ kBq} \cdot \text{m}^2$  за  $^{134}\text{Cs}$ , питома активність його у бульбах картоплі може досягати понад  $600 \text{ Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$ , що на порядок перевищує допустимі рівні його вмісту згідно з діючими нормами. При збиранні врожаю картоплі у більш пізні строки (друга половина серпня) питома активність бульб, як правило, вища ніж при викопуванні їх у ранні терміни (перша половина серпня). Для кількісної оцінки міграції радіонукліда у рослинах картоплі під час подібних експериментів у майбутньому слід враховувати біомасу як надземної частини рослин, так і бульб.

*Робота виконана на кафедрі ґрунтів і навколишнього середовища Шведського університетові сільськогосподарських наук. Автори висловлюють подяку Шведському університетові сільськогосподарських наук і Житомирському державному технологічному університету за фінансову підтримку цього проекту. Автори також вдячні професорові А. Eriksson і MS студентові М. Stenmark за цінні поради та допомогу.*

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Ansbaugh L., Simon L., Gordeev K. et al. Movement of radionuclides in terrestrial ecosystems by physical processes // Health Physics. 2002. Vol. 82. P. 669–679.*
2. *Bengtsson S., Eriksson E., Gårdenäs A. et al. Accumulation of wet-deposited radiocaesium and radiostrontium by spring oilseed rape (*Brassica napus* L.) and spring wheat (*Triticum aestivum* L.) // Environ. Pollut. 2013. Vol. 182. P. 335–342.*
3. *Bengtsson S., Gårdenäs A., Eriksson J. et al. Interception and retention of wet-deposited radiocaesium and radiostrontium on a ley mixture of grass and clover // Sci. Total Environ. 2014. Vol. 497–498. P. 412–419.*
4. *Bodin B., Svensson B. Potatis och potatisproduktion. Institutionen för växtodlingslära, SLU, Uppsala. (In Swedish). 1996. Pp. 1–127.*
5. *Eriksson Å., Haak E., Rosén K. Retention of simulated fallout nuclides in agricultural crops. I. Experiments on ley. Department of Radioecology, Report SLU-REK-80. Uppsala. 1998a. Pp. 1–32.*
6. *Eriksson Å., Haak E., Rosén K. Retention of simulated fallout nuclides in agricultural crops. II. Deposition of Cs and Sr on grain crops. Department of Radioecology. Report SLU-REK-81, Uppsala. 1998b. pp. 136.*

7. *FAO*. Electronic resource: <http://faostat3.fao.org/download/FB/CC/E>
8. *Franić Z., Petrinec B., Marović G.* Radiocaesium Activity Concentrations in Potatoes in Croatia after the Chernobyl Accident and Dose Assessment // *J. Environ. Sci. Heal. B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 2007. Vol. 42(2). P. 211–217.
9. *Gerdung S., Pöllot M., Fischer P.* et al. Contamination of wheat, rye and potatoes by foliar application of  $^{134}\text{Cs}$  // *J. Radioanal. Nucl. Ch.* 1999. Vol. 240(2). P. 451–454.
10. *Harris P.* The Potato Crop. The Scientific Basis for Improvement. Ed. P. M. Harris. London: Chapman and Hall. 1978. Pp. 730.
11. *IAEA*. Handbook of Parameter Values for the Prediction of Radionuclide Transfer in Terrestrial and Freshwater Environments // *Technical Reports Series, No. 472*. Vienna. 2010. 194 pp.
12. *Kinnersley R., Goddard A., Minski M., Shaw G.* Interception of caesium-contaminated rain by vegetation // *Atmos. Environ.* 1997. Vol. 31. 1137–1145.
13. *Pröhl G.* Interception of dry and wet deposited radionuclides by vegetation // *J. Environ. Radioactiv.* 2009. Vol. 100. P. 675–682.
14. *Oestling O., Kopp P., Burkart W.* Foliar uptake of cesium, iodine and strontium and their transfer to the edible parts of beans, potatoes and radishes // *Int. J. Radiat. Appl. & Inst. C. Radiation Physics and Chemistry*. 1989. Vol. 33(6). P. 551–554.
15. *Rosén K., Vinichuk M.* Interception and transfer of wet-deposited  $^{134}\text{Cs}$  to potato foliage and tubers // *J. Environ. Radioact.* 2016. Vol. 151(1). P. 224–232.
16. *Tsukada H., Nakamura Y.* Transfer of  $^{137}\text{Cs}$  and stable Cs from soil to potato in agricultural fields // *Sci. Total Environ.* 1999. Vol. 228(2–3). P. 111–120.
17. *Voigt G., Pröhl G., Müller H.* Experiments on the seasonality of the cesium translocation in cereals, potatoes and vegetables // *Radiat. Environ. Bioph.* 1991. Vol. 30(4). P. 295–303.

*Стаття: надійшла до редакції 03.10.16*

*доопрацьована 03.02.17*

*прийнята до друку 22.02.17*

## FOLIAR UPTAKE OF $^{134}\text{Cs}$ BY POTATO FOLIAGE AND TUBERS

**M. Vinichuk<sup>1</sup>, K. Rosén<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Zhytomyr State Technological University  
103, Chernyakhovsky St., Zhytomyr 10005, Ukraine*

<sup>2</sup>*Swedish University of Agricultural Sciences  
SLU, Box 7014, SE-75007, Uppsala, Sweden  
e-mail: mykhailo59@gmail.com*

Application of the radionuclide ( $^{134}\text{Cs}$ ) early in the growing season (growth stage II; plant establishment) resulted in low  $^{134}\text{Cs}$  activity concentration in potato tubers across sampling occasions (range 12–130 Bq · kg<sup>-1</sup> dry weight (D.W.) for 3 years). Following radionuclide deposition in the middle of the growing season (growth stage III; tuber initiation),  $^{134}\text{Cs}$  activity concentration in tubers across sampling occasions was found to be highest (range 182–870 Bq · kg<sup>-1</sup> D.W. for 3 years). When the radionuclide was sprayed on at later stages (growth stage IV = tuber bulking),  $^{134}\text{Cs}$  activity concentrations in tubers across sampling dates decreased (range 70–310 Bq · kg<sup>-1</sup> D.W. for 3 years). Deposition in the second half of August (late growth stage, tuber maturation) resulted in yet lower  $^{134}\text{Cs}$  activity concentration in tubers.

*Keywords:* radiocaesium, potatoes, foliage, tubers, «wet» deposition

**ТАКСОНОМІЯ ТА ЕКОЛОГО-МОРФОЛОГІЧНА  
ХАРАКТЕРИСТИКА РОДУ *GRAPTOLEBERIS* (SARS, 1862)  
(*CLADOCERA: ANOMOPODA: CHYDORIDAE*) УКРАЇНСЬКОГО РОЗТОЧЧЯ**

**О. Іванець**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: oleh\_ivanets@ukr.net*

На основі аналізу літературних джерел і власних даних подано таксономію, синоніміку й еколого-морфологічну характеристику роду *Graptoleberis* Українського Розточчя. Рід *Graptoleberis* належить до невеликих водяних ракоподібних, що входять до родини *Chydoridae*. *Graptoleberis* – важливий компонент трофічних ланцюгів прісних вод, відзначається високою поліморфністю і є важливим компонентом зоопланктону. Основою роботи слугували 287 проб, зібраних протягом 2008–2015 років на Українському Розточчі. Досліджено 138 особин роду *Graptoleberis*. За літературними даними у таксоні *Graptoleberis testudinaria* (Fischer, 1851) виділено 6 підвидів. Припускається, що *G. testudinaria* не тільки є комплексом підвидів, але і включає окремі види (*G. testudinaria* (Fischer, 1848) і *G. pannonica* (Daday, 1903)). В умовах Українського Розточчя за період досліджень зареєстрований підвид *Graptoleberis t. testudinaria* (Fischer, 1851). Подано морфологічні характеристики *Graptoleberis*. За числом видів у класифікації рід *Graptoleberis* становить 2 %. У родині *Chydoridae* значимість роду зростає і становить 6 %. У водоймах Українського Розточчя популяції *G. t. testudinaria* (Fischer, 1851) трапляються, насамперед, у прибережній зоні. Життєвий цикл відзначається моноциклією, особини з'являються у водоймах навесні. Завершення життєвого циклу спостерігається в кінці жовтня – листопаді.

*Ключові слова: Graptoleberis, Chydoridae, зоопланктон, Українське Розточчя*

У налагодженні й оптимізації взаємодій у природоохоронних зонах доквілля відповідно до Водної Рамкової Директиви ЄС (Directive 2000/60/EC) важливе місце займає гідроекологічний моніторинг, основою якого є дослідження фауністичних характеристик гідробіоценозів.

Транскордонний регіон Розточчя відіграє важливу роль у визначенні закономірностей функціонування еталонних гідроекосистем центральної та східної Європи, оскільки через його територію проходить частина Головного європейського вододілу. На теренах Розточчя створений біосферний резерват ЮНЕСКО (Biosphere Reserves) «Розточчя».

Рід *Graptoleberis* відзначається значною морфоекологічною пластичністю і займає важливе місце у формуванні фітофільних зоопланктоценозів. Структурно-функціональні характеристики популяцій, морфологічні критерії, які відображають адаптивні можливості, є важливою складовою у дослідженні типології водойм, вивченні факторів структурування гідробіоценозів унаслідок впливу антропогенних і природних екологічних чинників [4, 14, 18, 21].

Дані щодо внутрішньовидової таксономії роду *Graptoleberis*, які лежать в основі ідентифікації варієтетів та підвидів і визначають аналітичні аспекти гідроекологічного

моніторингу, неоднозначні. Вони розпоршені у науковій літературі, потребують узагальнення та критичного підходу з позицій сучасності.

Метою роботи було упорядкувати, узагальнити і проаналізувати дані щодо таксономії та синоніміки роду *Graptoleberis*, подати морфоекологічну характеристику *Graptoleberis* Українського Розточчя і визначити подальші перспективні напрями досліджень цього таксону гіллястовусих раків.

### Матеріали та методи

Матеріал (287 проб) відбирали в гідроценозах Українського Розточчя протягом 2008–2015 років загальноприйнятими в гідробиології методами [24]. Дослідження проводили на живому і фіксованому матеріалі. Виміри морфологічних параметрів проводили за методикою авторів: Р. Шрамек-Гушек, М. Страшкраба, Й. Бртек [22].

Схематичне зображення досліджених параметрів і перелік проведених вимірів показано на рис. 1. Вимірювали карапакс гіллястовусих раків і їхній постабдомен, який відіграє важливу роль в очищенні фільтрувального апарату й дихальних придатків і є видоспецифічним.

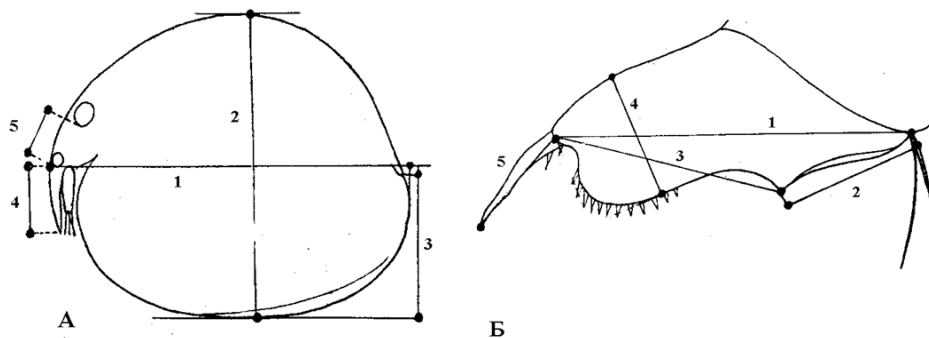


Рис. 1. Схема морфологічних вимірів *Chydoridae* [22]. А – Вимірювання карапакса: 1 – Ltc (Longitudo totalis corporis) – Максимальна довжина карапакса; 2 – Asc (Altitudo carapacis maxima) – Максимальна ширина карапакса; 3 – Asp (Altitudo carapacis posterior) – Висота заднього краю карапакса; 4 – Do1 (Distancia oculi 1.) – Віддаль від переднього краю науплієвого ока до кінця рострума; 5 – Do2 (Distancia oculi 2.) – Віддаль від переднього краю науплієвого ока до переднього краю складного ока. Б – Вимірювання постабдомена: 1 – Lpt (Longitudo totalis postabdominis) – Максимальна довжина постабдомена; 2 – Lppp (Longitudo postabdominis proximae partis) – Довжина проксимальної частини постабдомена; 3 – Lpdp (Longitudo postabdominis distalis partis) – Довжина дистальної частини постабдомена; 4 – Amp (Altitudo maxima postabdominis) – Максимальна висота постабдомена; 5 – Lsmp (Longitudo spinae magnae postabdominalis) – Довжина абдоменальних кігтиків

Загалом досліджено 138 особин роду *Graptoleberis*. Проаналізовано публікації щодо сучасного стану таксономії та синоніміки роду *Graptoleberis* [1–6, 8, 13, 14, 16–18, 20, 22].

### Результати і їхнє обговорення

Внутрішньовидова систематика і номенклатура роду *Graptoleberis* до цього часу докладно не вивчена. Рід *Graptoleberis* як монотиповий був виділений Г.О. Сарсом у 1862 р. на основі описаного раніше С. Фішером *Lynceus testudinarius* Fischer, 1851.

Б. Дибовський і М. Гроховський [3, 9, 10, рис. 2] описали таксони *Graptoleberis wojnowiensis* Dybowski et Grochowski, 1895 та *Graptoleberis wojnowiensis* var. *anacanthina* Dybowski et Grochowski, 1895, які на даний час мають статус «Nomen nudum» [5], а також *Graptoleberis reticulata*, Lilljeb.

Р. Шрабек-Гушек, М. Страшкраба, Й. Бртек [22] подають три внутрішньовидові варієтети роду *Graptoleberis*: *Graptoleberis testudinaria* var. *testudinaria* S. Fischer, 1848; *Graptoleberis t. var. pannonica* Daday, 1904 та новоописаний цими дослідниками *Graptoleberis t. var. slovenica* var. n. Šrámek-Hušek at all., 1962.

На основі мінливості таких ознак як будова постабдомена і його кігтиків, будова зубчиків задньо-нижнього кута стулки М.М. Смірнов [6] виділив у цьому таксоні п'ять підвидів: *Graptoleberis t. testudinaria* (Fischer, 1851); *Graptoleberis t. occidentalis* Sars, 1901; *Graptoleberis t. slovenica* Šrámek-Hušek, 1962; *Graptoleberis t. pannonica* Daday, 1904; *Graptoleberis t. orientalis* Daday, 1910.

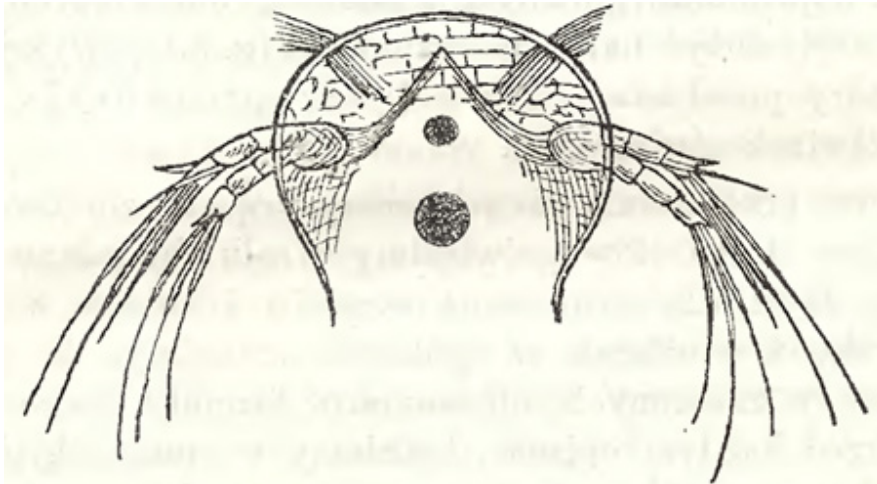


Рис. 2. Рисунок *Graptoleberis* Б. Дибовського і М. Гроховського [10]. Вигляд самки зверху

У подальшому ґрунтовний аналіз внутрішньовидової систематики і номенклатури роду *Graptoleberis* здійснив В.Д. Радзімовський [5]. Цей дослідник звернув увагу на неповноту першоописання виду, що привело до неясності в характеристиці номінативного підвиду. Зокрема, відзначено, що в першоописі мова йде про загальну будову рачка, підкреслюється наявність двох великих зубчиків на задньо-нижньому куті стулки, але недостатньо повно описано будову постабдомена, його кігтиків і анальних зубчиків. А саме такі ознаки мають велике значення для диференціювання підвидів. В.Д. Радзімовський проаналізував низку морфологічних описів роду *Graptoleberis*, відзначивши, що найбільшу увагу будові кігтика постабдомена приділив Р. Шрабек-Гушек зі співавторами [22]. Внаслідок ревізії роду *Graptoleberis*, порівняння морфологічних описів, що подані різними авторами, а також на основі власних досліджень В.Д. Радзімовський [5] підтверджує внутрішньовидові таксони, виділені М.М. Смірновим, і описує ще один підвид (*Graptoleberis t. husheki* Radzimovsky, subsp. n., 1982), який називає на честь Р. Шрабека-Гушека. Таксономічні матеріали, отримані В. Д. Радзімовським, як відзначає Д. Фльоснер [13], є вагомими в цілому для регіону центральної Європи.

О.О. Котов зі співавторами [20], подаючи список світової фауни прісноводних *Cladocera*, вказує на такі підвиди: *Graptoleberis testudinaria occidentalis* Sars, 1901; *Graptoleberis testudinaria testudinaria* (Fischer, 1851); *Lynceus testudinaria testudinaria* Fischer, 1851.

Поряд із тим, низка дослідників на сьогодні не виділяють окремих підвидів *Graptoleberis*. Вони вказують лише на *Graptoleberis testudinaria* (Fischer, 1851), відзначаючи, що цей вид належить до монотипового роду, має значну поліморфність і всесвітнє поширення.

Типовий вид *Graptoleberis testudinaria* (Fischer, 1851) характеризується низкою синонімів. М.М. Смірнов [6] подає такі синоніми: *Alona reticulata*, Baird, 1843; *Lynceus testudinarius*, Fischer, 1851; *Alona esocirostris* Schoedler, 1858; *Lynceus reticulatus* Leydig, 1860; *Graptoleberis reticulata*, Sars, 1862; *Alona reticulata*, Schoedler, 1862; *Alona testudinaria*, Helich, 1877; *Graptoleberis inermis* Birge, 1879; *Graptoleberis testudinaria*, Lilljeborg, 1900; *Graptoleberis testudinaria* var. *testudinaria*, Šrámek-Hušek et al., 1962; *Graptoleberis testudinaria typica*, Goulden, 1966.

К. Аморос [8] для *Graptoleberis testudinaria* (Fischer, 1848) відзначає п'ять синонімів: *Lynceus testudinarius* Fischer, 1848; *L. reticulatus* Lilljeborg, 1853; *Graptoleberis reticulata* (Lilljeborg, 1853); *Alona esocirostris* Schoedler, 1863; *Alona testudinaria* (Fischer, 1848).

Д. Фльоснер [13] вказує таксони *Lynceus testudinarius* Fischer, 1848; *Alona reticulata* Baird, 1850; *Lynceus reticulatus* Lilljeborg, 1853; *Alona esocirostris* Schoedler, 1863; *Graptoleberis testudinaria*, Radzimovskij, 1982.

О. Котов зі співавторами [20] у списку світової фауни *Cladocera* реєструє як синоніми *G. testudinaria* такі форми: *Alona esocirostris* Schödler, 1862; *Graptoleberis alexandrinae* Negrea, 1982; *Graptoleberis husheki* Radzimovski, 1982; *Graptoleberis inermis* Birge, 1879; *Graptoleberis orientalis* Daday, 1910; *Graptoleberis pannonica* Daday, 1903; *Graptoleberis slovenica* Šrámek-Hušek et al., 1962.

Таким чином, у межах роду *Graptoleberis* Р. Шрамек-Гушек зі співавторами [22] подає три внутрішньовидові варієтети цього роду, М.М. Смірнов [6] виділяє п'ять підвидів, а В.Д. Радзімовський [5] – шість підвидів. Із них три підвиди (*Graptoleberis t. testudinaria* (Fischer, 1851); *Graptoleberis t. pannonica* Daday, 1904; *Graptoleberis t. slovenica* Šrámek-Hušek, 1962) відомі у Європі.

Пізніше І. Гудец [17] у роді *Graptoleberis* виділив два самостійних види (*G. testudinaria* (Fischer, 1848) і *G. pannonica* (Daday, 1903)), хоча в одній із попередніх своїх робіт [16] він вважав ці таксони підвидовими категоріями роду *Graptoleberis*.

У водоймах Українського Розточчя зареєстрований таксон *Graptoleberis t. testudinaria* (Fischer, 1851). У табл. 1 і 2 наведено його морфоекологічну характеристику з використанням літературних джерел і власних досліджень [1–6, 8, 13, 16–18, 22].

Особливу увагу звертали на морфометричні показники, оскільки розмірні критерії як інтегральна екологічна характеристика організмів, що обумовлена низкою продукційно-енергетичних параметрів, відображає ту чи іншу стратегію виживання. Така стратегія може змінюватися залежно від умов середовища [15]. Розмірні характеристики певним чином відображають ті чи інші особливості життєвого циклу, обумовлюють перевагу певних компонентів у харчовому раціоні гіллястовусих раків, а також визначають їхню привабливість для хижаків [11, 12].

Зміни розмірної структури популяцій можуть відобразитися на зоопланктонних угрупованнях і на функціонуванні всієї гідроекосистеми. Тому врахування розмірних критеріїв є важливим елементом аналізу динаміки угруповань, прогнозування змін у фауністичних комплексах. Матеріали по розмірних характеристиках у подальшому можуть бути використані під час розроблення заходів із запобігання порушенням у структурі гідробіоценозів, котрі відбуваються внаслідок впливу умов середовища [11, 15, 19, 23].

Даних щодо розмірних характеристик *Graptoleberis* Українського Розточчя на сьогодні немає. Тому саме цьому аспектові важливо приділити спеціальну увагу.

Результати морфометричних досліджень представлені в табл. 1 і 2. Стулки самки *G. t. testudinaria* майже напівкруглі зі сильно випуклим спинним краєм і майже прямим че-

ревним, який покритий щетинками. Нижньозадній кут озброєний 2–3 великими зубцями. Лопатоподібний рostrum спрямований уперед. Латеральний головний киль слабо розвинутий. Верхня губа невелика. Естетаски різної довжини. Задні антени несуть дві маленькі щетинки на основі та на першому членіку верхньої гілки.

Дистальні членики гілок мають по одному короткому шипу. Верхній край постабдомена утворює тупий кут, на якому відкривається анальний отвір. Дистальна частина верхнього краю озброєна 9–12 дрібними зубчиками, на латеральній поверхні постабдомена міститься ряд із 6–8 пучків дрібних щетинок, які розташовуються півколом. Кігтики з маленьким базальним шипом покриті дрібними щетинками. Довжина самки 0,49–0,68 мм.

На відміну від самки, у самця стулки низькі зі слабо опуклим спинним краєм. Передні антени досягають кінця рostrума. Постабдомен із прямим гладким верхнім краєм. Кігтики коротші ніж у самок, без анального шипа. Довжина самця 0,43–0,48 мм.

Під час аналізу популяційних особливостей угруповань необхідно брати до уваги роль регіонального пулу видів, який обумовлює, в кінцевому рахунку, структурно-функціональну характеристику конкретного таксону. Важливими є і трофоекологічні критерії гідробіонтів [7, 11, 12].

З цієї точки зору рід *Graptoleberis* відзначається такими параметрами. Родина *Chydoridae*, до якої належить рід *Graptoleberis*, в умовах Українського Розточчя представлена 8 родами і 18 видами. За числом родів це становить 42 % різноманіття кладоцеровозів, а за числом видів – 43 %, що є найвищими показниками для кладоцеровозів цього регіону. Рід *Graptoleberis* за числом видів у кладоцеровозі становить 2 %. У родині *Chydoridae* представленість роду *Graptoleberis* за числом видів зростає до 6 %.

Здобування їжі планктонними безхребетними детермінується морфофункціональними структурами, які забезпечують переміщення організмів у просторі та захоплення харчових часточок [6]. *Graptoleberis* за трофоекологічною класифікацією Ю.С. Чуйкова [7], яка враховує спосіб пересування організмів, особливості захоплення їжі, а також визначає трофічний рівень, належить до п'ятої екологічної підгрупи. Представники цієї підгрупи пересуваються повзанням і плаванням, є вторинними фільтраторами і належать до другого трофічного рівня. Важливим компонентом їхнього раціону є детрит і бактерії з поверхні підводних субстратів.

Таблиця 1

Морфологічні характеристики карапакса *G. t. testudinaria* (Fischer, 1851), мм

Статистичні показники	Ltc	Acm	Do2	Do1	Acp
Карапакс самиці					
M	0,581	0,271	0,041	0,065	0,135
m	0,035	0,024	0,002	0,003	0,014
Карапакс самця					
M	0,455	0,241	0,051	0,081	0,171
m	0,044	0,023	0,002	0,003	0,021

**Примітка.** M – середнє значення; m – похибка середнього значення. Інші позначення як на рис. 2

Таким чином, родина *Chydoridae* в умовах Українського Розточчя є одним із домінуючих за різноманіттям таксонів, що визначає функціонування кладоцеровозів і зоопланктоценозів регіону загалом. Рід *Graptoleberis* як таксономічна одиниця нижчого рангу не займає домінуючих позицій. Проте цей таксон відіграє важливу роль при стресових ситуаціях, забезпечуючи функціональну стабільність угруповань.

Представники цього таксону є своєрідним біофільтром, який очищає водойми і підтримує екологічний баланс гідроекосистеми.



Таблиця 2

Морфологічні характеристики постабдомена *G. t. testudinaria* (Fischer, 1851), мм

Статистичні показники	Lpt	Amp	Lpdp	Lppp	Lsmp
		Постабдомен самиці			
M	0,147	0,047	0,093	0,067	0,023
m	0,013	0,003	0,002	0,002	0,001
		Постабдомен самця			
M	0,137	0,037	0,1	0,038	0,012
m	0,012	0,002	0,013	0,002	0,001

**Примітка.** М – середнє значення; m – похибка середнього значення. Інші позначення як на рис. 2

У водоймах Українського Розточчя популяції *G. t. testudinaria* трапляються насамперед у прибережній зоні серед заростей різноманітних мілких заплавних водойм і ставів. Життєвий цикл відзначається моноциклією, особини з'являються у водоймах навесні. Завершення життєвого циклу спостерігається в кінці жовтня – листопаді.

Таким чином, на сьогодні у науковій літературі виділяють низку внутрішньовидових таксонів роду *Graptoleberis*, однак деякі автори вказують лише на монотипову форму, зазначаючи її космополітизм. Оскільки зміни розмірної структури популяцій відображаються на рівні зоопланктонних угруповань і на функціонуванні всієї гідроєкосистеми загалом, дані про розмірні характеристики у подальшому можуть бути використані у розробленні заходів із запобігання порушенням структури планктонних угруповань. Такі показники доцільно використати і у розробленні певних біоманіпулятивних підходів з метою створення стійких водних екосистем в умовах постійно зростаючого антропогенного впливу.

Необхідним і важливим є подальше вивчення роду *Graptoleberis* із застосуванням сучасних популяційно-генетичних методів досліджень. Це дасть можливість достовірно виділити криптичні форми, з'ясувати особливості поліморфізму внутрішньовидових таксонів і характер близькоспоріднених зв'язків між окремими варієтетами. Такі критерії обумовлять підвищення інформативної цінності роду *Graptoleberis* як маркера стану гідробіоценозів і прогнозу їхніх змін у гідроекологічних дослідженнях. Для проведення фрактального аналізу стану гідроєкосистем доцільним є розроблення WEB-орієнтованої бази даних з представленими матеріалами щодо Українського Розточчя.

Висловлюємо щире подяку професорові університету Павла Йозефа Шафарика в Кошицях (Словаччина) І. Гудецу за надіслані публікації та консультативну допомогу.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Іванець О. Р. Фауна гіллястовусих раків (*Crustacea, Cladocera*) Українського Розточчя // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2013. Вип. 63. С. 110–117.
2. Іванець О. Р. Таксономічна структура кладоцероценозів Українського Розточчя // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 64. С. 260–269.
3. Іванець О. Р. Колекції Б. Дибовського та М. Гроховського у сучасних дослідженнях гіллястовусих раків (*Cladocera*) Галичини та прилеглих теренів // Внесок натуралістів-аматорів у вивчення біологічного різноманіття: матеріали Міжнар. наук. конф., присв. 200-річчю від дня народження Людвіга Вагнера (14–16 травня 2015 р., м. Берегово). Берегово, 2015. С. 313–319.
4. Іванець О. Р. Таксономія роду *Graptoleberis* (Sars, 1862) (*Cladocera: Anomopoda: Chydoridae*) як інформативно-структурна одиниця водних екосистем // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку та інших природоохоронних територій: матеріали наук. конф. (8–11 вересня 2016 р.). Львів: Сполом, 2016. С. 41–43.

5. Радзимовский В. Д. О внутривидовой систематике и номенклатуре *Graptoleberis testudinaria* (Fischer, 1851) (Crustacea, Cladocera) // Зоолог. журнал. 1982, (61). Вып. 3. С. 448–450.
6. Смирнов Н. Н. Фауна СССР. Ракообразные. Т. 1. Вып. 2. *Chydoridae* фауны мира. М.; Л.: Наука, 1971. 531 с.
7. Чуйков Ю. С. Анализ трофической структуры планктонного сообщества // Основы изучения пресноводных экосистем. Л.: Зоолог. ин-т, 1981. С. 45–52.
8. Amoros C. Crustacés Cladocères. A key to the freshwater cladocerans of France and the neighbouring countries of western Europe // Société Linnéenne de Lyon. Т. 53. 1984. N 3–4. P. 72–143.
9. Dybowski B., Grochowski M. Spis systematyczny Wioślarek (*Cladocera*) krajowych sporządzony na podstawie okazów i preparatów, które oddane były na naszą tegoroczną wystawę krajową we Lwowie // Kosmos. Lwów, 1895. S. 1–27.
10. Dybowski B., Grochowski M.. O czułkach drugiej pary u Tonewek (*Lynceidae*) i Eminków (*Euryercidae*) // Kosmos, XXIII. Lwów, 1898a. S. 25–73.
11. Feniova I. Yu., Aibulatov D. N., Zilitinkevich N. S. Effects of individual variability on the outcome of competition between cladoceran species // Inland Water Biology. 2013. Vol. 6. N 4. P. 294–300.
12. Feniova I., Dawidowicz P., Gladyshev M. et al. Experimental effects of large-bodied *Daphnia*, fish and zebra mussels on cladoceran community and size structure // J. Plankton Res. 2015. Vol. 37. P. 611–625.
13. Flössner D. Die *Haplopoda* und *Cladocera* (ohne *Bosminidae*) Mitteleuropas. Backhuys Publishers, Leiden, 2000. 428 s.
14. Fryer G. Evolution and adaptive radiation in the *Chydoridae* (Crustacea: Cladocera): A study in comparative functional morphology and ecology // Phil. Trans. R. Soc. Lond. Sci. 1968. 254. P. 221–385.
15. Hart R. C., Bychek E. A. Body size in freshwater planktonic crustaceans: an overview of extrinsic determinants and modifying influences of biotic interactions // Hydrobiologia. 2011. 668. P. 61–108.
16. Hudec I. *Graptoleberis testudinaria* (Cladocera, Chydoridae) in Slovakia // Věstník Československé společnosti zoologické. 1988 (52). P. 98–105.
17. Hudec I. Fauna Slovenska III. Anomopoda, Ctenopoda, Haplopoda, Onychopoda (Crustacea: Branchiopoda). Bratislava: Veda, 2010. 496 p.
18. Ivanets O. R. Zooplankton of the water vegetation in the ponds of the west forest-steppe of Ukraine // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2011. Вип. 56. С. 148–156.
19. Kalinowska K., Ejsmont-Karabin J., Rzepecki M. et al. Impacts of large-bodied crustaceans on the microbial loop // Hydrobiologia. 2015. Vol. 744. P. 115–125.
20. Kotov A. A., Forró L., Korovchinsky N. M., Petrusek A. World checklist of freshwater *Cladocera* species // World Wide Web electronic publication. 2013. 38 p. Available online at <http://fada.biodiversity.be/group/show/17>
21. Sahuquillo M., Miracle M. R. The role of historic and climatic factors in the distribution of crustacean communities in Iberian Mediterranean ponds // Freshwater Biol. 2013. Vol. 58. P. 1251–1266.
22. Šrámek-Hušek R., Straškraba M., Brtek J. Lupenožci – Branchiopoda. Fauna ČSSR. Nakladatelství Československé Akademie Věd. Praha. 1962. 470 s.

23. Weidman P. R., Schindler D. W., Thompson P. L., Vinebrooke R. D. Interactive effects of higher temperature and dissolved organic carbon on planktonic communities in fishless mountain lakes // *Freshwater Biol.* 2014. Vol. 59. P. 889–904.
24. Wetzel R., Likens G. *Limnological Analyses*. Philadelphia; London; Toronto: W.B. Saunders Company. 1979. 357 p.

Стаття: надійшла до редакції 24.06.16

доопрацьована 20.02.17

прийнята до друку 09.03.17

**TAXONOMY, ECOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL  
CHARACTERISTICS OF GENUS GRAPTOLEBERIS (SARS, 1862)  
(CLADOCERA: ANOMOPODA: CHYDORIDAE) OF UKRAINIAN ROZTOCZE**

**O. Ivanets**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: oleh\_ivanets@ukr.net*

On the basis of analysis of modern literature and own data taxonomy, synonymy ecological and morphological characteristics of genus *Graptoleberis* Ukrainian Roztocze are presented. Genus *Graptoleberis* belonging to the small, aquatic, crustaceans family of *Chydoridae*. *Graptoleberis* are important components of freshwater food chains. *Graptoleberis* are highly polymorphic and are an important component of the zooplankton. 287 tests in 2008–2015 in Ukrainian Roztocze natural region were conducted. 138 species of *Graptoleberis* genus were studied. According to the literature 6 subspecies of *Graptoleberis* were identified. Suggested that *G. testudinaria* is actually a species complex (*G. testudinaria* (Fischer, 1848) і *G. pannonica* (Daday, 1903)), not only subspecies. In conditions of Ukrainian Roztocze according to the data received during observations of zooplankton there were registered *Graptoleberis t. testudinaria* (Fischer, 1851). Morphological characteristics of *Graptoleberis* are presented. According to the number of species in the cladocerenoses genus *Graptoleberis* is 2 %. In the family *Chydoridae* kind of significance is growing and is 6 %. In the water reservoirs of Ukrainian Roztocze natural region population of *G. t. testudinaria* (Fischer, 1851) there are primarily in littoral zone. The life cycle is monocyclic, individuals appear in waters in spring. End of life cycle occurs in late October and November.

*Keywords: Graptoleberis, Chydoridae, zooplankton, Ukrainian Roztocze*

**ССАВЦІ РЯДУ CARNIVORA  
В ОСТЕОЛОГІЧНІЙ КОЛЕКЦІЇ ЗООЛОГІЧНОГО МУЗЕЮ  
ЛУГАНСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

**С. Філіпенко**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: serjfil88@gmail.com*

Впорядковано повний каталог остеологічної колекції ссавців ряду Carnivora Зоологічного музею Луганського національного університету (ЗМЛГ). Колекція налічує 76 зразків черепів хижих ссавців, що представлені 14 видами з 11 родів і 4 родин ряду Carnivora. Здійснено повний аналіз колекції з описом найцінніших зразків. У колекції ЗМЛГ зберігається 18 зразків 6 видів, занесених до Червоної книги України (2009) та 5 видів (з 7 наявних), які відносять до складу раритетної теріофауни Луганщини. Найповніше в цій колекції репрезентована родина Mustelidae – 43 зразки 9 видів; найменш представлена в колекції родина Felidae – 1 зразок. Серед видів найбільше представлений колекційними зразками вид *Vulpes vulpes* – загалом є 19 зразків. Проведено порівняння обсягу дослідженої колекції з колекціями провідних зоологічних музеїв України. Показано, що кілька видів із колекції ЗМЛГ дуже добре доповнюють загальну вибірку з усіх музеїв. За часткою у загальній вибірці окремі види хижих із колекції ЗМЛГ становлять вагому величину: *Neovison vison* (71 %), *Vormela peregusna* (40 %), *Lutra lutra* (14 %), *Nyctereutes procyonoides* (14 % від загальної вибірки).

*Ключові слова:* Carnivora, остеологічна колекція, Зоологічний музей Луганського національного університету

За час існування Зоологічний музей Луганського національного університету імені Тараса Шевченка (далі ЗМЛГ), а це – понад 80 років [2], проводив лише просвітницьку діяльність. Тому більша частина колекції ЗМЛГ, близько 90 %, представлена на експозиції. Крім експозиційної частини, в музеї є фондова колекція, яка становить решту 10 %. Фондова частина колекції останнім часом активно поповнюється, і музей поступово набуває статусу наукового центру регіону. Сьогодні постала проблема формування фондової частини колекції та каталогізація зразків.

Перша спроба каталогізації колекції хребетних здійснена наприкінці 1970-х років С.Г. Панченком [8]. Але у тому виданні каталог охоплював виключно зразки з експозиції й містив лише інформацію про географічне поширення видів, які представлено у колекції. Окрім цієї, в 2014 р. опубліковано ще декілька робіт, в яких подано огляд деяких частин колекції [9, 10] і згадки про певні зразки [3]. Каталогізація зразків ускладнюється тим фактом, що етикетки більшої частини експозиційної колекції втрачені. Починаючи з вересня 2012 р., в музеї за активної участі автора розпочато каталогізацію колекції хребетних і спроби відновити втрачену інформацію про давні зразки.

**Матеріали та методи**

У роботі наведено опис і каталог остеологічної колекції хижих ссавців ЗМЛГ. Каталог складено згідно зі систематикою, що міститься у книзі «Mammals of the World» (2005) і в останньому систематичному огляді ссавців фауни України [4]. Акроніми зоологічних колекцій наведено згідно з працею І.В. Загороднюка та І.В. Шидловського [5].

У каталозі містяться всі доступні дані про кожен зразок. Спочатку подано інвентарний номер за нумерацією, розробленою для інвентаризації колекції. Біля інвентарного номера для деяких зразків у дужках вказано авторський номер колектора. Далі вказано місце зберігання в колекції (фонди або експозиція); географічні дані місця збору згідно зі сучасним адміністративно-територіальним поділом; дата збору (спочатку вказано рік, потім місяць і число); колектор (якщо відомо); вік і стать зразка; тип музейного предмета, що зберігається. Відповідні записи зроблено в базі даних, сформованій на основі електронних таблиць MS-Excel (табл. 1). Загалом база даних «Mammals» охоплює 233 записи, описаних за 21 полем.

Таблиця 1

Зміст основних інформаційних полів бази даних щодо ссавців  
у Зоологічному музеї Луганського національного університету

Назва групи полів	Складові груп полів	Зміст	Приклад
Номери	№ по базі	Порядковий номер у базі даних	3
	№ інвентарний	Унікальний, спеціально розроблений номер для інвентаризації колекції	M-00003
Місце в колекції та тип зразку	Дані про інші номери	Вказано попередні інвентарні номери або номери авторських колекцій	–
	Місце в колекції	Вказано місце зберігання зразка. Для зазначення місця зберігання розроблено спеціальні коди	ОС (остеологічна колекція)
Назва виду	Тип зразка	Вказано тип матеріалу, що перебуває в колекції	Череп
	Кількість	Кількість екземплярів	1
Систематика	Вид	Номенклатурна назва виду згідно зі сучасною систематикою	<i>Martes martes</i>
	Українська назва виду	Українська легітимна назва виду	Куниця лісова
	Російська назва	Російська легітимна назва виду	Лесная куница
Дані про зразок	Ряд	Систематичне положення виду. Вказано задля полегшення пошуку по базі зразків певної систематичної групи	Caniformes
	Родина	Те саме	Mustelidae
	Рід	Те саме	Martes
	Коли здобуто	Дата, коли здобуто	2006.XI.6
	Ким здобуто	Прізвище та ініціали колектора	Литвиненко С. П.
Примітки	Де здобуто	Місце, де здобуто екземпляр	Луганська обл., Біловодський р-н, окол. с. Євсуг
	Виготовив	Прізвище та ініціали препаратора	Литвиненко С. П.
	Вік і стать	Вказано вік і стать тварини, якщо ці дані встановлено	juv / ♂
	Проміри тіла	Вказано зняті з мертвої тварини стандартні проміри тіла та маса	L=337, Ca=98, Pl=97, Au=45.
Примітки	Біотоп	Вказано біотоп, де здобуто екземпляр	–
	Інше	Додаткові відомості про здобуту тварину	–
	Дані про інші зразки зі здобутої тварини	Вказано інші зразки і їхні інвентарні номери зі здобутого екземпляра (якщо вони є в колекції)	–

Список скорочень, прийнятих у тексті (за абеткою).

ЛПЗ – Луганський природний заповідник; м. – місто; обл. – область; окол. – околиці; р. – річка; р-н – район; с. – село; смт – селище міського типу; хут. – хутір; ад – доросла статевозріла особина; Col., Leg. – колектор; Det. – визначив; F – самка; juv – молода

особина; **Loc.** – місце збору; **M** – самець; **Redet.** – перевизначив; **S** – стать не визначено; **sen** – стара особина; **ЧКУ** – Червона книга України.

#### Історія формування колекції

На початку свого заснування колекція ЗМЛГ мала навчальний характер [2, 13], і її використовували виключно на заняттях. Після переїзду до нового корпусу в 1972 р. і розміщення музею на більшій площі ситуація не змінилася. Хоча музей і зазнав змін після переїзду, як у плані оформлення зовнішнього вигляду, так і в наповненні (постійно поповнювалася колекція опудал на експозиції) та діяльність музею продовжувала мати суто навчальний і просвітницький характер. У зв'язку з цим формувалася лише експозиційна частина колекції, а про комплектування спеціалізованих її частин мова навіть не йшла.

Формування остеологічної колекції започатковано 2003 р. До цього часу в ЗМЛГ вже налічували близько 30–40 одиниць черепів та іншого остеологічного матеріалу (хребці, кістки кінцівок тощо). Це частини скелету (переважно черепа) свійських тварин, які використовували на заняттях зі студентами, та декілька черепів ссавців, представлених на експозиції. Звісно, що формувалася остеологічна колекція як регіональна, адже більша її частина здобута на теренах Луганської обл. зоологами Луганщини.

Перший і вагомий доробок у становлення остеологічної колекції зробив О.В. Кондратенко, який передав до фондів Зоологічного музею близько 2000 зразків із власної робочої колекції. Про деякі зразки згадано в його публікаціях [7]. Переважно це шкурки та черепи дрібних ссавців, що зібрані під час його дисертаційного дослідження [2]. Передана колекція містила близько 1000 черепів. Колекція О.В. Кондратенка стала основою у формуванні остеологічної частини колекції музею (рис. 1).



Рис. 1. Череп *Canis lupus*, переданий до музею О. Кондратенком

Fig. 1. Skull of *Canis lupus* delivered to the museum by O. Kondratenko

На період 2012 р. в музеї налічували вже близько 1400–1500 одиниць кісткового матеріалу (переважно черепів). Тому 2012 р. відокремлено весь остеологічний матеріал в окрему частину колекції та проведено її інвентаризацію.

На сьогодні остеологічну колекцію хижих ссавців повністю інвентаризовано і систематизовано. У фондах ЗМЛГ станом на 01.07.2014 р. зберігається 76 зразків остеологічного матеріалу хижих ссавців, що представляють 14 видів. На рис. 2 показано частину цієї колекції. Географія представлених зразків у більшості випадків обмежена Луганською обл., але деякі зразки походять з інших областей України та інших країн: 67 зразків здобуто на території Луганської обл., 3 зразки здобуто в інших областях України (Харківська, Полтавська та Черкаська), 4 зразки – невідомого походження (етикетки втрачено), ще 2 зразки здобуто в Росії.



Рис. 2. Загальний вигляд колекційних зразків родини Mustelidae в остеологічній колекції ЗМЛГ

Fig. 2. General view of the collected samples of family Mustelidae in the osteological collection of ZMLG

#### Огляд колекції

В остеологічній колекції ЗМЛГ ряд Хижих представлено зразками видів з 4-х родин: котових (Felidae), псових (Canidae), мустелових (Mustelidae) та ведмедевих (Ursidae).

До цього переліку остеологічного матеріалу не включено ті черепи (і загалом кістковий матеріал), які містяться в опудалах експозиційної частини колекції. Насамперед, їх не включено з тієї причини, що до цього часу повністю не встановлено, в яких опудалах череп залишився, а в яких – ні. Встановити це заважає складна конструкція стендів і дуже велике та крихке скло вітрин цих стендів, що ускладнює доступ до опудал. Також у переліку вказано інші музеалії (зразки зберігання), крім остеологічних, зі здобутого екземпляра, якщо такі є.

Нижче наведено опис колекції в систематичному порядку.

#### Felidae – родина котових

*Felis silvestris* Schreber, 1777 – кіт лісовий

Вид представлений у колекції музею двома зразками: один (череп) зберігається у фондах, а інший (опудало з черепом) міститься на експозиції. Череп kota лісового описано в окремій статті [15].

1. М-00090, фонди. Лос. – [Україна] Черкаська обл., Чигиринський р-н, с. Зам'ятниця. Дата – 2013.IX.18. Leg. – Галушко О. S, ad. Череп.

#### Canidae – родина псових

*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758 – лис рудий

Звичайний мисливський вид, тому в колекції представлений найбільшим числом зразків. Більшість зразків здобуто в період 2009–2013 рр. – 12 зразків із 19.

1. М-00035, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н. Дата – 2013.I.13. Leg. – невідомий. F, ad. Череп.

2. **M-00036**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н. Дата – 2014.І.13. Leg. – невідомий. М, ad. Череп.
3. **M-00037**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Свердловський р-н, окол. с. Провалля, ЛПЗ «Провальський степ», Калинівська ділянка. Дата – 2002.ІІІ.21. Col. – Кондратенко О. В. S, ad. Череп.
4. **M-00038**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Свердловський р-н, окол. хут. Скажений, ЛПЗ «Провальський степ», Калинівська ділянка. Дата – 2000.ХІІ.23. Leg. – Мороз В. О., Ушаков О. Г. S, ad. Череп.
5. **M-00039**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Верхній Мінченюк. Дата – 2011.ХІІ.05. Leg. – Дєдов. Г.О. S, juv. Череп.
6. **M-00040**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., окол. м. Ровеньки. Дата – 2012. ІІ.22. Leg. – невідомий. S, ad. Череп.
7. **M-00041**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл. Дата – 2011.ХІІ.16. Col. – Ветров В. В. S, ad. Череп.
8. **M-00042**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н. Дата – 2013.І.17. Leg. – невідомий. М, ad. Череп.
9. **M-00043**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Міловський р-н, окол. с. Великоцьк. Дата – 2001.ІІ.10. Col. – Кондратенко О. В. F, ad. Череп.
10. **M-00173**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Краснодонський р-н, неподалік державного кордону з Російською Федерацією. Дата – 2013.ХІІ. Col. – Філіпенко С. О. F, ad. Череп.
11. **M-00174**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Новоайдарський р-н, с. Вовкодаєве. Дата – 2014.І. Col. – Литвиненко С. П. М, ad. Череп, I та II шийні хребці.
12. **M-00176**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Крепи. Дата – 2013.ХІІ.15. Col. – Литвиненко С. П. М, ad. Череп.
13. **M-00178**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Чугинка. Дата – 2012.ІІ.14. Col. – Ветров. М, ad. Череп.
14. **M-00189**, експозиція. Лос. – [Україна] Луганська обл. Дата – невідома. Leg. – невідомий. S, ad. Череп.
15. **M-00190**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Розквіт. Дата – 2010.І.23. Leg. – Михайлюк А. М., ad. Череп.
16. **M-00191**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Краснодонський р-н, с. Поріччя. Дата – 2014.І.20. Leg. – Мартинов. М, ad. Череп, I шийний хребець.
17. **M-00193**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл. Дата – 2009–2013. Col. – Литвиненко С. П. S, ad. Череп.
18. **M-00194**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл. Дата – 2009–2013. Col. – Литвиненко С. П. S, ad. Череп.
19. **M-00195**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл. Дата – 2009–2013. Col. – Литвиненко С. П. S, ad. Череп.

*Canis lupus* Linnaeus, 1758 – вовк сірий

Найбільший хижак місцевої фауни, в колекції представлений 5 зразками з Луганщини.

1. **M-00121**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Міловський р-н, окол. с. Зориківка. Дата – 2000.Х. Col. – Кондратенко О. В. S, ad. Череп.
2. **M-00044**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Краснодонський р-н, окол. с. Поріччя та с. Нижньодеревечка. Дата – 2013 осінь. Leg. – Ткачева Ю. S, sen. Череп.



3. **M-00045**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., окол. м. Стаханов. Дата – 2011. III.25. Col. – Литвиненко С. П. М, ad. Череп.
4. **M-00089**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н, окол. м. Слов'яносербськ. Дата – 2011. I. Col. – Форощук П. В. S, ad. Череп.
5. **M-00181**, експозиція. Лос. – [Україна] Луганська обл. Дата – до 1977 р. Leg. – невідомий. S, ad. Череп.

*Nyctereutes procyonoides* (Gray, 1834) – єнот уссурійський

Останнім часом чисельність даного виду зросла, і він частіше трапляється мисливцям, що і відображено в колекції: всі зразки здобуто протягом останніх двох років.

1. **M-00107**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, окол. с. Золотарівка. Дата – 2013. X.28. Col. – Ветров В. В. S, ad. Череп.
2. **M-00122**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н. Дата – 2012. X.20. Col. – Форощук П. В. S, ad. Череп.
3. **M-00123**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Лутугинський р-н, окол. Луганського аеропорту. Дата – 2012. X. Leg. – невідомий. S, ad. Череп.
4. **M-00156**, експозиція. Лос. – [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Плотина. Дата – 2012. X.24. Leg. – невідомий. F, ad. Череп.
5. **M-00175**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Плотина. Дата – 2013. III. Col. – Ветров В. В. F, ad. Череп.
6. **M-00182**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Лутугинський р-н, окол. Луганського аеропорту. Дата – 2013. III. Leg. – невідомий. S, ad. Череп.

**Mustelidae – родина мустелових**

*Mustela putorius* Linnaeus, 1758 – тхір темний

Вид занесено до ЧКУ (2009). Чотири екземпляри з п'яти здобуто на півдні Луганської обл., де немає потужних лісових масивів.

1. **M-00009**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, окол. с. Гарасимівка. Дата – 2000. XII. Col. – Кондратенко О. В. М, ad. Череп.
2. **M-00134**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Свердловський р-н, с. Провалля. Дата – 2012. V. Leg. – Грошев А., Det. – Загороднюк І. В. S, ad. Череп.
3. **M-00135**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Свердловський р-н, с. Провалля. Дата – 2012. V. Leg. Грошев А., Det. Загороднюк І. В. S, ad. Череп (фрагменти).
4. **M-00158**, експозиція. Лос. – [Україна] Луганська обл., Лутугинський р-н, смт Успенка. Дата – 2004. Col. – Литвиненко С. П. S, ad. Череп.
5. **M-00168**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., м. Ровеньки. Дата – 2009. XI. Leg. – невідомий. S, ad. Череп.

*Mustela nivalis* Linnaeus, 1758 – мустела ласиця

У колекції музею вид представлено 10 зразками, з яких – 4 черепа, 2 шкіри та 4 опудала з черепами.

1. **M-00127**, фонди. Лос. – [Україна] Харківська обл., Зміївський р-н, окол. с. Гайдари, біостанція Харківського університету. Дата – 1998. IX. Col. – Кондратенко О. В. S, ad. Череп.
2. **M-00128**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Білокуракинський р-н, с. Лозно-Олександрівка. Дата – 2005. I. Leg. – Артющенко В. S, ad. Череп, шкура.
3. **M-00129**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Білокуракинський р-н, с. Лозно-Олександрівка. Дата – 2005. I. Leg. – Артющенко В. S, ad. Череп, шкура.

4. **M-00132**, фонди. Loc. – [Україна] Луганська обл., м. Щастя. Дата – 2009 р. осінь. Col. – Литвиненко С. П. S, ad. Череп.

*Mustela lutreola* (Linnaeus, 1761) – мустела норка

В музеї зберігається 2 екз. Один екземпляр – у фондах (череп і тушка), представлений у даній роботі, а другий на експозиції (опудало, можливо, із черепом).

1. **M-00013**, фонди. Loc. – [Україна] Луганська обл., Міловський р-н, с. Криничне, р. Черепаха. Дата – близько 2000 р. Leg. – Кондратенко О. В., Ніколаєнко С. М, ad. Череп, тушка.

*Neovison vison* Schreber, 1777 – візон річковий

Адвентивний вид, який потрапив у природні біотопи зі звіроферм. У Луганській обл. наразі функціонує звіроферма з вирощування візона (норка «американська») розташована в м. Кремінна. Попри високу чисельність і мисливський статус, вид є доволі рідкісним у зоологічних колекціях.

1. **M-00133**, фонди. Loc. – [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н, м. Слов'яносербськ. Дата – 2009.Х. Leg. – невідомий. S, ad. Череп.

2. **M-00136**, фонди. Loc. – невідомо. Det. – Загороднюк І. В. Дата – невідома. Leg. – невідомий. S, ad. Череп без мандибули.

3. **M-00138** (авт. № z-913), фонди. Loc. - [Україна] Луганська обл. Старобільський р-н, м. Старобільськ. Дата – невідома. Col. – Загороднюк І. В. F, ad. Череп.

4. **M-00157**, експозиція. Loc. - [Україна] Луганська обл. Дата - невідома. Leg. - невідомий. S, ad. Череп.

5. **M-00177**, фонди. Loc. – невідомо. Det. – Загороднюк І. В. Дата - невідома. Leg. – невідомий. S, ad. Череп без мандибули.

*Martes foina* (Erxleben, 1777) – куниця кам'яна

Типовий синантроп, і тому більшість зразків цього виду здобуто в межах населених пунктів.

1. **M-00004**, фонди. Loc. - [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н. Дата – 2013.І.17. Leg. – невідомий. M, ad. Череп.

2. **M-00005**, фонди. Loc. - [Україна] Луганська обл., Міловський р-н, окол. с. Криничне. Дата – 2001. Leg. – Ніколаєнко С. (зібрано, як *Martes martes*). Redet. – Загороднюк І. В. S, ad. Череп.

3. **M-00006**, фонди. Loc. - [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Верхній Мінченко. Дата - 2012.ІІ. Leg. - невідомий. S, ad. Череп.

4. **M-00007**, фонди. Loc. - [Україна] Луганська обл., Новоайдарський р-н, с. Вовкодаєве. Дата - 2011.І.18. Leg. – невідомий. M, ad. Череп.

5. **M-00008**, фонди. Loc. - [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н. Дата – 2013.І.21. Leg. – невідомий. M, ad. Череп.

6. **M-00160**, експозиція. Loc. – [Україна] Луганська обл. Дата – невідома. Leg. – невідомий. S, ad. Череп.

7. **M-00165**, фонди. Loc. - [Україна] м. Луганськ, Гостра могила, окол. Медмістечка. Дата - 2008.ХІІ.05. Leg. - Табакін В. М. Det. – Загороднюк І. В. M, ad. Череп (фрагменти).

8. **M-00171**, фонди. Loc. - [Росія] Ростовська обл., Міллеровський р-н. Дата – 2009. VI.08. Col. – Литвиненко С. П. S, ad. Череп.

*Martes martes* (Linnaeus, 1758) – куниця лісова

Всі зразки здобуто в заплавлених лісах Луганської області.

1. **M-00003**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Біловодський р-н, окол. с. Євсуг. Дата - 2006.XI.06. Col. – Литвиненко С. П. М, juv. Череп.
2. **M-00159**, експозиція. Лос. – [Україна] Луганська обл., Новоайдарський р-н, с. Колядівка. Дата – 2010.XII.16. Col. – Ветров В. В. S, sad. Череп.
3. **M-00172**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Краснодонський р-н, неподалік державного кордону з Росією. Col. – Філіпенко С. О. Дата - 2014.I.10. М, ad. Череп.
4. **M-00192**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., м. Луганськ, Вергунський роз'їзд. Дата - 2014.IV.15. Col. – Філіпенко С. О. М, ad. Череп.

*Meles meles* (Linnaeus, 1758) – борсук європейський

Доволі численний вид поширений по всій території Луганської області. Часто стає здобиччю браконьєрів через лікувальні властивості жиру.

1. **M-00015**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Міловський р-н, ЛПЗ «Стрільцівський степ», балка Терновий яр. Дата – близько 2000 р. Leg. - Кондратенко О. В., Ніколаєнко С. М., ad. Череп.
2. **M-00016**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Чугинка. Дата – 2009.IX. Leg. – невідомий. S, ad. Череп.
3. **M-00017**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н, с. Металіст. Дата – 2007.VIII. Leg. – Галаш Ю. S, ad. Череп.
4. **M-00124**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н, окол. с. Христове. Дата - 2010.X.21. Leg. - невідомий. М, ad. Череп.
5. **M-00125**, фонди. - [Україна] Луганська обл., окол. м. Ровеньки. Дата - 2013.IX.20. Col. – Литвиненко С. П. М, ad. Череп.
6. **M-00161**, експозиція. Лос. – [Україна] Луганська обл. Дата – невідома. Leg. - невідомий. S, ad. Череп.
7. **M-00183**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Слов'яносербський р-н, с. Трьохізбенка. Дата – 2012.X.25. Col. – Литвиненко С. П. S, ad. Череп.

*Vormela peregusna* (Guldenstaedt, 1770) – перегузня степова

Рідкісний вид занесений до ЧКУ (2009). Найбільш цінним зразком є череп, виявлений у гнізді пугача, що є доказом наявності виду в кормовому раціоні хижих птахів. Це доповнює дані про живлення пугача в нашому регіоні [1].

1. **M-00010**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Свердловський р-н, с. Провалля, ЛПЗ «Провальський степ». Дата – 2000.V. Leg. - Мороз В. О., Ушаков О. Г., Кондратенко О. В. S, ad. Череп, шкура.
2. **M-00011**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., м. Щастя. Дата – 2009.XII. Leg. - невідомий. S, ad. Череп, опудало.
3. **M-00137**, фонди. Лос. – [Україна] Луганська обл., Марківський р-н, з гнізда *Bubo bubo*. Дата – 2009. Col. – Ветров В. В., Det. - Загороднюк І. В. S, ad. Череп.
4. **M-00232**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Валуйське. Дата – 2014.VI.30. Col. – Литвиненко С. П. F, ad. Череп, тушка.

*Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) – видра річкова

Зразки з Луганщини (таких чотири) здобуто в Станично-Луганському р-ні, три з яких, – у басейні річки Тепла (ліва притока р. Сіверський Донець).

1. **M-00014**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Верхній Мінченко, р. Тепла. Дата – 2013.I.23. Leg. – невідомий. F, ad. Череп.
2. **M-00018**, фонди. Лос. - [Україна] Полтавська обл., Лохвицький р-н, окол. с. Сенча, р. Сула. Дата - 2011.III.15. Leg. - невідомий. M, ad. Череп.
3. **M-00019**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Верхній Мінченко, р. Тепла. Дата - 2012.XII.20. Leg. – Дєдов Г. О. М, ad. Череп.
4. **M-00155**, експозиція. Лос. - [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Верхній Мінченко, р. Тепла. Дата – 2011.XII.28. Leg. – Дєдов Г. О. S, ad. Череп.
5. **M-00169**, фонди. Лос. - [Україна] Луганська обл., Станично-Луганський р-н, с. Старий Айдар, р. Айдар, водосховище. Дата – 2013.I. Leg. - невідомий. S, ad. Череп.

#### **Ursidae – родина ведмедевих**

*Ursus arctos* (Linnaeus, 1758) – ведмідь бурий

Загалом у колекції зберігаються 3 зразки цього виду: 2 черепи та опудало (можливо з черепом).

1. **M-00179**, фонди. Лос. – [Росія] Новгородська обл., м. Валдай. Дата – 2013.II.02. Leg. – невідомий. M, ad. Череп.
2. **M-00180**, експозиція. Лос. – невідомо. Дата - до 1977 р. Leg. - невідомий. S, juv. Череп.

#### **Обговорення**

**Представленість у колекції різних груп.** Зразки в остеологічній колекції представляють 14 видів 11 родів з 4-х родин. Дані про обсяг колекції узагальнено в табл. 2.

Найповніше представлена родина мустелових (Mustelidae) – 9 видів (43 зразки). Менший обсяг – у представників родини псових (Canidae) – 3 види (30 зразків). Інші дві родини – котових (Felidae) і ведмедевих (Ursidae) – представлені по одному виду та одним і двома зразками, відповідно.

Щодо найповніших зібрань видів, то найкраще представлені такі три види: *Vulpes vulpes* (19 зразків), *Martes foina* (8), *Meles meles* (7).

**Колектори.** Окремо слід зазначити організації та зоологів, які зробили вагомий внесок у формування та наповнення остеологічної колекції ЗМЛГ. Перші зібрання остеологічного матеріалу з'явилися, коли музеєм опікувався С.Г. Панченко (1969–1986 рр.) За його безпосередньої участі в музеї було зібрано близько 40 одиниць різноманітних остеологічних зразків ссавців. Це були переважно черепи свійських ссавців, які використовували на заняттях зі студентами, але були також черепи й диких, представлені на експозиції музею (зокрема, череп *Ursus arctos*).

Значний доробок у наповненні та формуванні остеологічної колекції музею належить Лабораторії екології тварин та біогеографії університету, засновником якої був О.В. Кондратенко. Активно займається розвитком музею та поповненням його колекції теперішній керівник лабораторії І.В. Загороднюк.

Також слід відзначити внесок С.П. Литвиненка, В.В. Вєтрова, П. Форощука, які активно беруть участь у поповненні та збереженні колекції.

**Рідкісні види в колекції.** Найціннішими зразками є дві групи видів: занесених до ЧКУ та рідкісних у колекціях загалом. 6 видів (18 зразків) (див. табл. 2) належать до раритетної частини фауни і занесені до Червоної книги України (2009). У колекції ЗМЛГ з числа «червонокнижних» видів 5 видів представлені в теріофауні Луганщини: *Mustela putorius*, *M. lutreola*, *Vormela peregusna*, *Lutra lutra*. Наявність таких видів у колекціях підвищує її цінність, адже наразі здобувати такі види неможливо, бо вони перебувають під

охороною на законодавчому рівні. Збереження в зоологічних колекціях таких зразків надає можливість використовувати для наукових досліджень раніше здобуті зразки раритетних видів.

Таблиця 2

## Загальна кількість зразків в остеологічній колекції ЗМЛГ

Родина, вид	Зразків у фондах	Зразків на експозиції	Разом
<b>Felidae</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<i>Felis silvestris</i> (ЧКУ)*	1	0	1
<b>Canidae</b>	<b>27</b>	<b>3</b>	<b>30</b>
<i>Vulpes vulpes</i>	18	1	19
<i>Canis lupus</i>	4	1	5
<i>Nyctereutes procyonoides</i>	5	1	6
<b>Mustelidae</b>	<b>37</b>	<b>6</b>	<b>43</b>
<i>Mustela putorius</i> (ЧКУ)	4	1	5
<i>Mustela nivalis</i>	4	0	4
<i>Mustela lutreola</i> (ЧКУ)	1	0	1
<i>Neovison vison</i>	4	1	5
<i>Martes foina</i>	7	1	8
<i>Martes martes</i>	3	1	4
<i>Meles meles</i>	6	1	7
<i>Vormela peregusna</i> (ЧКУ)	4	0	4
<i>Lutra lutra</i> (ЧКУ)	4	1	5
<b>Ursidae</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<i>Ursus arctos</i> (ЧКУ)	1	1	2
<b>Разом</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>76</b>

Примітка: \*(ЧКУ) – види, занесені до Червоної книги України (2009)

**Порівняння з іншими зоологічними колекціями музеїв України.** Проведено кількісне порівняння колекції ЗМЛГ з колекціями Зоологічного музею Львівського національного університету імені Івана Франка (ЗМД), Національного науково-природничого музею НАН України (ННПМ) та Державного природознавчого музею НАН України, Львів (ДПМ). Аналіз проводили шляхом порівняння наведених вище даних із каталогами колекцій зазначених музеїв [6, 12]. Порівнювали ті види, які є в колекції ЗМЛГ і тільки зразки з черепами (табл. 3). Як видно, кілька видів дуже добре доповнюють загальну вибірку, зокрема: *Neovison vison*, *Vormela peregusna*, *Lutra lutra*. Частка кожного з цих видів у ЗМЛГ від загальної кількості зразків виду в колекціях така: *Neovison vison* – 83 %, *Lutra lutra* – 45,5 %, *Vormela peregusna* – 40 %.

Таблиця 3

## Кількість остеологічних зразків хижих у зоологічних колекціях музеїв України

Вид	ЗМД	ННПМ	ДПМ	ЗМЛГ
<i>Felis silvestris</i>	0	18	6	1
<i>Vulpes vulpes</i>	13	864	55	19
<i>Canis lupus</i>	2	103	11	5
<i>Nyctereutes procyonoides</i>	0	34	2	6
<i>Mustela putorius</i>	23	30	71	5
<i>Mustela nivalis</i>	6	77	3	4
<i>Mustela lutreola</i>	5	13	4	1
<i>Neovison vison</i>	1	1	0	5
<i>Martes foina</i>	7	70	10	8
<i>Martes martes</i>	14	40	18	4
<i>Meles meles</i>	12	45	28	7
<i>Vormela peregusna</i>	4	2	0	4
<i>Lutra lutra</i>	13	6	12	5
<i>Ursus arctos</i>	18	21	7	2
Разом	118	1324	227	76

1. У фондах ЗМЛГ станом на 01.07.2014 р. зберігається 76 зразків остеологічного матеріалу (черепів) хижих ссавців, що представляють 4 родини, 11 родів і 14 видів, переважно регіональної фауни.

2. В остеологічній колекції хижих ссавців ЗМЛГ зберігається 18 зразків 6 видів тварин, занесених до ЧКУ (2009), що загалом добре представляє раритетний сегмент теріофауни сходу України. 71 % видів, внесених до ЧКУ і відомих у складі фауни Луганщини, представлені в ЗМЛГ.

3. Найповніше в цій колекції репрезентована родина Mustelidae – 9 видів (43 зразки). Найменш представлена родина Felidae – 1 вид (1 зразок). Серед видів найбільше представлений вид *Vulpes vulpes* – 19 зразків.

4. Порівняно з іншими колекціями, кілька видів із колекції ЗМЛГ дуже добре доповнюють загальну вибірку: *Neovison vison* (від загальної кількості зразків виду) – 71 %, *Vormela peregusna* – 40 %, *Lutra lutra* – 14 %, *Nyctereutes procyonoides* – (14 %).

Автор щиро вдячний І.В. Загороднюку (ННПМ) – за допомогу в проведенні дослідження; А.Т. Затушевському (ЗМД) – за уточнення даних щодо зразків у колекції ЗМД; В.В. Ветрову (Луганське відділення УТОП) – за консультації; О.С. Климишину (ДПМ) – за надання даних щодо зразків із колекції ДПМ; С.П. Литвиненку (ЗМЛГ) – за уточнення даних щодо давніх зразків і за консультації; І.В. Шидловському (ЗМД) – за участь у обговоренні статті при підготовці до друку й уточнення даних щодо зразків у колекції ЗМД.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ветров В. В., Кондратенко А. В. Особенности питания филина (*Bubo bubo*) в Луганской области (Восточная Украина) // Вестн. зоологии. 2002. Т. 36. № 6. С. 31–38.
2. Загороднюк И. В. Зоологический музей Луганского национального университета: история, научная и образовательная ценность // Известия музейного фонда им. А.А. Браунера. Одесса. 2009. Т. 6. № 4. С. 1–8.
3. Загороднюк І., Коробченко М. Раритетна теріофауна східної України: її склад і поширення рідкісних видів // Раритетна теріофауна та її охорона. Луганськ, 2008. С. 107–156. (Праці Теріологічної Школи. Вип. 9).
4. Загороднюк І. В., Смельянов І. Г. Таксономія і номенклатура ссавців України // Вісн. Національного науково-природничого музею. 2012. Т. 10. С. 5–30.
5. Загороднюк І., Шидловський І. Акроніми назв найбільших зоологічних колекцій України при позначеннях зразків // Зоологічні колекції та музеї / Національний науково-природничий музей НАН України. Київ, 2014. С. 33–43. ISBN 978-966-02-7388-7.
6. Затушевський А. Т., Шидловський І. В., Закала О. С. та ін. Каталог колекцій ссавців Зоологічного музею Львівського національного університету імені Івана Франка. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка, 2010. 442 с. ISBN 978-966-613-980-4.
7. Колесников М., Кондратенко А. Современное состояние популяций редких хищных млекопитающих семейства Mustelidae на Юго-востоке Украины // Ученые записки Таврич. нац. ун-та им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». 2004. Т. 17 (56). № 2. С. 121–129.
8. Панченко С. Г. Методические указания в помощь студентам-заочникам географического отделения и учителям географии средних школ по изучению зоогеографии. Ворошиловград: ВГТ Ротапринт, 1977. 60 с.
9. Філіпенко С. Хребетні тварини Червоної книги України у колекції Зоологічного музею ЛНУ ім. Тараса Шевченка // Зоологічні колекції та музеї / Національний науково-природничий музей НАН України. К., 2014. С. 90–94. ISBN 978-966-02-7388-7.

10. Фомін С. Аналіз фондів пойкилотермних хребетних тварин Зоологічного музею Луганського університету ім. Тараса Шевченка // Зоологічні колекції та музеї / Національний науково-природничий музей НАН України. К., 2014. С. 95–100. ISBN 978-966-02-7388-7.
11. Червона книга України. Тваринний світ / за ред. І.А. Акімова. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 600 с. ISBN 978-966-97059-0-7.
12. Шевченко Л. С. Млекопитающие. Вып. 3. Хищные Carnivora, Зайцеобразные Lagomorpha (дополнение) / Каталог коллекций Зоологического музея ННПМ НАН Украины. К.: Зоомузей ННПМ НАН Украины, 2007. 80 с. ISBN 978-966-02-4462-7.
13. Шидловський І. В. Історія музейної справи та зоологічних музеїв університетів України / за ред. Й.В. Царика. Львів: ЛНУ ім. Івана Франка, 2012. 112 с. (Серія «Біологічні студії»). ISBN 978-966-613-940-8.
14. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Third edition / Ed. D.E. Wilson, D.A. Reeder. Washington, London: Johns Hopkins University Press, 2005. 2142 p. ISBN: 9780801882210.
15. Zagorodniuk I., Gavrilyuk M., Drebet M. et al. Wildcat (*Felis silvestris* Schreber, 1777) in Ukraine: modern state of the populations and eastwards expansion of the species // Біологічні студії / Studia Biologica. 2014. Vol. 8. N 3. P. 233–254.

Стаття: надійшла до редакції 01.11.16

доопрацьована 20.03.17

прийнята до друку 24.03.17

## CARNIVORE MAMMALS IN THE OSTEOLOGICAL COLLECTION OF THE ZOOLOGICAL MUSEUM OF LUHANSK NATIONAL UNIVERSITY

S. Filipenko

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: serjfil88@gmail.com*

The catalog of the osteological collection of carnivores (Mammalia) deposited in the Zoological Museum of Luhansk National University (ZMLG) has been compiled. The collection includes 76 specimens representing 14 species of 11 genera and 4 families of the order Carnivora. Analysis of the collection has been carried out and detailed description of the most valuable specimens is presented. There are 18 specimens in the collection belonging to 6 species listed in the Red Data Book of Ukraine (2009) and to 5 species (from 7 known) included into the Red List of Mammals of the Luhansk Region. The family Mustelidae is represented by the largest number of specimens in the collection – 43 specimens of 9 species, while the family Felidae represented by only a single specimen. The most represented in the collection by the number of samples is *Vulpes vulpes* – in total 19 specimens. Comparison of scope of the studied collection with other collections of main zoological museums of Ukraine has been carried out. It is shown that some species from the collection of ZMLG well complement the general sample from all of the museums. By the proportion in the general sample, some carnivores from the collection of ZMLG has a high value: *Neovison vison* (71 %), *Vormela peregusna* (40 %), *Lutra lutra* (14 %), *Nyctereutes procyonoides* (14 % of the total sample).

*Keywords:* Carnivora, osteological collection, Zoological museum of Luhansk National University

УДК 579.873:631.463

**SCREENING OF ACTINOMYCETES – POTENTIAL BIOCONTROL  
AGENTS OF THE TYPICAL TREES INFECTIONS**

**S. Tistechok, V. Fedorenko, O. Gromyko**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: o\_gromyko@franko.lviv.ua*

From the main ridge of Crimean mountains were isolated 564 strains of soil non-rhizospheric actinomycetes and 640 isolates from rhizosphere medicinal and endemic plants *Thymus roegneri* K. Koch aggr., *Jurinea sordida* Stev., *Helianthemum stevenii* Rupr. ex Juz. & Pozd., *Orchis purpurea* Huds., *Trinia bibershteinii* Fedoronch., *Potentilla depressa* Willd. ex D. F. K. Schldtl. Their antimicrobial properties were studied against phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* IMV 8511, *Xantomonas campestris* pv. *campestris* IMV 8003, *Agrobacterium tumefaciens* IMV 8628 i *Erwinia amylovora* Mi2 and fungi *Fusarium oxysporum* IMV 54201, *Aspergillus niger* IMV 16706, which are typical infectious diseases wide range of plants, including trees. Isolates with antibacterial and antifungal properties are more represented in the rhizosphere of plants. Overall, about half non-rhizospheric or rhizospheric isolates inhibited growth of at least one test-culture. Most antagonists were found in the rhizosphere *Thymus roegneri* K. Koch aggr. (67.4 %). least – in the rhizosphere *Helianthemum stevenii* Rupr. ex Juz. & Pozd. (39.8 %), there were 50.6 % among non-rhizospheric strains. Most isolates inhibited growth of *X. campestris* pv. *campestris* (almost 30 %), least – *P. syringae* (about 5 %) and fungi (not more 3 %). We isolated 18 strains, which are capable of inhibiting all used phytopathogenic bacteria (10 non-rhizospheric and 8 with rhizosphere of plants), 35 isolates inhibited growth *Fusarium oxysporum* and *Fusarium oxysporum*, of which 27 were non-rhizospheric. Also we isolated 4 strains of non-rhizospheric actinomycetes which showed activity against all used test-cultures. At the same time in non-rhizosphere soil more isolates were found that suppressed the growth of pathogenic bacteria or fungi, and 4 actinomycete strains have antimicrobial activity against all test-strains. We selected 57 isolates for further research that could be potential biocontrol agents of infectious diseases of trees.

*Keywords:* Actinomycetes, diseases of trees, biocontrol

Trees and woody crops occupy about 40 % of the world's land surface and are extremely important for life on Earth [4]. Except forests, large areas of agricultural land covered nurseries of fruit and ornamental trees. Also significant share is occupied by plantation parks in urban ecosystems. Wood plantations play a major role in nutrient cycling, prevent soil erosion, mitigate the effects of climate change [21]. Particularly important role trees play in the big cities as a powerful factor in combating natural and man-made urban pollution. However urban technological environments negatively affect the living condition of plants and reduces their resistance to infectious diseases [10].

The largest part of viruses, bacteria, fungi, nematodes cause a wide range of diseases of plants, including trees, reducing their life expectancy, phytoameliorative role and decorative appeal [3]. The most common phytopathogenic bacteria are genera *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Pectobacterium*, *Agrobacterium*, *Erwinia* etc. They can cause frostbite, leaf spot, necrosis, rot,



burns, tumors at the crown galls of the trees, and the plants root system, and often the cause epiphytotic [6, 8, 14, 27]. There are a variety soil pathogens such fungi (for example, *Fusarium*, *Armillaria*, *Botrytis*, *Aspergillus*, *Verticillium* etc.), which also cause a wide range of diseases of trees [3]. During the last decade, frequency of new emergent plant diseases, caused by microorganisms, is increased that are characterized by severe symptoms, control of which is challenging [22]. Given this search for new antimicrobial agents and the development of modern methods of biocontrol does't lose its relevance.

Inexhaustible natural source of bioactive compounds (enzymes, antibiotics, etc.), can inhibit the development of pathogens are microorganisms, including actinomycetes. About 75 % of known antibiotics produced by actinomycetes [4]. This soil microorganisms able to form a well-developed mycelium that colonized the root system of plants [2]. They play an important role in functioning of rhizosphere microbiota as antagonists of pathogens, producers of phytohormones of which are molecules able to transform insoluble mineral nutrients of plants. Today, there are many reports about use actinomycetes as biocontrol agents of infections diseases of crops as an alternative to agrochemicals [7, 12, 13]. However, there are very few reports, which presents data on the use of actinomycetes to protect the trees, especially in urban ecosystems [26].

The soil in the world – one of the major habitats actinomycetes. Composition of soils, climate, vegetation diversity have floated to their considerable diversity. From this perspective Crimean peninsula is a very interesting piece of the earth's land with a variety of continental climate in the north to subtropical in the southern Black Sea coast, a wide range of different types of soils and unique vegetation. The diversity and biological properties actinomycetes Crimean peninsula is poorly studied [1]. In previous studies we have described antagonistic properties actinomycetes of rhizosphere some plants, Nikita Botanical Gardens, located on the Crimean Peninsula, including strains revealed a number of broad antimicrobial properties [11], and producers of new antibiotics [18–20].

The aim of this work was screening of actinomycetes soil and rhizosphere of rare and endemic plants of the Crimean peninsula, that are capable of inhibiting pathogens a wide range of plants, and trees.

### Materials and methods

**Sampling of soil.** Samples of non-rhizosphere soil were taken in 2013 in six different parts of Ai-Petri (44°27'4"N, 34°3'10") in depth 3–5 sm (Fig. 1). Put them in a sterile paper bags. Collecting the rhizosphere samples was carried out on the slopes of the spine Nikita (44°33'40", 34°12'30") following way. Around the plants dug a small trench, once selected soil around the root system, sterile scissors cut the required number of roots, put them in a sterile paper bags. Samples of soil and plant roots stored at 4 °C.

**Isolation of actinomycetes.** Isolation of actinomycetes from soil samples was carried out in three ways: (I) 1 g soil sample was placed in a test-tube with 10 ml of sterile water and stirred for 15 minutes rocking; (II) 1 g soil sample was placed in a test-tube with 10 ml of 1.5% aqueous phenol and stirred for 30 minutes rocking; (III) 1 g sample of soil roasted for 60 minutes at 100 °C, on the same (I). Isolation of actinomycetes with rhizosphere sample performed similarly, but used a sample of 2–3 g of roots that are washed in a flask with 100 ml of sterile water or a solution of phenol.

The resulting suspension in a volume of 1 ml was transferred into a sterile microtubes, made a 10-fold dilution and plated breeding ( $10^{-2}$  –  $10^{-4}$ ) in a petri dish of the mediums: ISP3, ISP4 [23], medium with sodium propionate [28], medium with chitin [28], Gause 2 [9], HVA [29]. For inhibiting growth of other bacteria and fungi in the medium added nalidixic acid (25 µg/ml) and nystatin (50 µg/ml) [15]. Incubated for 24 days at 28 °C. Colonies were selected for

the characteristic actinomycetes growth and morphology. Selected culture isolates were stored in TSB with the addition of an equal volume of 50 % glycerol solution at -20 °C. Isolated strains of actinomycetes are deposited in the Culture Collection of Microorganisms – producers of antibiotics of Ivan Franko National University of Lviv.

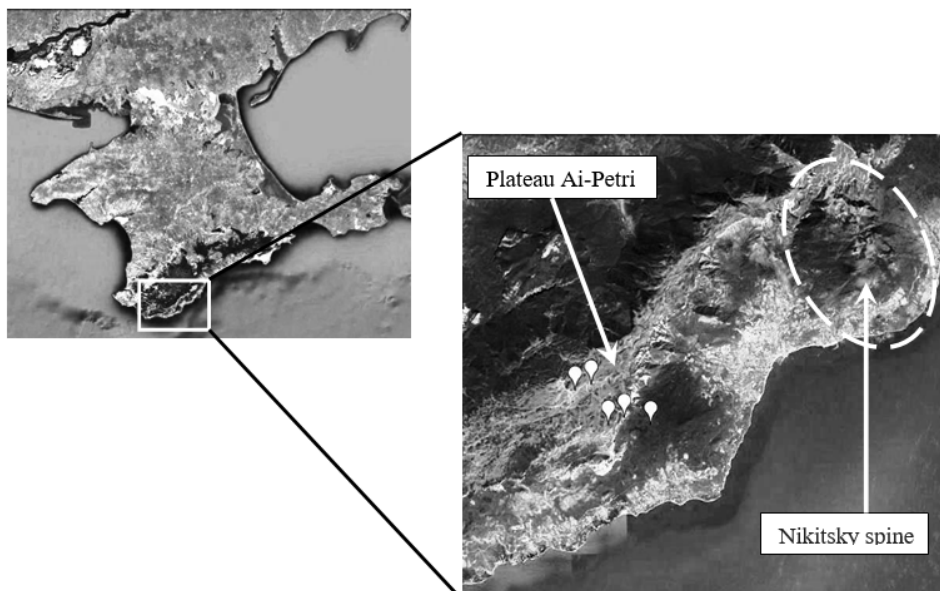


Fig. 1. Soil sampling points on the Crimean peninsula

**Test-organism.** For the study of antagonistic properties such test-cultures were used strains phytopathogens bacteria *Pseudomonas syringae* IMV 8511, *Xantomonas campestris pv. campestris* IMV 8003, *Agrobacterium tumefaciens* IMV 8628, *Erwinia amylovora* Mi2 and fungi *Fusarium oxysporum* IMV 54201, *Aspergillus niger* IMV 16706. Bacteria was grown in LA [15], fungi was grown in the Saburo-medium [15].

**Screening antagonistic activity.** Antagonistic properties of selected strains of actinomycetes against of bacteria were investigated by following way: on 6 isolates stab plated on Petri dishes with OM (oatmeal – 40 g, agar – 18 g, tap water – 1000 ml, pH 7.5). After 7 days growth of colonies formed, filled 0.7 % LA [3], which contained  $10^9$  cells/ml test-cultures. The results were evaluated by 2 days of growth for the formation of zones inhibition growth of test-cultures.

The ability to inhibit the growth of fungi studied using of double culture method. Isolates were seeded in the same way as has been described. After 3 days of growth strains actinomycetes centered agar plates seeded stab culture of the fungus. Results (growth inhibition test-cultures) evaluated after 3–4 days of growth.

**Statistical analysis.** Statistical analysis of the results was performed using Microsoft Excel.

### Results and discussion

Using three different approaches generally were isolated 1204 actinomycete-like isolates (Table 1). Of the six samples non-rhizosphere soil at Ai-Petri at an altitude of 1209 m.a.s.l. collectively isolated 564 isolates (376 – by direct seeding soil suspensions, 21 – after handling soil suspensions 1.5 % solution of phenol and 167 – after roasted). The remaining 647 isolates

isolated from the rhizosphere samples of medicine, rare and endemic plants Crimean peninsula, collected on the slopes Nikitskaya plateau at an altitude of 250 to 1200 m.a.s.l. Particularly from rhizosphere *Thymus roegneri* K. Koch aggr. were isolated 91 isolates, *Orchis purpurea* Huds. – 60, *Jurinea sordida* Stev. – 149, *Helianthemum stevenii* Rupr. ex Juz. & Pozd. – 108, *Trinia bibershteinii* Fedoronch. – 140, *Potentilla depressa* Willd. ex D. F. K. Schltdl. – 92 isolates.

Table 1

Distribution of actinomycetes in different soil samples

	I*	II	III	Total (%)
<b>Non-rhizospheric</b>	376	21	167	<b>564 (46.8)</b>
<b>Rhizospheric:</b>				
<i>Thymus roegneri</i> K. Koch aggr.	88	1	2	<b>91 (7.6)</b>
<i>Jurinea sordida</i> Stev.	146	0	3	<b>149 (12.4)</b>
<i>Helianthemum stevenii</i> Rupr. ex Juz. & Pozd.	100	8	0	<b>108 (9.0)</b>
<i>Orchis purpurea</i> Huds.	34	26	0	<b>60 (5.0)</b>
<i>Trinia bibershteinii</i> Fedoronch.	135	5	0	<b>140 (11.6)</b>
<i>Potentilla depressa</i> Willd. ex D. F. K. Schltdl.	56	36	0	<b>92 (7.6)</b>

**Note:** The processing techniques described in «Materials and methods»

After investigation of antagonistic properties of selected isolates revealed that about 50 % isolates of non-rhizospheric and rhizospheric found to inhibit at least one of the used test-cultures. Most strains are delayed growth of at least one test-culture isolated from the rhizosphere *T. roegneri* (67.4 %). Somewhat less active cultures found in the rhizosphere *J. sordida* (54.4 %), *O. purpurea* i *P. depressa* (to 53.3 %) and least – *T. bibershteinii* (49.3 %) and *H. stevenii* (39.8 %). Antagonistic properties among non-rhizospheric isolates revealed 50.6 % of strains.

Among non-rhizospheric isolates that have antibacterial properties against gram-negative phytopathogens, detained about a third growth *X. campestris pv. campestris* and 28.8 % *E. amylovora*. Considerably less was antagonists *A. tumifaciens* and *P. syringae* (7.3 and 5.1 %, respectively) (Fig. 2). The rhizospheric isolates also often suppressed growth *X. campestris pv. campestris* (24 % in the aggregate). Most of antagonists with pathogens inhibition properties were found in the rhizosphere *P. depressa* (39.1 %), *T. roegneri* (28.6 %) and *J. sordida* (26.8 %). About 16 % of all rhizosphere isolates suppressed growth of *E. amylovora*, the largest share of which was allocated from *T. roegneri* (33.7 %) and *P. depressa* (26.1 %) rhizosphere. Much less isolates of rhizospheric actinomycetes inhibited growth of *A. tumifaciens* (5.2 %); the largest proportion of strains were found in *T. roegneri* (11.2 %) and *O. purpurea* (10.0 %) rhizosphere, and the smallest – in *J. sordida* (0.7 %) rhizosphere. Only 2.3 % of rhizospheric actinomycete strains were capable of *P. syringae* growth suppression. In particular, there were about 5 % of them in *P. depressa*, *T. roegneri* and *H. stevenii* rhizosphere. In other plants rhizosphere antagonists of phytopathogenic was no more 1 %.

In addition, 10.3 % isolates were found among non-rhizospheric actinomycete strains. This isolates are capable of *A. niger* and less *F. oxysporum* (6.4 %) growth suppression (Fig. 3). The largest number of isolates with fungicidal activity among rhizospheric actinomycete strains were isolated from the rhizosphere of *J. sordida* (6.7 % to *F. oxysporum* and 10.7 % to *A. niger*). In the rhizosphere *T. roegneri*, *P. depressa* and *T. bibershteinii* antagonists of these fungi was not more than 2.2 %. There was no similar strains in rhizosphere of other studied plants.

We found 18 isolates capable to suppress all used phytopathogenic bacteria (10 non-rhizospheric and 8 in the rhizosphere of plans) among the studied strains (Table 2). There were 35 strains that would inhibit growth of *F. oxysporum* and *A. niger*; most of them (27 isolates) were isolated from non-rhizospheric soil samples. We selected 4 actinomycete strains, which have antimicrobial activity against all test-strains.

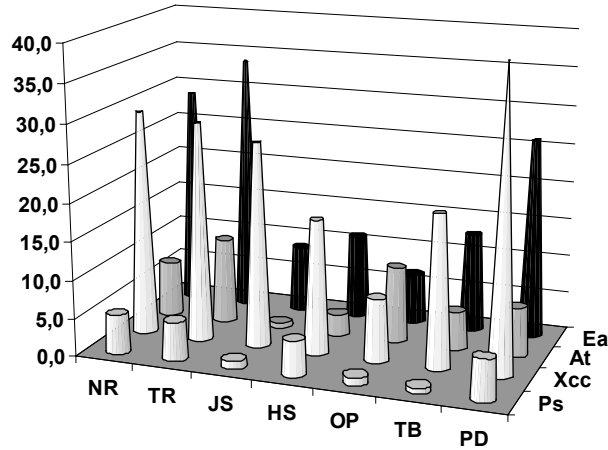


Fig. 2. Percentage of active actinomycete isolates antagonising different test-bacteria. Ps – *P. syringae*, Xcc – *X. campestris* pv. *campestris*, At – *A. tumifaciens*, Ea – *E. amylovora*, NR - Non-rhizospheric actinomycetes, TR – *T. roegneri*, JS – *J. sordida*, HS – *H. stevenii*, OP – *O. purpurea*, TB – *T. bibershteinii*, PD – *P. depressa*

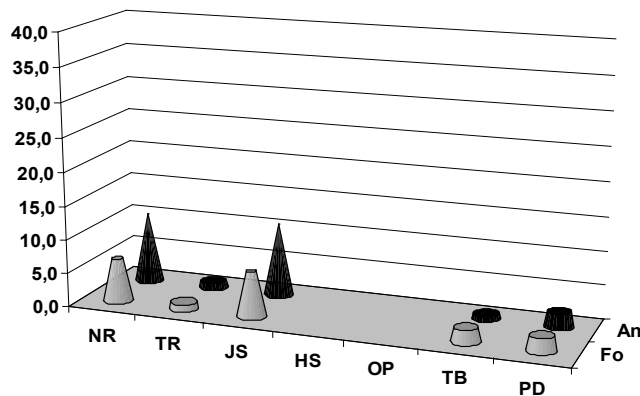


Fig. 3. Percentage of active actinomycete isolates antagonising different test-cultures. Fo – *F. oxysporum*, An – *A. niger*. The rest of the cuts as in Fig. 2

Table 2

Actinomycetes number of strains with a wide range of antagonistic activity

Soil sample	Bacteria	Fungi	Bacteria+Fungi
<b>Non-rhizospheric</b>	10	27	4
<b>Rhizospheric:</b>			
<i>Thymus roegneri</i> K. Koch aggr.	1	0	0
<i>Jurinea sordida</i> Stev.	3	1	0
<i>Helianthemum stevenii</i> Rupr. ex Juz. & Pozd.	1	4	0
<i>Orchis purpurea</i> Huds.	1	0	0
<i>Trinia bibershteinii</i> Fedoronch.	0	1	0
<i>Potentilla depressa</i> Willd. ex D. F. K. Schldl.	2	2	0
<b>Total</b>	<b>18</b>	<b>35</b>	<b>4</b>

These data shows that strains with antibacterial and antifungal properties are more represented in the rhizosphere of plants, than in non-rhizospheric soil. Apparently it is caused by increased concentration of nutrients in the root zone, especially in the area of root growth. So ac-

tinomycetes, competing for easily accessible power supply with other groups of microorganisms, resorting to the synthesis of biologically active molecules, including antibiotics to inhibit the development of competition. However, we found significantly more isolates that suppressed the growth of pathogenic bacteria, or fungi, or all used test-cultures in non-rhizosphere soil. Obviously, plants often affect the microbial communities in the rhizosphere as synthetics of a whole range of biologically active molecules, suppressing the growth of undesirable microorganisms than creating a certain extent an additional barrier to the active development of pathogens [25]. Soil, which was taken from the plants root system is aggressive habitats with increased levels of competition for power. So non-rhizospheric actinobacteria obviously have to synthesize a wider range of molecules with antimicrobial properties to fight for survival. The results of this study show, that about half isolated actinomycete strains from soil and rhizosphere of plants on the Crimean peninsula have potential as agents of biological control of many pathogenic bacteria and fungi, that can cause a wide range of plant diseases, including trees. However, most of them were found to inhibit no more than 1–2 pathogen strains. Similar results were obtained by researchers who isolated similar actinomycete strains from other natural biotops [16, 17, 24]. Meanwhile, some described isolates in this paper have a wide range of antagonistic properties, growth inhibiting of test-cultures used in this work.

Thus, we have selected 57 actinomycete strains that demonstrated the ability to inhibit the growth of a wide range of pathogenic microorganisms. The selected isolates may be potential biocontrol agents of infectious diseases of trees

*We express our sincere gratitude Tree Research & Education Endowment Fund (TREE Fund) for the financial support of the research grant within №14-JK-01.*

#### REFERENCES

1. *Andrejuk E. I., Vladymyrova E. V., Kohan S. B.* Actinomycetes of the soils of the south of the European part of the USSR and their biological activit. K.: Naukova Dumka, 1974. 143 p. (In Russian).
2. *Buée M., De Boer W., Martin F.* et al. The rhizosphere zoo: An overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors // *Plant Soil*. 2009. Vol. 321. P. 189–212.
3. *Cazorla F. M., Mercado-Blanco J.* Biological control of tree and woody plant diseases: an impossible task? // *BioControl*. 2016. Vol. 61. P. 233–242.
4. *Chaudhary H. S., Soni B., Shrivastava A. R.* et al. Diversity and versatility of actinomycetes and its role in antibiotic production // *J. Appl. Pharm. Science*. 2013. Vol. 3 (8 Suppl 1). P. S83–S94.
5. *Crowther T.W, Glick H. B, Covey K. R.* et al. Mapping tree density at a global scale // *Nature*. 2015. Vol. 525. P. 201–205.
6. *de Cleene M, de Ley J.* The host range of Crown gall // *Bot Rev*. 1976. Vol. 42. P. 388–466.
7. *Faheem M., Raza W., Zhong W.* et al Evaluation of the biocontrol potential of *Streptomyces goshikiensis* YCXU against *Fusarium oxysporum f. sp. Niveum* // *BioControl*. 2015. Vol. 81. P. 101–110.
8. Fire Blight: The Disease and its Causative Agent, *Erwinia amylovora*. // Edited by J.L. Vanneste / Wallingford, UK: CABI, 2000. 370 p.
9. *Gauze G. F., Preobrazhenskaya T. P., Sveshnikova M. A.* et al. The determinant of actinomycetes. M: Science, 1983. 245 p. (In Russian).
10. *Gnativ P. S.* Functional diagnostic of dendroecology: Scientific monograph. Lviv: Prospect “Kamula”, 2014. 336 p. (In Ukrainian).

11. Gromyko O. Antagonistic properties of actinomycetes from the ryzosphere of *Olea europaea* L. // Visnyk of Lviv Univ. Biology Series. 2012. Is. 59. P. 209–215. (In Ukrainian).
12. Janaki T., Nayak B.K., Ganesan T. Antifungal activity of soil actinomycetes from the mangrove *Avicennia marina* // J. Med. Plants Studies. 2016. Vol. 4(2). P. 5–8.
13. Kaur T., Sharma D., Kaur A., Manhas R. Antagonistic and plant growth promoting activities of endophytic and soil actinomycetes // Arch. Phyt. Plant Prot. 2013. Vol. 46. Iss.14. P. 1756–1768.
14. Kennelly M. M., Cazorla F.M., de Vicente A. et al. *Pseudomonas syringae* diseases of fruit trees—progress toward understanding and control // Plant Dis. 2007. Vol. 91. P. 4–17.
15. Kieser T., Bibb M., Buttner M. et al. Practical *Streptomyces* genetics. Norwich: John Innes Foundation, 2000. 634 p.
16. Ningthoujam D. S., Sanasam S., Nimaichand S. Screening of Actinomycete isolates from niche habitats in Manipur for antibiotic activity // Am. J. Biochem. Biotech. 2009. Vol. 5. N 4. P. 221–225.
17. Nurkanto A, Julistiono H., Agusta A., Sjamsuridza W. Screening antimicrobial activity of actinomycetes isolated from Raja Ampat, West Papua, Indonesia Makara // J. Sci. 2012. Vol. 16/1. P. 21–26.
18. Raju R., Gromyko O., Fedorenko V. et al. Rubimycinone A, a new anthraquinone from a terrestrial *Streptomyces* sp. // Tetrahedron Lett. 2013. Vol. 54. Is. 8. P. 900–902.
19. Raju R., Gromyko O., Fedorenko V. et al. Oleaceran: A novel npiro[isobenzofuran-1,2'-naphtho[1,8-bc]furan] isolated from a terrestrial *Streptomyces* sp. Organic Lett. 2013. Vol. 15. Is.14. P. 3487–3489.
20. Raju R., Gromyko O., Butsiak A. et al. Oleamycins A and B: new antibacterial cyclic hexadepsipeptides isolated from a terrestrial *Streptomyces* sp. // J. Antibiot. 2014. Vol. 67. P. 339–343.
21. Ruano-Rosa D, Mercado-Blanco J. Combining biocontrol agents and organics amendments to manage soil-borne phytopathogens. In: Meghvansi MK, Varma A (eds) Organic amendments and soil suppressiveness in plant disease management, soil biology // Springer Int. Pub. 2015. Vol. 46. P. 457–478.
22. Santini A., Ghelardini L., De Pace C. et al. Biogeographical patterns and determinants of invasion by forest pathogens in Europe // New Phytol. 2013. Vol. 197. P. 238–250.
23. Shirling E.B., Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species // Int. J. Syst. Bacteriol. 1966. Vol. 16. N 3. P. 313–340.
24. Taechowisan T., Peberdy J. F., Lumyoung S. Isolation of endophytic *Actinomycetes* from selected plants and their antifungal activity // World J. Microbiol. Biotechnol. 2003. Vol. 19. P. 381–385.
25. The handbook of microbial bioresources / Edited by V. Gupta, G. Sharma, M. Tuohy, R. Gaur. Boston: CABI, 2016. 700 p.
26. Vasconcellos R., Cardoso E. Rhizospheric streptomycetes as potential biocontrol agents of *Fusarium* and *Armillaria* pine rot and as PGPR for *Pinus taeda* // BioControl. 2009. Vol. 54. P. 807–816.
27. Williams P. H. Black rot: a continuing threat to world crucifers // Plant Dis. 1980. Vol. 64. P. 736–742.
28. Zenova G. M. Soil actinomycetes: Tutorial. M: MSU. 1992. 79 p. (In Russian).
29. Zhang J. Improvement of an Isolation Medium for Actinomycetes // Modern App. Sci. 2011. Vol. 5. N 2. P. 124–127.

## СКРИНІНГ АКТИНОМІЦЕТІВ – ПОТЕНЦІЙНИХ АГЕНТІВ БІОКОНТРОЛЮ ТИПОВИХ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ДЕРЕВ

С. Тістечок, В. Федоренко, О. Громико

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: o\_gromyko@franko.lviv.ua

На території головної гряди Кримський гір виділили 564 штами ґрунтових позаризосферних актиноміцетів і 640 ізолятів із ризосфери лікарських та ендемічних рослин *Thymus roegneri* K. Koch aggr., *Jurinea sordida* Stev., *Helianthemum stevenii* Rupr. ex Juz. & Pozd., *Orchis purpurea* Huds., *Trinia bibershteinii* Fedoronch., *Potentilla depressa* Willd. ex D. F. K. Schltl. Досліджено їхні антимікробні властивості проти фітопатогенних бактерій *Pseudomonas syringae* IMB 8511, *Xantomonas campestris* pv. *campestris* IMB 8003, *Agrobacterium tumefaciens* IMB 8628 і *Erwinia amylovora* Mi2 та грибів *Fusarium oxysporum* IMB 54201, *Aspergillus niger* IMB 16706 – типових збудників інфекційних захворювань широкого кола рослин, у т.ч. деревних порід. Ізоляти з антибактерійними й антифунгальними властивостями більшою мірою представлені в ризосфері рослин. Загалом близько половини позаризосферних чи ризосферних ізолятів пригнічували ріст хоча б однієї тест-культури. Найбільше антагоністів виявили в ризосфері *Thymus roegneri* K. Koch aggr. (67,4 %), найменше – в ризосфері *Helianthemum stevenii* Rupr. ex Juz. & Pozd. (39,8 %), серед позаризосферних штамів таких було 50,6 %. Найбільша кількість ізолятів затримувала ріст *X. campestris* pv. *campestris* (майже 30 %), найменша – *P. syringae* (близько 5 %) і грибів (не більше 3 %). Виділено 18 ізолятів, здатних пригнічувати всі використані фітопатогенні бактерії (10 позаризосферних і 8 із ризосфери рослин), 35 ізолятів пригнічували ріст і *F. oxysporum*, і *A. niger*, із яких 27 – позаризосферні. Також виділено 4 штами позаризосферних актиноміцетів, які виявляли активність проти всіх використаних тест-культур.

*Ключові слова:* Actinomycetes, захворювання дерев, біоконтроль

## ВПЛИВ КАЛІЙ БІХРОМАТУ НА ДЕЯКІ ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БАКТЕРІЙ ЦИКЛУ СУЛЬФУРУ ОЗЕРА ЯВОРІВСЬКЕ

О. Мороз, С. Гнатуш, Х. Богославець, Г. Яворська, Г. Звір, Б. Борсукевич

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: moroz\_oksana@yahoo.com

Встановлено, що за впливу 2–3 мМ  $K_2Cr_2O_7$  у інкубаційній суміші сповільнюється нагромадження біомаси й окиснення гідроген сульфід *Thiocapsa* sp. Ya-2003, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 і *Chlorobium limicola* IMB K-8 у середовищі ван Ніля з 4–10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ . У клітинах *C. limicola* IMB K-8, інкубованих з 3 мМ  $K_2Cr_2O_7$ , до 20 % знижується вміст глюкози та глікогену.  $K_2Cr_2O_7$  за концентрації 3,5 мМ у інкубаційній суміші майже удвічі пригнічує ріст і сульфідогенну активність *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5, *Desulfuromonas* sp. Yavor-7, *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-8. Досліджені бактерії з різною інтенсивністю використовують Cr (VI) як єдиний акцептор електронів у процесі анаеробного дихання за концентрацій 1,74–10,41 мМ  $K_2Cr_2O_7$  у середовищі Кравцова-Сорокіна. Найвищу біомасу бактерії *Desulfovibrio* sp. Yavor-7 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8 нагромаджували в середовищі з 1,74 мМ  $K_2Cr_2O_7$  (до 1,52 і 1,55 г/л, відповідно), яка виявилася в півтора разу нижчою, ніж у середовищі з фумаратом за цієї ж концентрації. Завдяки стійкості до  $K_2Cr_2O_7$  бактерії родів *Thiocapsa*, *Lamprocystis*, *Chlorobium*, *Desulfuromonas* і *Desulfovibrio*, виділені з озера Яворівське, можуть бути використані у технологіях, спрямованих на детоксикацію середовищ від гідроген сульфідів і сполук шестивалентного хрому.

**Ключові слова:** фототрофні сіркобактерії, сірко- і сульфатвідновлювальні бактерії, гідроген сульфід, йони біхромату

Сульфат- і сірковідновлювальні бактерії родів *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobacterium*, *Desulfocapsa*, *Desulfofrigus*, *Desulfobulbus*, *Desulfococcus*, *Desulfobacter*, *Desulfurella*, *Desulfuromusa*, *Desulfuromonas*, *Geobacter*, *Wolinella* у нішах із низьким окисно-відновним потенціалом беруть участь у трансформації органічних сполук, використовуючи їх як донори електронів дисиміляційної сульфат-, сірко- чи металоредукції [19, 22]. Утворений бактеріями  $H_2S$  взаємодіє з йонами металів, осаджуючи їх у формі сульфідів.

Надлишок  $H_2S$  в освітленій анаеробній зоні водойм утилізують фототрофні сіркобактерії, що значною мірою сприяє зниженню рівня гідроген сульфідів в доквіллі [18]. Ці бактерії беруть участь у нагромадженні органічних речовин у водоймах, збагачують середовище сполуками нітрогену, здійснюючи азотофіксацію, і можуть засвоюватись іншими організмами. Бактерії родин *Chromatiaceae* та *Chlorobiaceae* у процесі аноксигенного фотосинтезу окиснюють  $H_2S$  спочатку до сірки, а пізніше до сульфатів [18]. Фототрофні сіркобактерії стимулюють розвиток сірко- і сульфатвідновлювальних бактерій, постачаючи їм органічні речовини, сірку й сульфати [2, 18]. Під час асиміляції  $CO_2$  та деяких органічних речовин бактерії роду *Chlorobium* синтезують ендогенні вуглеводи – глюкозу та глікоген [2].

Хром є одним із найпоширеніших важких металів у літосфері ( $69 \text{ мкг} \times \text{г}^{-1}$ ), він потрапляє у доквілля з природних джерел (унаслідок виверження вулканів, лісових пожеж,



погодних катаклізмів), але в основному внаслідок промислового і побутового застосування (гальванічні, металургійні, машинобудівні, лісопереробні, шкіряні підприємства, фарби, пластик тощо) [24]. Cr (VI) – розчинний, дуже токсичний для живих організмів, мутагенний і канцерогенний для людини. Cr (III) – відносно нерозчинний за природних умов і тому менш токсичний, ніж Cr (VI) [23, 24]. Cr (VI), проникаючи крізь клітинну мембрану *Shewanella oneidensis* MR-1, *Pseudomonas putida* F1, *Cupriavidus metallidurans* CH34, *Arthrobacter* sp. FB24 системою ABC транспортерів сульфату [14], взаємодіє з внутрішньоклітинними відновниками (т. я. амінокислоти, нуклеотиди, цукри, органічні кислоти, глутатіон, флавоензими, вітаміни) і генерує хімічно активні інтермедіати Cr (V) і/або Cr (IV), вільні радикали і Cr (III) як кінцевий продукт [24]. Відновлення Cr (VI) до Cr (V) поєднується з утворенням  $H_2O_2$ . Взаємодія Cr (V) з  $H_2O_2$  призводить до утворення гідроксил-радикалів. Вважають, що генотоксичність і токсичність Cr (VI) обумовлена пошкодженням ДНК та білків, відповідно, кисневими радикалами, утвореними у результаті його відновлення. Cr (III) пошкоджує реплікацію ДНК, спричиняє мутагенез, змінює структуру й активність ферментів, взаємодіючи з карбоксильними і тіоловими групами [23].

Хоча ріст мікроорганізмів стимулюють низькі концентрації Cr (VI) у середовищі, його наявність модифікує експресію генів, продукти яких задіяні у метаболізмі вуглеводів, перетворенні амінокислот, утворенні й використанні енергії у формі АТФ тощо. За впливу 1 і 5 мМ Cr (VI) у *S. oneidensis* MR-1 і *Arthrobacter* sp. FB24, відповідно, зменшується кількість ферментів, задіяних у синтезі фосфоенолпірувату і пірувату, компонентів піруватдегідрогеназного комплексу, альдегіддегідрогенази, що призводить до зниження нагромадження біомаси [24].

Для виживання у забрудненому Cr (VI) довкіллі мікроорганізми мають ефективні системи нейтралізації його негативних впливів [24]. Описано локалізовані у хромосомній і/або плазмідній ДНК детермінанти стійкості до хроматів і біхроматів (гени, що кодують протеїни, задіяні у їх транспорті крізь мембрану) [17]. Інші відомі механізми стійкості до Cr (VI) – це специфічне видалення йонів хромату з цитоплазми системами викачування або позаклітинне відновлення Cr (VI) до Cr (III) [15, 22, 24]. За анаеробних умов *Deinococcus radiodurans* R1, *S. oneidensis* MR-1 і інші використовують Cr (VI) як акцептор електронів [15]. Цитохроми MtrA, MtrB, MtrC та ОмсА *S. oneidensis* MR-1 задіяні у дисиміляційній редукції не лише Cr (VI), але і Fe (III), U (VI), Tc (VII), причому встановлено, що MtrC та ОмсА є термінальними редуктазами Cr (VI) [15]. Мембранозв'язані металоредуктази у грамнегативних бактерій асоційовані зі зовнішнім боком мембрани для відновлення йонів металів поза клітиною [9, 22]. Три-, тетра- і декагемові цитохроми типу *c* у *Shewanella frigidimarina*, *Desulfovibrio vulgaris*, *Desulfuromonas acetoxidans* локалізовані між внутрішньою та зовнішньою мембранами й у периплазмі, через які електрони з цитоплазми від реакцій окиснення органічних сполук передаються назовні клітини, де власне і відновлюються йони металів [20].

Значення сульфат-, сірковідновлювальних і фототрофних сіркобактерій, виділених із техногенно змінених територій, у відновленні забруднених  $H_2S$  та сполуками шестивалентного хрому біоценозів досліджене недостатньо. Тому метою роботи було вивчити вплив калій біхромату на утилізацію  $H_2S$  і синтез внутрішньоклітинної глюкози та глікогену фототрофними пурпуровими й зеленими сіркобактеріями, а також дослідити його вплив на сульфідогенну активність і детоксикацію  $Cr_2O_7^{2-}$  за використання Cr (VI) як акцептора електронів сірко- та сульфатвідновлювальними бактеріями, виділеними з озера Яворівське, для оцінки ефективності можливого використання бактерій циклу сульфуру в технологіях очищення довкілля від токсичних сульфур- і металовмісних сполук.

### Матеріали та методи

Фототрофні пурпурові сіркобактерії *Thiocapsa* sp. Ya-2003 і *Lamprocystis* sp. Ya-2003, зелені сіркобактерії *Chlorobium limicola* IMB K-8, сірковідновлювальні бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5, *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 та сульфатвідновлювальні бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-8 виділені з озера Яворівське, ідентифіковані та зберігаються в колекції кафедри мікробіології ЛНУ імені Івана Франка [5–7, 10–12].

Фототрофні сіркобактерії культивували впродовж 10 діб у пробірках об'ємом 25 мл за анаеробних умов, температури 25–28 °С та постійного освітлення в модифікованому середовищі ван Ніля [3] такого складу (г/л):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 0,4;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,33;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,4;  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 0,05;  $\text{NaHCO}_3$  – 6,0;  $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$  – 1,0 (контроль); 1,25; 1,5; 2; 2,5 (4; 5; 6; 8; 10 мМ);  $\text{CH}_3\text{COONa}$  – 2,55;  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3\text{Na}$  – 1,0; вода дистильована – 1 л; мікроелементи SL10 – 2,0 мл;  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  – 1,0 г/л. Вітамін  $\text{B}_{12}$  (5 мкг/л), розчини (10 %)  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ,  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3\text{Na}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  та  $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$  стерилізували окремо і вносили у середовище перед посівом бактерій (густина засіву – 0,5 г/л). Значення рН середовища було слаболужним (рН~7,5) для пурпурових і нейтральним (рН~7,0) – для зелених сіркобактерій. Склад розчину мікроелементів SL10 (мг/л):  $\text{HCl}$  (25 %) – 10 мл;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 2000;  $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  – 190;  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  – 100;  $\text{ZnCl}_2$  – 70;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 36;  $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  – 24;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  – 6;  $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 2. Пурпурові сіркобактерії вирощували за освітлення 500–700 лк і довжини хвиль понад 800 нм, зелені – за освітлення 40 лк і довжини хвиль 700–800 нм. Інтенсивність освітлення вимірювали люксометром Ю-116.

Для вивчення впливу  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  на нагромадження біомаси, утилізацію  $\text{H}_2\text{S}$ , синтез внутрішньоклітинної глюкози та глікогену клітини *Thiocapsa* sp. Ya-2003, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 та *C. limicola* IMB K-8 вирощували до середини експоненційної фази росту, осаджували центрифугуванням (6 тис. об./хв, 30 хв), ресуспендували у стерильному розчині  $\text{NaCl}$  (0,9 %), інкубували годину [13] зі стерильним розчином  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (0; 1; 2; 3 мМ). Клітини двічі відмивали розчином  $\text{NaCl}$  (0,9 %), осаджували центрифугуванням, висівали у пробірки і вирощували в середовищі з  $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$  за різних концентрацій (4 (контроль); 5; 6; 8; 10 мМ). Культивували 10 діб, визначали біомасу турбідиметричним методом з використанням фотоелектроколориметра КФК-3 за довжини хвилі 660 нм для пурпурових сіркобактерій і 450 нм для зелених та оптичного шляху 3 мм [3]. Вміст гідроген сульфідів вимірювали в культуральній рідині спектрофотометричним методом за утворенням метиленової сині [3]. Вміст глюкози та глікогену в безклітинних екстрактах *C. limicola* IMB K-8 визначали ферментативно, за допомогою аналітичного набору “Діаглюк-2” [1].

Сірکو- та сульфатвідновлювальні бактерії вирощували 10 діб у пробірках об'ємом 25 мл за анаеробних умов, температури 30 °С у модифікованому середовищі Кравцова-Сорокіна [3] такого складу (г/л):  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$  – 0,84;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,5;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 0,16;  $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  – 0,1;  $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$  – 2,0. Перед посівом у середовище вносили 0,05 мл стерильного розчину  $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$  (1 %). Для доведення рН середовища до 7,2 використовували стерильний 10 н розчин  $\text{NaOH}$ . Клітини вносили в середовище у кількості 10 об. % до початкової концентрації  $10^8$  КУО/мл (0,05 г/л). Розчин  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  стерилізували окремо та вносили в середовище культивування *Desulfovibrio* sp. за концентрації 3,47 мМ. Сірку стерилізували окремо (0,7 атм) і вносили в середовище культивування *Desulfuromonas* sp. за концентрації не меншої, ніж 0,1 г/л (3,47 мМ – концентрація  $\text{SO}_4^{2-}$  у середовищі стандартного складу).

Для визначення впливу  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  на нагромадження біомаси й утворення  $\text{H}_2\text{S}$  сірко- та сульфатвідновлювальними бактеріями клітини, попередньо вирощені у середовищі з цистеїном ( $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$ ) за концентрації 0,2 г/л [9] для задоволення асиміляційних потреб

бактерій у сульфурі та фумаратом ( $C_4H_4O_4$ ) як акцептором електронів (3,47 мМ), осаджували центрифугуванням (6 тис. об./хв, 20 хв), ресуспендували в розчині NaCl (0,9 %), інкубували годину [13] зі стерильним розчином  $K_2Cr_2O_7$  (0 (контроль); 0,5; 2,5; 3,5 мМ), осаджували центрифугуванням, двічі відмивали розчином NaCl (0,9 %) і висівали в середовище з  $S^0$  або  $Na_2SO_4$ . Після 10 діб росту визначали вміст гідроген сульфідів та біомасу турбідиметричним методом з використанням КФК-3 за довжини хвилі 340 нм та оптичного шляху 3 мм [3].

Для дослідження нагромадження бактеріями біомаси за використання  $C_4H_4O_4$  (контроль) і  $K_2Cr_2O_7$  як акцепторів електронів клітини висівали в середовище з  $C_3H_7NO_2S$  (0,2 г/л). Стерильні 1 М розчини фумарату і калій біхромату вносили в середовище до їхніх кінцевих концентрацій, які у 0,5; 1 (контроль); 1,5; 2 і 3 рази відрізнялися від стандартного вмісту акцептора електронів середовища Кравцова-Сорокіна (1,74; 3,47; 5,21; 6,94; 10,41 мМ). Попередньо бактерії вирощували в середовищі з цистеїном (0,2 г/л) і фумаратом (3,47 мМ) до середини експоненційної фази росту. На 2, 4, 6, 8, 10 добу визначали біомасу. У культуральній рідині якісно визначали наявність біхромат-йонів [21].

Досліди повторювали тричі з трьома паралельними постановками для кожного варіанта експериментальних і контрольних умов. Отримані дані опрацьовували з використанням програми Microsoft Excel 2010. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента  $t$ . Достовірною вважалася різниця з рівнем значимості  $p \leq 0,05$  [4].

#### Результати і їхнє обговорення

Окиснені форми важких металів, зокрема, Cr (VI), Mn (IV), Fe (III), U (VI), є токсичнішими для мікроорганізмів, ніж відновлені [20]. Після потрапляння в клітину вони виявляють негативний вплив на метаболічні перетворення у ній, генеруючи активні інтермедіати й кисневі радикали, що призводить до інгібування конструктивних і енергетичних процесів [22]. Йони біхромату є одними з найтоксичніших для бактерій [24], тому перевіряли рівень інгібування ними росту і здатності фототрофних сіркобактерій здійснювати детоксикацію водних середовищ від гідроген сульфідів, зокрема, за високих його концентрацій у середовищі. Вивчали також вплив  $Cr_2O_7^{2-}$  на синтез глюкози та глікогену клітинами зелених сіркобактерій, оскільки відомо, що у цих бактерій зміщення метаболізму в бік анаболізму вуглеводів поєднується зі зниженням росту [2]. Інкубовані впродовж години з  $K_2Cr_2O_7$  (0; 1; 2; 3 мМ) пурпурові та зелені сіркобактерії вирощували у середовищі ван Ніля зі збільшеним у 1,25; 1,5; 2,0; 2,5 разу вмістом  $Na_2S \times 9H_2O$ .

Збільшення вмісту  $Na_2S \times 9H_2O$  у середовищі від 4 до 10 мМ пригнічувало нагромадження біомаси не інкубованими (до 1,8 разу) та інкубованими з  $K_2Cr_2O_7$  (до 5,2 разу) клітинами бактерій усіх досліджених штамів (рис. 1, А, Б, В).  $K_2Cr_2O_7$  за концентрації 1 мМ у інкубаційній суміші незначно інгібував нагромадження біомаси *Thiocapsa* sp. Ya-2003, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 та *C. limicola* IMB K-8 під час росту в середовищах з 4–10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ . Йони біхромату за концентрації 2 мМ не інгібували росту бактерій *Thiocapsa* sp. Ya-2003, вирощених у середовищах з 4, 5 і 6 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , але пригнічували його у бактерій, вирощених у середовищах з 8 та 10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , на 59,6 і 52,9 % відповідно.  $K_2Cr_2O_7$  за концентрації 2 мМ інгібував ріст бактерій *Lamprocystis* sp. Ya-2003, вирощених у середовищах з 8 та 10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , на 53,8 і 57,1 % відповідно, але значно не пригнічував його у бактерій *C. limicola* IMB K-8, вирощених у середовищах з 4–10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ . За впливу 3 мМ  $K_2Cr_2O_7$  нагромадження біомаси бактеріями *Thiocapsa* sp. Ya-2003 і *Lamprocystis* sp. Ya-2003, вирощеними у середовищах із різними концентраціями  $Na_2S \times 9H_2O$ , значно знижувалося (до 4,7 та 7,7 разу відповідно). Нагромадження біомаси

*C. limicola* ІМВ К-8 за впливу 3 мМ  $K_2Cr_2O_7$  знижувалося (до 3,4 разу) лише після культивування їх у середовищі з підвищеним вмістом (6–10 мМ)  $Na_2S \times 9H_2O$ .

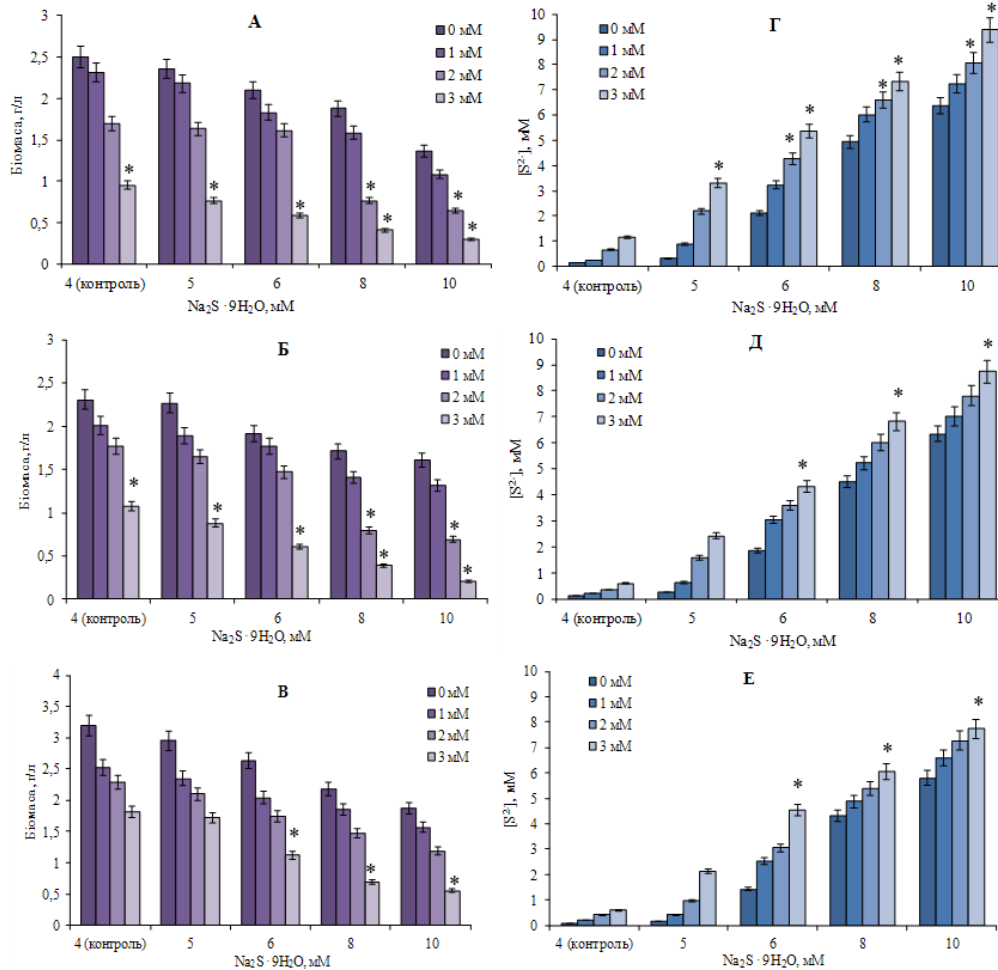


Рис. 1. Вплив  $K_2Cr_2O_7$  на нагромадження біомаси (А, Б, В) та утилізацію  $H_2S$  (Г, Д, Е) *Thiocapsa* sp. Ya-2003 (А, Г), *Lamprocystis* sp. Ya-2003 (Б, Д) і *C. limicola* ІМВ К-8 (В, Е) після 10 діб росту в середовищі з  $Na_2S \times 9H_2O$  за різних концентрацій. \* –  $p \leq 0,05$

Отже, пурпурові сіркобактерії *Thiocapsa* sp. Ya-2003 та *Lamprocystis* sp. Ya-2003, вирощені у середовищах з 8 та 10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , виявилися менш стійкими до 2 мМ  $K_2Cr_2O_7$ , порівняно із зеленими сіркобактеріями *C. limicola* ІМВ К-8, ріст яких значно знижувався за впливу 3 мМ  $Cr_2O_7^{2-}$  під час культивування у середовищі з вмістом  $Na_2S \times 9H_2O$  понад 6 мМ.  $K_2Cr_2O_7$  за концентрацій 2–3 мМ виявляв токсичнішу дію на клітини бактерій, вирощених у середовищах зі збільшеним у 1,5–2,5 разу вмістом  $Na_2S \times 9H_2O$ , що може бути обумовлено негативним впливом на мікроорганізми і  $Cr_2O_7^{2-}$ , і гідроген сульфід.

Рівень утилізації  $H_2S$  клітинами всіх штамів, не інкубованими з  $K_2Cr_2O_7$ , залежить від початкового вмісту  $Na_2S \times 9H_2O$  у середовищі (рис. 1, Г, Д, Е). Якщо вміст  $Na_2S \times 9H_2O$  у середовищі становив 4 мМ, то за 10 діб клітини *Thiocapsa* sp. Ya-2003 окиснювали 96,3 %, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 – 97,3 % і *C. limicola* ІМВ К-8 – 97,8 % наявного у середовищі

гідроген сульфід. Якщо його вміст у середовищі становив 10 мМ, то за 10 діб клітини бактерій окиснювали лише 36,1; 36,5 і 42,1 % відповідно наявного у середовищі  $H_2S$ .  $K_2Cr_2O_7$  за концентрації 1 мМ не впливав на окиснення  $H_2S$  *Thiocapsa* sp. Ya-2003, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 і *C. limicola* IMB K-8, вирощеними у середовищах з усіма досліджуваними концентраціями  $Na_2S \times 9H_2O$ . 2 мМ  $K_2Cr_2O_7$  у 1,9–2,3 разу пригнічував рівень окиснення  $H_2S$  лише клітинами *Thiocapsa* sp. Ya-2003, вирощеними у середовищі з 6–10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ .  $K_2Cr_2O_7$  за концентрації 3 мМ знижував рівень утилізації  $H_2S$  бактеріями *Thiocapsa* sp. Ya-2003, вирощеними у середовищі з 5–10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , у 2,8–6,0 разу. *Lamprocystis* sp. Ya-2003 і *C. limicola* IMB K-8, інкубовані з 3 мМ  $K_2Cr_2O_7$  та вирощені у середовищі з 6–10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , окиснювали  $H_2S$  у 2,5–2,9 і 1,9–3,1 разу менш ефективно, ніж неінкубовані.

Отже, за умови збільшення в 1,25–2,5 разу концентрації  $Na_2S \times 9H_2O$  у середовищі та за впливу 2–3 мМ  $K_2Cr_2O_7$  утилізація  $H_2S$  *Thiocapsa* sp. Ya-2003, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 і *C. limicola* IMB K-8 сповільнюється. Пурпурові фототрофні сіркобактерії *Thiocapsa* sp. Ya-2003, вирощені у середовищах з 5–10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , за здатністю окиснювати гідроген сульфід виявилися чутливішими до 2–3 мМ  $K_2Cr_2O_7$ , порівняно із *C. limicola* IMB K-8 та *Lamprocystis* sp. Ya-2003. Утилізація  $H_2S$  клітинами цих штамів, інкубованими з 3 мМ  $K_2Cr_2O_7$ , значно знижувалася під час культивування у середовищі з вмістом  $Na_2S \times 9H_2O$  понад 6 мМ.

Оскільки ріст і утилізація  $H_2S$  клітинами *C. limicola* IMB K-8 за впливу 3 мМ  $K_2Cr_2O_7$  значно знижувалися, досліджували його вплив за цієї концентрації на синтез ендогенних вуглеводів клітинами цих бактерій, вирощеними у середовищах з різним вмістом  $Na_2S \times 9H_2O$ . Виявлено, що вміст внутрішньоклітинної глюкози і глікогену практично не залежать від початкової концентрації  $Na_2S \times 9H_2O$  у середовищі культивування бактерій (рис. 2, А). Якщо у клітинах, вирощених у середовищі з 4 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , вміст глюкози становив 7,9 мг/г сухої маси клітин (с. м. к.), то у клітинах, вирощених у середовищі з 10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , її вміст становив 11,0 мг/г с. м. к. Вміст глікогену зі зростанням концентрації  $Na_2S \times 9H_2O$  у середовищі незначно зростає: від 44,1 мг/г с. м. к. у бактерій, вирощених у середовищі з 4 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , до 62,7 мг/г с. м. к. у бактерій, вирощених у середовищі з 10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ . За впливу  $K_2Cr_2O_7$  вміст глюкози та глікогену в клітинах, вирощених у середовищі зі зростаючим вмістом  $Na_2S \times 9H_2O$ , незначно знижувався, порівняно з неінкубованими клітинами (рис. 2, Б). Вміст глюкози у клітинах, вирощених у середовищі з 4 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , становив 6,9 мг/г с. м. к., а у клітинах, вирощених у середовищі з 10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , її вміст сягав 8,9 мг/г с. м. к. Вміст глікогену у бактерій, вирощених у середовищі з 4 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , становив 38,1 мг/г с. м. к., а у бактерій, вирощених у середовищі з 10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ , його рівень не перевищував 50,5 мг/г с. м. к.

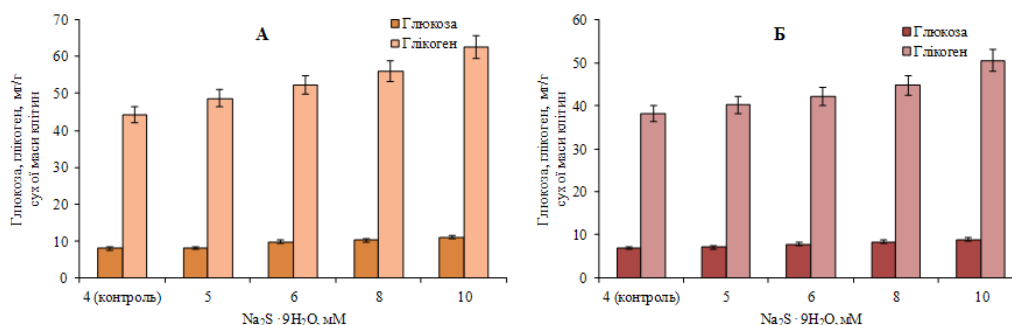


Рис. 2. Вміст внутрішньоклітинної глюкози та глікогену у *C. limicola* IMB K-8 без (А) і за впливу 3 мМ  $K_2Cr_2O_7$  (Б) після 10 діб росту в середовищі з  $Na_2S \times 9H_2O$  за різних концентрацій

Отже, інгібування росту *C. limicola* ІМВ К-8 йонами біхромату не супроводжується синтезом клітинами підвищених кількостей глікогену, очевидно, у зв'язку з блокуванням у них окремих ланок анаболізму вуглеводів. Вміст глюкози та глікогену в клітинах бактерій, інкубованих з 3 мМ  $K_2Cr_2O_7$  та вирощених у середовищах зі зростаючим вмістом  $Na_2S \times 9H_2O$ , знижується на 11,1–20,0 % і 13,6–20,1 %, відповідно, порівняно з неінкубованими клітинами.

Вивчали вплив  $K_2Cr_2O_7$  на нагромадження біомаси і сульфیدогенну активність *Desulphuromonas* sp. та *Desulfovibrio* sp. Для цього клітини інкубували впродовж години з розчином  $K_2Cr_2O_7$  за різних концентрацій (0 (контроль); 0,5; 2,5; 3,5 мМ), відмивали і вирощували впродовж 10 діб у середовищі з сіркою або  $Na_2SO_4$  (рис. 3). Встановлено, що зі зростанням концентрацій  $K_2Cr_2O_7$  під час інкубації клітин нагромадження ними біомаси й утворення  $H_2S$  знижувалися. Клітини сірко- та сульфатвідновлювальних бактерій, не інкубовані з  $K_2Cr_2O_7$ , за 10 діб нагромаджували біомасу до 2,62 та 3,12 г/л, відповідно. Нагромадження біомаси клітинами, інкубованими з 0,5, 2,5 і 3,5 мМ  $K_2Cr_2O_7$ , знижувалося на 20,2 і 16,3; 37,4 і 36,2; 50,8 і 47,4 %, відповідно (рис. 3, А, В). Якщо клітини, не інкубовані з  $K_2Cr_2O_7$ , за 10 діб утворювали до 1,69 і 2,49 мМ гідроген сульфід, відповідно, то клітини, інкубовані з 0,5, 2,5 і 3,5 мМ  $K_2Cr_2O_7$ , утворювали в 1,3 і 1,1; 1,6 і 1,8; 2,0 і 2,2 рази, відповідно, менше  $H_2S$ , ніж не інкубовані (рис. 3, Б, Г).  $K_2Cr_2O_7$  за концентрації 3,5 мМ у інкубаційній суміші виявився найтоксичнішим для бактерій усіх штамів, оскільки майже удвічі інгібував ріст *Desulphuromonas* sp. та *Desulfovibrio* sp. і рівень утворення ними  $H_2S$ .

Отже, йони біхромату за концентрації 3,5 мМ в інкубаційній суміші пригнічували ріст і сульфідогенну активність сірко- та сульфатвідновлювальних бактерій. Досліджені нами штами виявилися стійкими до  $K_2Cr_2O_7$  за концентрацій 0,5–2,5 мМ у інкубаційній суміші, тому вони можуть бути перспективними для використання в технологіях ремедіації довкілля від сполук металів біологічними методами.

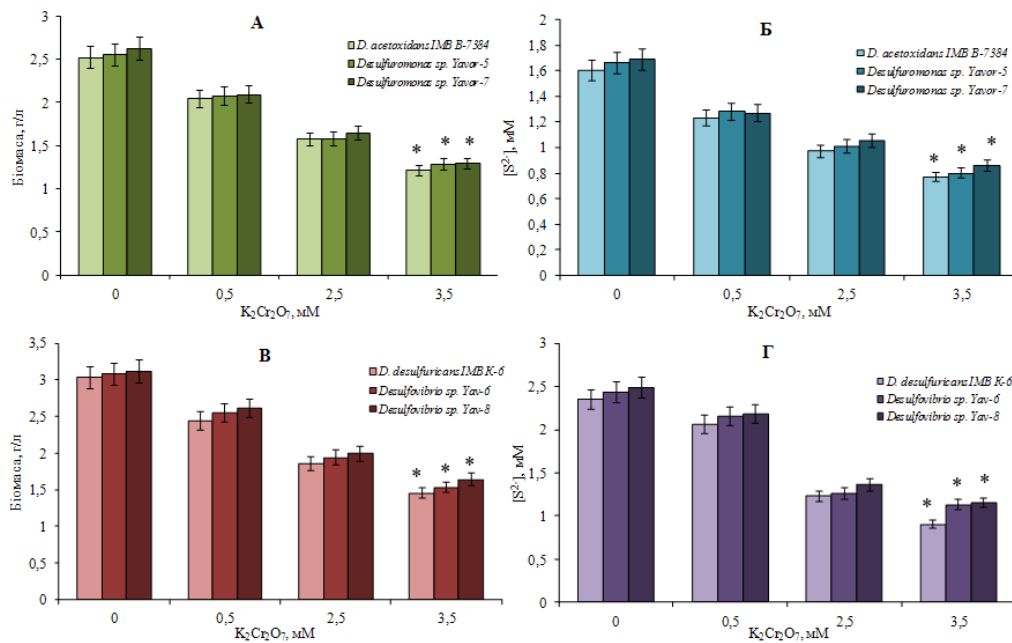


Рис. 3. Вплив  $K_2Cr_2O_7$  на нагромадження біомаси (А, В) та утворення  $H_2S$  (Б, Г) *Desulphuromonas* sp. (А, Б) та *Desulfovibrio* sp. (В, Г) після 10 діб росту в середовищі з  $S^0$  або  $Na_2SO_4$ . \* –  $p \leq 0,05$

Відомо, що Cr (VI) та інші метали зі змінною валентністю (Fe (III), Mn (IV), U (VI), Tc (VII), Pd (II), V (V), Mo (VI), Cu (II) тощо) можуть бути використані сірко- та сульфат-відновлювальними бактеріями як акцептори електронів у процесі анаеробного дихання, що є одним із механізмів захисту клітин від їхньої токсичної дії [20, 22, 24]. Відновлення йонів металів мембранозв'язаними металоредуктазами здійснюється поза клітиною, що супроводжується вивільненням у середовище значної кількості електронів, тому бактерії з екзоелектрогенними властивостями розглядають як можливі анодні біокатализатори у мікробних паливних елементах [9, 16, 22]. За високих концентрацій йони перехідних металів дуже токсичні для живих організмів, тому ефективність біологічних методів очищення довкілля від забруднювачів залежить від стійкості відібраних штамів бактерій до сполук металів. Досліджували вплив  $K_2Cr_2O_7$  за концентрацій, які у 0,5; 1 (контроль); 1,5; 2; 3 рази відрізнялися від вмісту сульфат-йонів у стандартному середовищі Кравцова-Сорокіна, на нагромадження біомаси сірко- та сульфатвідновлювальними бактеріями. Клітини вирощували в середовищах з цистеїном як джерелом сульфуру та калій бихроматом за концентрацій 1,74–10,41 мМ. Контрольним було середовище з цистеїном і фумаратом за аналогічних концентрацій. Відомо, що  $C_4H_4O_4$  бактерії відновлюють до сукцинату у процесі фумаратного дихання за участю ланцюга транспортування електронів, у складі якого є низка дегідрогеназ і фумаратредуктаза, зв'язані між собою пулом цитохромів типу *b* і менахінонів [9]. У середовищі з  $C_4H_4O_4$  не утворюється токсичний для клітин гідроген сульфід, а вихід біомаси майже такий, як у середовищі з елементною сіркою або йонами сульфату.

Встановлено, що *Desulfuromonas* sp. і *Desulfovibrio* sp. використовують йони бихромату як акцептор електронів за всіх його концентрацій у середовищі. Із зростанням концентрацій  $K_2Cr_2O_7$  у середовищі культивування виявлено зниження рівня нагромадження біомаси клітинами усіх штамів (рис. 4, А–В, рис. 5, А–В). Найвищу біомасу бактерії нагромаджували на 8–10 добу в середовищі з найнижчою концентрацією  $Cr_2O_7^{2-}$  – 1,74 мМ (до 1,52 і 1,55 г/л, відповідно), і найнижчу – з найвищою – 10,41 мМ (до 1,28 і 1,29 г/л, відповідно), що можна пояснити токсичним впливом  $Cr_2O_7^{2-}$  на клітини бактерій. На відміну від росту бактерій у середовищі з  $K_2Cr_2O_7$ , зі зростанням концентрацій фумарату в середовищі культивування від 1,74 до 3,47 мМ спостерігали зростання нагромадження біомаси бактеріями усіх штамів, але найвищу біомасу (до 2,54 і 2,57 г/л, відповідно) бактерії нагромаджували у середовищі з  $C_4H_4O_4$  за концентрації 5,21 мМ (рис. 4, Г–Е; рис. 5, Г–Е). Із подальшим зростанням концентрацій  $C_4H_4O_4$  у середовищі від 6,94 до 10,41 мМ біомаса знижувалася і не перевищувала 2,29 і 2,32 г/л, відповідно, можливо, у зв'язку з лімітуванням росту бактерій іншими факторами середовища. Хоча окисно-відновний потенціал у пари  $Cr_2O_7^{2-}/Cr^{3+}$  ( $E_0' = +1,33$  В) значно вищий, ніж у пари фумарат/сукцинат ( $E_0' = +0,03$  В) [9], використання  $K_2Cr_2O_7$  мікроорганізмами виявилось дуже сповільненим. За наявності в середовищі  $K_2Cr_2O_7$  за концентрації 1,74 мМ біомаса бактерій була приблизно у півтора разу нижчою, ніж у середовищі з  $C_4H_4O_4$  за цієї ж концентрації. Йони бихромату якісно виявляли в середовищі впродовж усього часу культивування бактерій усіх штамів, що свідчить про неповне їх використання клітинами у процесі анаеробного дихання, очевидно, у зв'язку з високою токсичністю для них  $K_2Cr_2O_7$  за концентрацій 1,74–10,41 мМ.

Отже, сірко- і сульфатвідновлювальні бактерії використовують Cr (VI) у складі  $Cr_2O_7^{2-}$  як акцептор електронів у процесі анаеробного дихання за концентрацій 1,74–10,41 мМ  $K_2Cr_2O_7$  у середовищі. Із зростанням концентрації  $K_2Cr_2O_7$  у середовищі інтенсивність росту бактерій знижується. Найвищу біомасу бактерії нагромаджують у середовищі з 1,74 мМ  $K_2Cr_2O_7$ , найнижчу – з 10,41 мМ калій бихромату у зв'язку з його токсичністю для бактерій. Виявлено майже у півтора разу нижчий вихід біомаси за використання бактерія-

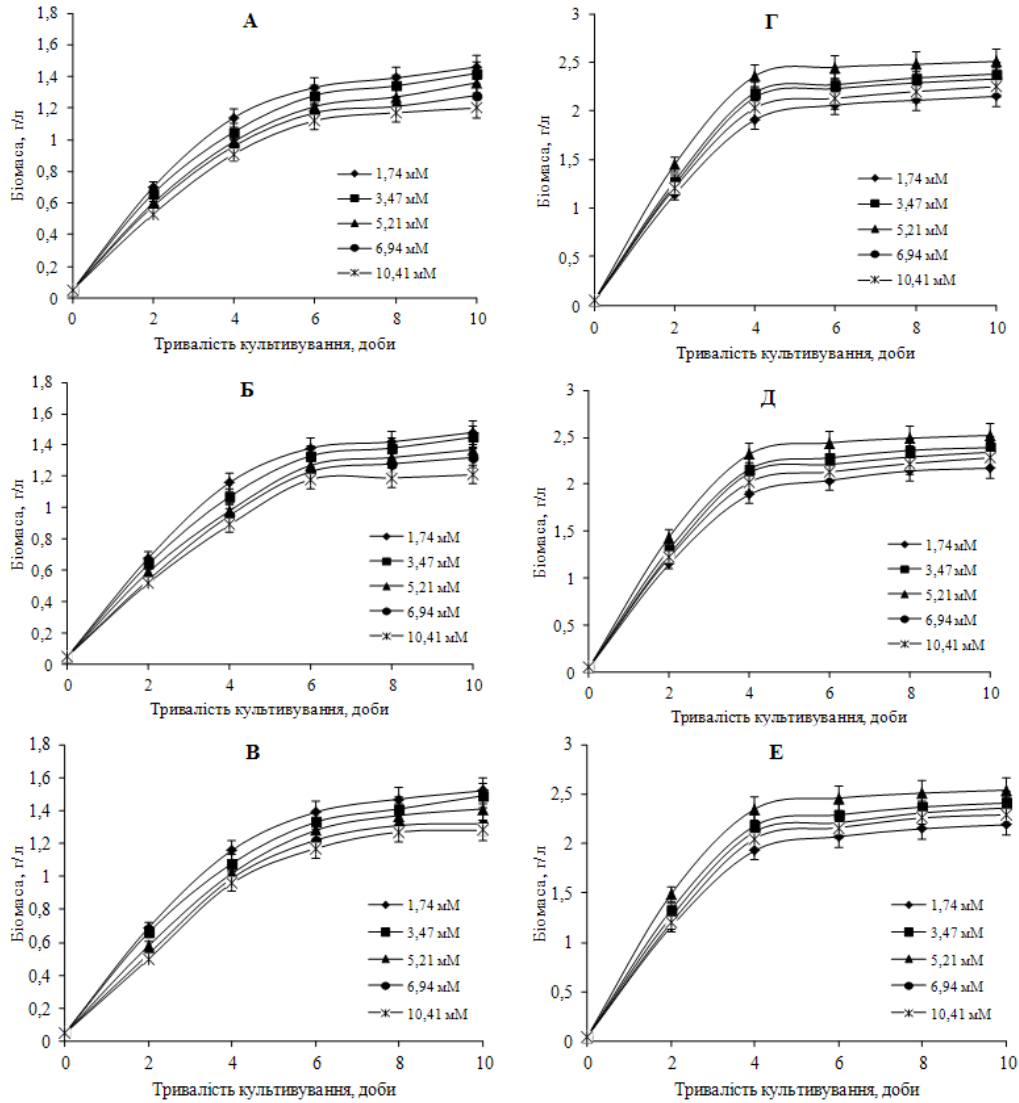


Рис. 4. Нагромадження біомаси *D. acetoxidans* IMB В-7384 (А, Г), *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 (Б, Д), *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 (В, Е) під час росту в середовищі з цистеїном і  $K_2Cr_2O_7$  (А, Б, В) або  $C_4H_4O_4$  (Г, Д, Е) за різних концентрацій

ми  $K_2Cr_2O_7$ , порівняно з використанням ними  $C_4H_4O_4$  за концентрації 1,74 мМ акцепторів електронів у середовищі. Найінтенсивніший ріст у середовищі з  $K_2Cr_2O_7$  та  $C_4H_4O_4$  за всіх концентрацій виявили бактерії *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8. Найвищу біомасу вони нагромаджували у середовищі з 1,74 мМ  $K_2Cr_2O_7$  (до 1,52 і 1,55 г/л, відповідно). За 10 днів росту всі досліджені бактерії повністю не відновили наявні у середовищі йони біхромату.

Незважаючи на те, що відновлення йонів біхромату за різних концентрацій у процесі анаеробного дихання бактеріями родів *Desulfuromonas* і *Desulfovibrio* відбувається з низькою інтенсивністю, у донних відкладах відновлення сполук шестивалентного хрому



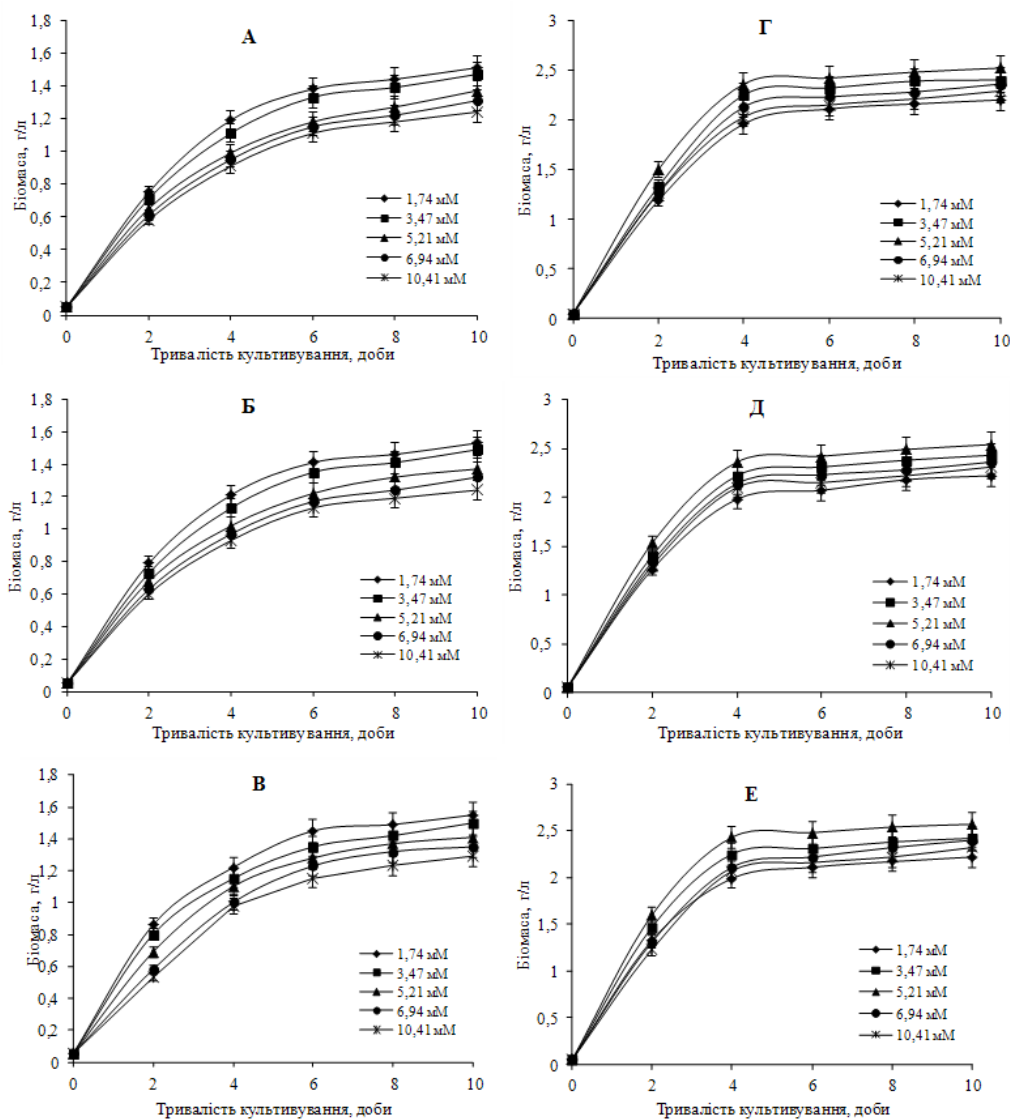


Рис. 5. Нагромадження біомаси *D. desulfuricans* IMB K-6 (А, Г), *Desulfovibrio* sp. Yav-6 (Б, Д) та *Desulfovibrio* sp. Yav-8 (В, Е) під час росту в середовищі з цистеїном і  $K_2Cr_2O_7$  (А, Б, В) або  $S_4O_6^{2-}$  (Г, Д, Е) за різних концентрацій

мікроорганізмами відіграє важливу роль у процесі окиснення органічних субстратів [20, 22]. Сірко- та сульфатвідновлювальні бактерії, виділені з озера Яворівське, виявилися стійкими до йонів біхромату за концентрацій до 10,41 мМ у середовищі, тому вони можуть бути використані в технологіях очищення довкілля від токсичних сполук хрому. Вивчення фізіолого-біохімічних властивостей бактерій *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8, які нагромаджували найбільшу біомасу під час росту в середовищі з йонами біхромату за усіх концентрацій, порівняно з іншими штамами, перспективне для подальших досліджень з метою повнішого розкриття їхнього біотехнологічного потенціалу.

Отже, виявлено, що за впливу 2–3 мМ  $K_2Cr_2O_7$  у інкубаційній суміші сповільнюються ріст і окиснення  $H_2S$  клітинами фототрофних сіркобактерій родів *Thiocapsa*, *Lamprocystis* і *Chlorobium* у середовищі з 4–10 мМ  $Na_2S \times 9H_2O$ . У клітинах *C. limicola* ІМВ К-8, інкубованих з 3 мМ  $K_2Cr_2O_7$ , знижується вміст глюкози та глікогену. Припускаємо, що йони біхромату, які потрапляють у клітину бактерій під час інкубації, виявляють негативний вплив на метаболічні перетворення у ній, зокрема, блокуючи аноксигенний фотосинтез, у процесі якого здійснюється детоксикація докільця від  $H_2S$ , та окремі ланки анаболізму вуглеводів. Йони біхромату за концентрації 3,5 мМ у інкубаційній суміші інгібують ріст і сульфیدогенну активність бактерій *Desulfuromonas* sp. та *Desulfovibrio* sp. Можливо, йони біхромату, проникаючи крізь клітинну мембрану бактерій і взаємодіючи з внутрішньоклітинними метаболітами, генерують хімічно активні радикали та хром (III) як кінцевий продукт, що спричиняє інгібування процесів сіркового або сульфатного дихання, наслідком яких є утворення  $H_2S$  і нагромадження біомаси. Сіркові та сульфатвідновлювальні бактерії з різною інтенсивністю використовують Cr (VI) у складі  $Cr_2O_7^{2-}$  за концентрацій 1,74–10,41 мМ у середовищі як єдиний акцептор електронів у процесі анаеробного дихання. Завдяки екзоелектрогенним властивостям цих бактерій Cr (VI) відновлюється мембранозв'язаними металоредуктазами поза клітиною, що забезпечує їм стійкість до сполук шестивалентного хрому за концентрацій понад 10 мМ і здатність виживати у забруднених середовищах. Завдяки стійкості до  $Cr_2O_7^{2-}$  за концентрацій до 2–2,5 мМ бактерії родів *Thiocapsa*, *Lamprocystis*, *Chlorobium*, *Desulfuromonas* і *Desulfovibrio*, виділені з озера Яворівське, які беруть участь у різних ланках метаболізму сполук сульфуру, можуть бути використані у технологіях, спрямованих на детоксикацію забруднених середовищ від гідроген сульфідів і біхроматів, оскільки біогенний гідроген сульфід взаємодіє з йонами металів з утворенням їхніх нерозчинних сульфідів, а його надлишок у освітленій зоні водойм утилізують фототрофні сіркові бактерії. У процесі дисиміляційної металоредукції бактерії родів *Desulfuromonas* і *Desulfovibrio* відновлюють Cr (VI) у складі йонів біхромату (до 10,41 мМ) і переводять його до менш токсичної форми (Cr (III) [8, 24]), що є незаперечною їхньою перевагою у практичному застосуванні.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гончар М. В. Чутливий метод кількісного визначення пероксиду водню та субстратів оксидаз у біологічних об'єктах // Укр. біохім. журнал. 1998. Т. 70. № 5. С. 157–163.
2. Горішний М., Гудзь С., Гнатуш С. Метаболізм глюкози та глікогену у клітинах зелених фотосинтезувальних сіркових бактерій *Chlorobium limicola* Ya-2002 // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 129–136.
3. Гудзь С. П., Гнатуш С. О., Яворська Г. В., Білінська І. С., Борсукевич Б. М. Практикум з мікробіології: підручник. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2014. 436 с.
4. Деркач М. П., Гумецький Р. Я., Чабан М. С. Курс варіаційної статистики. К.: Вища школа, 1977. 208 с.
5. Кім Л. Я., Гудзь С. П. Пурпурові сіркобактерії з водойм Яворівського родовища сірки // Мікробіол. журнал. 2007. Т. 69. № 1. С. 12–19.
6. Мороз О. М. Закономірності утворення сірководню сульфатвідновлювальними бактеріями водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2010. Вип. 27. С. 56–63.
7. Мороз О. М., Перетятко Т. Б., Клим І. Р. та ін. Сірковідновлювальні бактерії озера Яворівське: деякі морфологічні, культуральні і фізіологічні особливості // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2013. Вип. 35. С. 34–41.

8. Перетятко Т., Гудзь С. Відновлення сполук шестивалентного хрому сульфатвідновлювальними бактеріями // Біологічні студії / *Studia biologica*. 2010. Т. 4. № 2. С. 53–62.
9. Современная микробиология. Прокариоты / ред. Й. Ленгелер, Г. Древе, Г. Шлегель; пер. с англ. М.: Мир, 2005. Т. 1. 654 с.
10. Свідоцтво про депонування асоціації сульфатвідновлювальних бактерій Ya-11 (*Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 і *Pseudomonas* sp.) / Т.Б. Перетятко, А.А. Галушка, С.П. Гудзь, С.О. Гнатуш. Реєстр. ном. ІМВ К-6 від 21.01.09.
11. Свідоцтво про депонування консорції бактерій *Chlorobium limicola* Ya-2002 і *Pseudomonas* sp / М.Б. Горішний, С.О. Гнатуш, О.М. Мороз, О.В. Левицька, С.П. Гудзь. Реєстр. ном. ІМВ К-8 від 02.11.10.
12. Свідоцтво про депонування штаму бактерій *Desulfuromonas acetoxidans* Ya-2006 / С.П. Гудзь, С.О. Гнатуш, О.М. Мороз, Т.Б. Перетятко, О.М. Василів. Реєстр. ном. ІМВ В-7384 від 10.04.13.
13. Таширевіч А. Б. Взаимодействие микроорганизмов с металлами // Микробиол. журнал. 1995. Т. 57. № 2. С. 95–104.
14. Aguilar-Barajas E., Diaz-Perez C., Ramirez-Diaz M. I. et al. Bacterial transport of sulfate, molybdate, and related oxyanions // *Biometals*. 2011. Vol. 24. P. 687–707.
15. Belchik S. M., Kennedy D. W., Dohnalkova A. C. et al. Extracellular reduction of hexavalent chromium by cytochromes MtrC and OmcA of *Shewanella oneidensis* MR-1 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2011. Vol. 77. P. 4035–4041.
16. Bilyy O. I., Vasylyv O. M., Hnatysh S. O. The anode biocatalyst with simultaneous transition metals pollution control. Technology and Application of Microbial Fuel Cells. Rijeka, Croatia: InTech, 2014. 96 p.
17. Caballero-Flores G. G., Costa-Navarrete Y. M., Ramirez-Diaz M. I. et al. Chromate-resistance genes in plasmids from antibiotic-resistant nosocomial enterobacterial isolates // *FEMS Microbiol. Lett.* 2012. Vol. 327. P. 148–154.
18. Caumet P. Ecology and general physiology of anoxygenic phototrophic bacteria in benthic environments. In: *Microbial mats: physiological ecology of benthic microbial communities* / X. Coren and E. Rosenberg Eds. Washington: American Soc. for Microbiology, 2003. P. 383–404.
19. Fonseca B. M., Paquete C. M., Neto S. E. et al. Mind the gap: cytochrome interactions reveal electron pathways across the periplasm of *Shewanella oneidensis* MR-1 // *Biochem. J.* 2013. Vol. 449. N 1. P. 101–108.
20. Gescher J., Kappler A. Microbial metal respiration: from geochemistry to potential applications. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2012. Vol. 8. 236 p.
21. Harris D. C. Quantitative Chemical Analysis. 6-th ed. 2003. 928 p.
22. Richter K., Schicklberger M., Gescher J. Dissimilatory reduction of extracellular electron acceptors in anaerobic respiration // *Appl. Environ. Microbiol.* 2012. Vol. 78. N 4. P. 913–921.
23. Sobol Z., Schiestl R. H. Intracellular and extracellular factors influencing Cr (VI) and Cr (III) genotoxicity // *Environ. Mol. Mutagen.* 2012. Vol. 53. P. 94–100.
24. Viti C., Marchi E., Decorosi F., Giovannetti L. Molecular mechanisms of Cr (VI) resistance in bacteria and fungi // *FEMS Microbiol. Rev.* 2014. Vol. 38. N 4. P. 633–659.

Стаття: надійшла до редакції 02.09.16

доопрацьована 23.12.16

прийнята до друку 12.01.17

## POTASSIUM DICHROMATE INFLUENCE ON SOME PHYSIOLOGICAL PECULIARITIES OF SULFUR CYCLE BACTERIA FROM YAVORIVSKE LAKE

O. Moroz, S. Hnatush, Ch. Bohoslavets, G. Yavorska, G. Zvir, B. Borsukevych

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: moroz\_oksana@yahoo.com*

It was established that under the influence of 2–3 mM  $K_2Cr_2O_7$  in incubation mixture biomass accumulation and hydrogen sulfide oxidation by *Thiocapsa* sp. Ya-2003, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 and *Chlorobium limicola* IMV K-8 in van Niel medium with 4–10 mM  $Na_2S \times 9H_2O$  are slow down. In cells of *C. limicola* IMV K-8, incubated with 3 mM  $K_2Cr_2O_7$ , up to 20 % decreased content of glucose and glycogen.  $K_2Cr_2O_7$  at concentration of 3.5 mM in incubation mixture approximately twice inhibited biomass accumulation and sulfidogenic activity of *Desulfuromonas acetoxidans* IMV V-7384, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5, *Desulfuromonas* sp. Yavor-7, *Desulfovibrio desulfuricans* IMV K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-8. Investigated bacteria with different intensity used Cr (VI) as sole electron acceptor in process of anaerobic respiration at concentrations of 1.74–10.41 mM of  $K_2Cr_2O_7$  in Kravtsov-Sorokin medium. Highest biomass bacteria *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 and *Desulfovibrio* sp. Yav-8 accumulated in medium with 1.74 mM  $K_2Cr_2O_7$  (up to 1.52 and 1.55 g/l, accordingly), which revealed approximately at 1.5 fold lower than in medium with fumarate at same concentration. Owing to  $K_2Cr_2O_7$  resistance bacteria of *Thiocapsa*, *Lamprocystis*, *Chlorobium*, *Desulfuromonas* and *Desulfovibrio* genera, isolated from Yavorivske Lake, may be used in technologies, directed on environment detoxication from hydrogen sulfide and hexavalent chromium compounds.

**Keywords:** phototrophic sulfur bacteria, sulfur and sulfate reducing bacteria, hydrogen sulfide, dichromate ions

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ ПУРПУРОВИХ НЕСІРКОВИХ БАКТЕРІЙ *RHODOPSEUDOMONAS SP. Ya-2016*

О. Тарабас\*, С. Гнатуш, Б. Осташ, Г. Мутенко, О. Кошла

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: otarabas@gmail.com*

Виділено чисту культуру пурпурових несіркових бактерій із води озера Яворівське (Львівська область, Україна), яке утворилося в результаті затоплення території сіркового кар'єру. Суспензія виділеного штаму Ya-2016 має рожево-червоне забарвлення. Віброїдні клітини є рухомими, грамнегативними, не утворюють спор. Розміри клітин 1,5–1,8 x 0,4–0,46 мкм. У клітинах бактерій виявлені внутрішні мембрани везикулярного типу. Ріст штаму пригнічується за внесення NaCl (1 г/л). Як субстрати для фототрофного росту бактерії використовують сульфід, тиосульфат і низку органічних сполук. Для росту потребують вітамін B<sub>12</sub>. Нуклеотидна послідовність консервативної ділянки гена 16S рРНК виявляє високу подібність (99 % ідентичних залишків у попарному вирівнюванні методом BLASTN) до 16S рРНК бактерій роду *Rhodospseudomonas*. На основі дослідження морфологічних характеристик і аналізу нуклеотидних послідовностей гена 16S рРНК пурпурові фотосинтезувальні несіркові бактерії штаму Ya-2016, виділені з води озера Яворівське, ідентифіковані як *Rhodospseudomonas sp. Ya-2016*.

*Ключові слова:* фототрофні бактерії, пурпурові несіркові бактерії, *Rhodospseudomonas sp.*

Озеро Яворівське (Львівська обл., Україна) розташоване на сполученні Східноєвропейської платформи з Передкарпатським крайовим прогином. В основі геологічного перерізу тут залягають відкладення крейди, а на них лягає карбонатно-сульфатна товща. Частина її заміщена сірковою рудою, що утворює поклади товщиною до 30 м, шириною до 4–5 км і довжиною до 20 км. За розрахунками в озеро надійшло 20 % підземної води, 20 % опадів із площі водозабору, 60 % річкової води. Показано, що за вмісту кисню у поверхневих водах 50 мг/л в суміші залишиться до 5 мг/л сірководню [1]. Унаслідок хімічного та біологічного окиснення сполук сульфуру зростає концентрація сульфат-іонів у водоймі. Біологічне відновлення сульфатів супроводжується нагромадженням гідроген сульфіду у водоймі. Його концентрація є доволі високою у верхніх шарах водойми та зростає з глибиною. Утворений сульфатвідновлювальними бактеріями сірководень є донором електронів у процесі фотосинтезу для пурпурових і зелених сірковобактерій. Його концентрація у воді, очевидно, може бути показником інтенсивності перебігу аноксигенного фотосинтезу, а отже, свідчить про очищення води за участю фотосинтезувальних бактерій [2, 4].

Фототрофні пурпурові бактерії поділяють на сіркові пурпурові бактерії класу *Gammaproteobacteria* та пурпурові несіркові бактерії класів *Alphaproteobacteria* і *Betaproteobacteria* [10, 11]. Ці мікроорганізми використовують відновлені сполуки сульфуру в процесі аноксигенного фотосинтезу [14]. Пурпурові несіркові бактерії широко розповсюджені у природі, про що свідчить їхнє виділення із найрізноманітніших джерел, у тому числі з прісних водойм, морських прибережних відкладень, стічних вод і навіть продуктів метаболізму дощових черв'яків [11].

Вони здатні використовувати сполуки сірки, такі як сульфід. Деякі пурпурові несіркові бактерії є фотолітоавтотрофами і використовують відновлені сполуки сульфуру [16]. Також вони можуть рости або за анаеробних умов при освітленні, або за аеробних у темноті, використовуючи різні органічні сполуки як джерела карбону та донори електронів [9].

Метою роботи було виділити з озера Яворівське й ідентифікувати фототрофні пурпурові несіркові бактерії, які можуть бути використані для створення біотехнологічної схеми очищення води, забрудненої гідроген сульфідом.

#### Матеріали та методи

Проби води відбирали за методом Столбунова-Рябова у прибережній зоні Яворівського озера з глибини 1 м [7]. Їх висівали на чашки Петрі з модифікованим середовищем АТСС№1449 без додавання  $\text{NaHCO}_3$  і вирощували упродовж 16 діб при 28 °С [4]. Анаеробні умови створювали з використанням генбоксів і кисеньпоглинаючих генераторів GENbox anaer (Франція). Відібрані штами бактерій культивували у рідкому модифікованому середовищі АТСС№1449 у пробірках об'ємом 20 мл, щільно закритих гумовими корками за температури 28 °С і рН 6,8–7,3 [4]. Як джерело світла використовували лампи розжарювання різної потужності. Інтенсивність освітлення вимірювали люксометром Ю-116. Біомасу клітин визначали турбідиметрично, використовуючи КФК–3, за довжини хвилі 660 нм.

Для дослідження використання бактеріями різних сполук сульфуру як донори електронів у середовище вносили натрій тіосульфат, натрій сульфід або елементну сірку. Для вивчення здатності бактерій засвоювати органічні сполуки як основне джерело карбону до середовища додавали у концентрації 12 мМ глюкозу, малат, гліцерол, пептон, дріжджовий екстракт, піруват натрію і ацетат натрію.

Морфологію клітин досліджуваних бактерій вивчали з використанням трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ–100–01 при напрузі 75 кВ і збільшеннях від 3 000 до 19 000 [3, 8]. Концентрацію гідроген сульфідну визначали фотометрично за утворенням метиленої сині [17].

Ідентифікацію фототрофних пурпурових бактерій проводили на основі морфологічних властивостей [5] і за результатами біоінформатичного аналізу *in silico* нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК. Пошук гомологів виконували з використанням програми BLASTN на сервері NCBI [12].

Для секвенування 16S-кодувальних послідовностей ДНК виділяли з 1 мл культури. Лізис клітин проводили протягом 5 хв за температури 65 °С розчином такого складу: 6 М гуанідин тіоціанат, 50 мМ натрій ацетат, 5 мМ ЕДТА, 5 % тритон X-100. Після цього в кожну пробірку додавали 25 мкл 0,1 % сіліки. Сорбент двічі відмивали розчином 70 % етанолу, висушували при 65 °С протягом 10 хв. Надалі ДНК зі сорбенту ресуспендували в 50 мкл трис-ЕДТА буферу (рН6,0) [6]. Виділену ДНК візуально виявляли методом електрофоретичного розділення та зберігали за температури -20 °С [13]. 16S рДНК ампліфікували зі сумарної ДНК штаму за допомогою дегенерованих праймерів 117F (5'GAGTTTGATCCTGGCTCAG3') та 1502R (5'GGCTACCTGTTCAG3'). Амплікон очікуваного розміру (прибл. 1,5 т.п.н.) очищували за допомогою набору "QiaQuick" ("Qiagen", США) і далі секвенували методом Сенгера з використанням вищеописаних праймерів.

#### Результати і їхнє обговорення

Із проб води озера Яворівське було отримано нагромаджувальну культуру, в якій виявлено значну кількість невеликих віброїдних клітин без внутрішньоклітинної сірки. Відсутність глобул сірки всередині клітини є однією з основних ознак пурпурових несіркових бактерій [5]. Було виділено чотири штами пурпурових несіркових бактерій. Для подаль-

ших досліджень було відібрано штамп Ya-2016, який найшвидше використовував гідроген сульфід зі середовища.

Як перший крок до ідентифікації культури несіркових фототрофних бактерій, виділеної з води Яворівського сіркового родовища, нами виконано секвенування консервативної ділянки гена 16S рРНК. Виявлено, що нуклеотидна послідовність останньої виявляє високу подібність (99 % ідентичних залишків у попарному вирівнюванні методом BLASTN) до 16S рРНК бактерій роду *Rhodopseudomonas*. Досліджуваний нами штамп позначено як *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016. Філогенетичний аналіз засвідчив, що найближчими до *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016 виявилися бактерії *Rhodopseudomonas* sp. A7, *Rhodopseudomonas* sp. J5-3, *Rhodopseudomonas palustris* DX-1 (рис. 1). Водночас жоден зі секвенованих нині видів цього роду не є достатньо близьким до *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016 на філогенетичному дереві (не лежать на одній кладі), аби стверджувати, що *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016 належить до описаного виду.

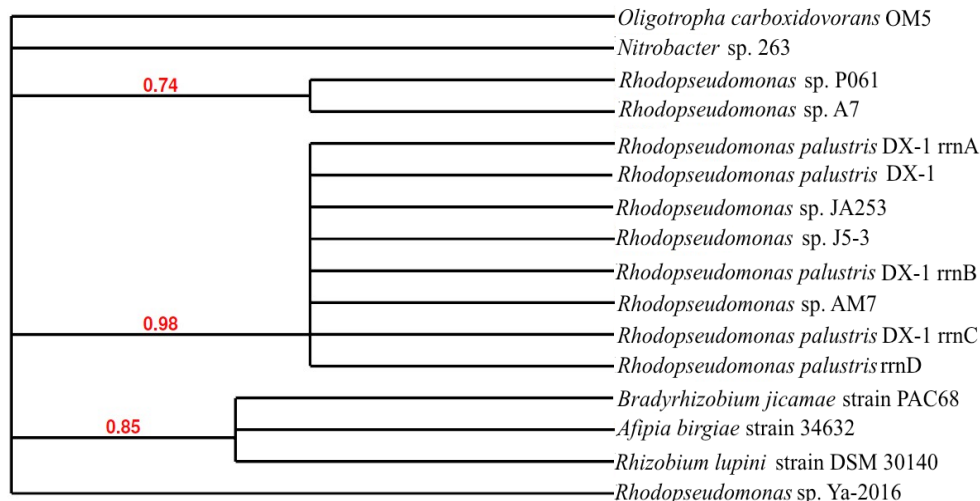


Рис. 1. Філогенетичне дерево нуклеотидних послідовностей гена 16S рРНК бактерій порядку *Rhizobiales*

Дерево обчислено на основі алгоритму максимальної вірогідності на сервері phylogeny.fr. Досліджувану послідовність позначено як *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016. Топологію дерева оцінено методом обчислення індексу aLRT (значення індексу наведено на кладах дерева, у частках від 1); знівельовано всі ноди зі значенням aLRT менше 0,5.

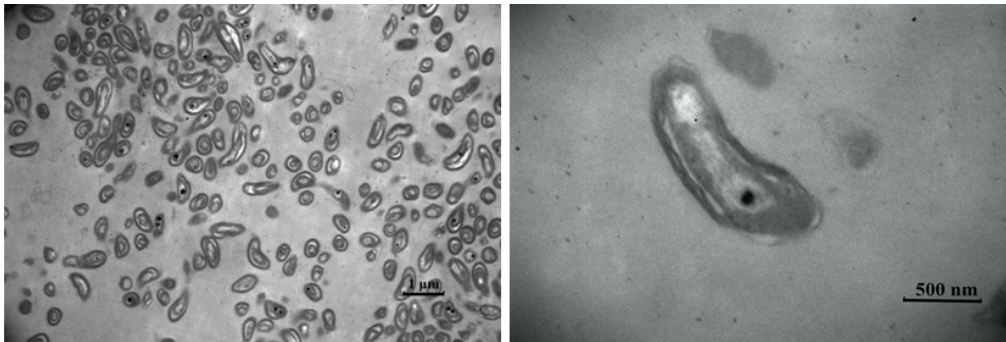
Бактерії *Rhodopseudomonas palustris* Ya-2010/A виділили із озера Яворівське раніше [2], тому цікаво було порівняти властивості обох штамів (див. таблицю). Бактерії роду *Rhodopseudomonas* здатні рости фототрофно або хемотрофно, причому найкращим типом метаболізму для них є фотогетеротрофія [5]. Встановлено, що бактерії *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016 як основне джерело карбону можуть використовувати різні органічні сполуки: піруват натрію, ацетат натрію, гліцерол, малат, пептон, дріжджовий екстракт. Спостерігали незначний ріст у середовищі з глюкозою, пропіонатом і елементною сіркою (див. таблицю). Для росту досліджені бактерії потребують вітаміну B<sub>12</sub>.

Необхідно зазначити, що ріст бактерій *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016 пригнічувався за внесення NaCl (1 г/л), на відміну від *R. palustris* Ya-2010 [2]. У середовищі з натрій сульфідом і натрій гіосульфатом спостерігається значний приріст біомаси (1,2 і 1,4 г/л відповідно), на відміну від середовища з елементною сіркою.

Серед описаних у літературі пурпурових несіркових бактерій *Rhodopseudomonas blastica* і *Rhodocyclus purpureus* [15] є єдиними видами цієї групи мікроорганізмів, у яких не спостерігали руху. Клітини нового ізоляту, виділені з озера Яворівське, є рухомими, грамнегативними, не утворюють спор. При вирощуванні в рідкому середовищі культура має рожево-червоне забарвлення. Клітини вібріоїдної форми, поодинокі (рис. 2, А, Б), на відміну від паличкоподібних клітин *R. palustris* (Ya-2010). Після 10 діб культивування довжина клітин була від 1,5 до 1,8 мкм, а ширина від 0,4 до 0,46 мкм. Оптимальний ріст клітин спостерігали за температури +27...+30 °С і рН 6,8–7,3.

Порівняльна характеристика використання субстратів для фототрофного росту ізолятами *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016 і *Rhodopseudomonas palustris* Ya-2010 («+» – наявність росту, «-» – відсутність росту, (+) – незначний ріст)

Субстрати	<i>Rhodopseudomonas</i> sp. Ya-2016	<i>R. palustris</i> Ya-2010 [2]
Гліцерол	+	-
Глюкоза	(+)	-
Малат	+	+
Піруват натрію	+	+
Ацетат натрію	+	+
Пропіонат	(+)	+
Натрій сульфід	+	+
Натрій тіосульфат	+	+
Елементна сірка	(+)	-
Дріжджовий екстракт	+	Не досліджували
Пептон	+	Не досліджували



А

Б

Рис. 2. Клітини виділених пурпурових несіркових бактерій *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016 (електронна мікроскопія, х 3 000, А) та (електронна мікроскопія, х 19 000, Б)

Таким чином, на основі морфологічних властивостей, а також на основі аналізу *in silico* нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК можна стверджувати, що виділена культура належить до фототрофних несіркових бактерій *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016.

Автори публікації висловлюють подяку співробітникові міжкафедральної лабораторії фізичних методів дослідження у геології ЛНУ імені Івана Франка Ю. Р. Дацюку за допомогу в дослідженні ультраструктури клітин.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гайдін А. М., Зозуля І. І. Нові озера Львівщини / Гірхімпром. Львів, 2009. 105 с.
2. Гнатуш С. О., Лаврик С. В. Характеристика пурпурових несіркових бактерій *Rhodopseudomonas palustris* з озера Яворівське (Україна) // Мікробіологія і біотехнологія. 2013. № 4. С. 24–25.



3. *Голдстейн Дж., Ньюбери Д., Эчлин П.* Растровая электронная микроскопия и рентгеновский микроанализ: в 2-х кн. / пер. с англ. М.: Мир, 1984. 303 с.
4. *Гудзь С. П., Горішний М. Б., Гнатуш С. О.* Бактеріальний фотосинтез: навч. посіб.: [для студ. вищ. навч. закл.]. Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2011. 179 с.
5. *Определитель бактерий Берджи* / под ред. Дж. Хоулта, Р. Крига, П. Снита, Дж. Стейли и С. Уильямса. М.: Мир, 1997. 432 с.
6. *Полімеразна ланцюгова реакція в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб: навч.-метод. посіб. для лікарів* / за ред. І. В. Дзюблик, Н. Г. Горовенко. К.: НМАПО ім. П. Л. Шупика, 2012. 219 с.
7. *Родина А. Г.* Методы водной микробиологии: практ. руководство. М.; Л.: Наука, 1965. 363 с.
8. *Уикли Б. С.* Электронная микроскопия для начинающих / пер. с англ. М.: Мир, 1975. 338 с.
9. *Akiba T., Usmani R., Horikoshi K.* Rhodopseudomonas rutila, a new species of non-sulfur purple photosynthetic bacteria // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1983. Vol. 33. N 3. P. 551–556.
10. *Drews G., Imhoff J.-F.* Phototrophic purple bacteria // *Variations in Autotrophic Life.* Academic Press, London. 1991. P. 51–97.
11. *Frigaard N.-U., Dahl C.* Sulfur metabolism in phototrophic sulfur bacteria // *Adv. Microb. Physiol.* 2008. Vol. 54. P. 103–200.
12. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
13. <http://www.interlabservice.ru/about/amplisens>
14. *Nitschke W., Rutherford A.* Photosynthetic reaction centres: variations on a common structural theme? // *Trends Biochem.* 1991. Vol. 16. P. 241–245.
15. *Pfenning N., Truper G.* The Rhodospirillales (phototrophic or photosynthetic bacteria) // *In Handbook of Microbiology.* CRC Press. 1973. Vol. 1. P. 17–27.
16. *Sander J., Dahl C.* Metabolism of inorganic sulfur compounds in purple bacteria // *Advances in photosynthesis and respiration.* Springer, Dordrecht. 2008. Vol. 28. P. 595–622.
17. *Sugiyama M.* Reagent composition for measuring hydrogen sulfide and method for measuring hydrogen sulfide // *United States Patent.* 2002. № 6340596.

Стаття: надійшла до редакції 21.10.16

доопрацьована 13.02.17

прийнята до друку 15.02.17

## IDENTIFICATION OF PURPLE NON- SULFUR BACTERIA OF *RHODOPSEUDOMONAS* SP. Ya-2016

**O. Tarabas, S. Hnatush, B. Ostash, G. Mutenko, O. Koshla**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: otarabas@gmail.com*

Pure culture of purple non-sulfur photosynthetic bacteria was isolated from waters of lake Yavorivske (Lviv region, Ukraine), which was formed as a result of flooding of the sulfur career. The suspension of the selected isolate Ya-2016 is of pinkish-red colour. Vibrioid cells are gramnegative, motile and incapable to form spores. The cells size is 1,5–1,8 x 0,4–0,46 μm. The photosynthetic membrane systems of this strain is of the vesicular type.

Growth of bacteria was inhibited by introducing NaCl (1 g/l). These bacteria use sodium sulfide, sodium thiosulfate and a number of organic compounds as substrates for phototrophic growth. Vitamin B<sub>12</sub> is required as the growth factor. The nucleotide sequence of conservative area of 16S rRNA gene shows high similarity (99 % identical residues in pairwise alignment method BLASTN) to the 16S rRNA bacteria of the genus of *Rhodopseudomonas*. Based on the research of morphophysiological characteristics and the analysis of nucleotide sequences of 16S rRNA gene the purple photosynthetic bacterial strain Ya-2016, isolated from lake Yavorivske, has been identified as *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016.

*Keywords:* phototrophic bacteria, purple nonsulfur bacteria, *Rhodopseudomonas* sp.

УДК: 57.017.647

## **ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ТАУРИНУ НА ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЩУРІВ**

**Р. Остапів<sup>1,2</sup>, Х. Скиба<sup>1</sup>, В. Манько<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

*<sup>2</sup>ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок  
вул. Донецька, 11, Львів 79019, Україна  
e-mail: romostapiv@gmail.com*

Досліджено вплив тривалого перорального введення таурину на фізіолого-біохімічні показники крові щурів як маркери функціонального стану організму тварин. Дослідження проведені на самцях щурів лінії Wistar (n=16) віком 4 місяці та масою 140–160 г. Тварин розділяли на чотири групи (по n=4) – контрольну, шурам якої протягом 28 днів щоденно вводили у стравохід питну воду (контроль), і три дослідні, яким вводили 5 (I дослідна група), 10 (II дослідна група) та 20 (III дослідна група) мг таурину/кг маси тіла. Встановлено, що у тварин II дослідної групи зростає вміст гемоглобіну як у цільній крові, так і в одному еритроциті. У щурів II та III дослідних груп швидкість оксигенації гемоглобіну зростає щодо контролю у 1,5 та 2,5 рази відповідно, а концентрація глюкози у плазмі крові знижується на 36,7 та 18,4 %. Вміст холестерину у плазмі крові щурів усіх дослідних груп залишається на рівні контролю, а активність лактатдегідрогенази у цільній крові зростає. У плазмі крові тварин III дослідної групи знижується активність лужної фосфатази й аланінамінотрансферази. Активність аспартатамінотрансферази у плазмі крові тварин усіх дослідних груп не відрізняється від значень контролю. За таких умов коефіцієнт де Рітуса зростає у щурів I та III дослідних груп. Обговорюється роль таурину як активатора метаболізму.

*Ключові слова:* таурин, кров, щурі, глюкоза, швидкість оксигенації гемоглобіну, лактатдегідрогеназа, еритроцити, гемоглобін

Відомо, що таурин використовується у харчовій промисловості в дозах 5–20 мг на літр чи кілограм продукту і що його споживання не є строго регламентованим [5] і може мати як позитивний, так і негативний впливи на організм людини і тварин. Виявлено, що високі дози таурину за тривалого введення порушують гомеостаз крові у щурів. Так, за перорального введення таурину протягом 30–60 днів у дозах 40–500 мг/кг знижується вміст гемоглобіну у крові та в одному еритроциті [5], однак зростає кількість еритроцитів [3], що може спричинити порушення дихальної функції крові. За тривалого перорального введення доз 250 та 500 мг/кг знижується кількість тромбоцитів і лімфоцитів, але збільшується кількість нейтрофілів, що вказує на зміни у захисних функціях крові. При цьому високі дози таурину мають і позитивний вплив. Так, за тривалого перорального введення таурину у щодобовій дозі 40 мг/кг протягом 30 днів знижуються концентрація глюкози та вміст глікозильованого гемоглобіну [6], а систолічний тиск зростає [7]. За випоювання 2 %-ного розчину таурину знижується концентрація холестерину у крові [17]. Крім цього, за 60-добового перорального введення таурину (40 мг/кг) зростає активність ензимів антиоксидантного захисту і знижується вміст продуктів перекисного окиснення у цільній крові шу-

рів [5]. Виявлено, що навіть одноразове введення таурину в дозі 43 мг/кг має позитивний ефект – знижує периферичний опір судин і релаксацію кільця аорти у щурів [7].

Отже, ефекти таурину в різних дозах є і позитивними, і негативними. Важливо встановити, у якій дозі позитивні ефекти таурину будуть домінувати над негативними. Метою роботи було дослідити вплив тривалого перорального введення таурину в низьких дозах (5–20 мг/кг) на фізіолого-біохімічні показники крові щурів, визначити оптимальні дози таурину й ефекти, які вони спричиняють.

#### Матеріали та методи

Дослідження проведені на самцях щурів лінії Wistar віком 4 місяців та масою 140–160 г. Тварин розділяли на чотири групи – контрольну (n=4), щурам якої протягом 28 діб щоденно вводили у стравохід питну воду (контроль), і три дослідні (по n=4), щурам якої вводили таурин у дозах [8]: 5 – I дослідна, 10 – II дослідна та 20 мг/кг маси тіла – III дослідна групи. На 29-ту добу експерименту щурів декапітували під легким ефірним наркозом, відбирали кров (у пробірку з гепарином) і визначали кількість еритроцитів підрахунком у камері Горяєва. Вміст гемоглобіну у крові визначали гемігلوبінціанідним методом [2], а швидкість оксигенації гемоглобіну – полярографічно. У комірку полярографа додавали 0,98 мл фосфатно-сольового буферу (склад: NaCl – 0,137 моль/л, KCl – 2,68 ммоль/л, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 7,74 ммоль/л, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,47 ммоль/л, MgCl<sub>2</sub>–1,05 ммоль/л, рН 7,2) та 0,02 мл цільної свіжовідібраної крові, після чого реестрували поглинання кисню. Активність лактатдегідрогенази у цільній крові (ЛДГ) досліджували за швидкістю окиснення НАДН [4]. Цільну кров центрифугували протягом 5 хв за 2000 g, відбирали плазму, в якій визначали: концентрацію глюкози глюкозооксидазним методом, холестерину методом Златкіс-Зака, активності: лужної фосфатази (ЛФ) – реакцією з бета-гліцерофосфатом натрію [4], аспартат- (АСТ) і аланінамінотрансфераз (АЛТ) – за методом Рейтмана та Френкеля [16]. Розраховували коефіцієнт де Рітіса (відношення активностей АСТ/АЛТ) і вміст гемоглобіну в одному еритроциті (відношення вмісту гемоглобіну до кількості еритроцитів у 1 л крові) (див. таблицю).

#### Результати і їхнє обговорення

Відомо, що тривале пероральне введення таурину дозою 40 мг/кг приводить до зростання кількості еритроцитів у крові щурів [3]. Нашими дослідженнями встановлено, що за введення доз таурину 5–20 мг/кг кількість еритроцитів у крові тварин не змінюється порівняно до контролю (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив таурину на фізіолого-біохімічні показники крові щурів, M±m

Показник	Група тварин			
	Контроль	I (5мг/кг)	II (10 мг/кг)	III (20 мг/кг)
Кількість еритроцитів, 10 <sup>12</sup> /л	8,45±0,32	8,41±0,57	8,50±0,32	7,73±0,10
Вміст гемоглобіну, г/л	111,7±4,7	121,0±14,6	130,1±5,4*	106,0±8,4
Вміст гемоглобіну в одному еритроциті, пг/еритроцит	13,2±0,2	14,3±0,8	15,3±0,6*	13,6±1,28
Швидкість оксигенації гемоглобіну, ммоль O <sub>2</sub> / (хв×г гемоглобіну)	0,12±0,02	0,10±0,01	0,18±0,01**	0,30±0,03*
Концентрація глюкози, ммоль/л	9,22±0,54	7,92±0,24	5,84±0,39**	7,52 ±0,13*
ЛДГ мкатал/л	1,71±0,14	4,62±0,47**	2,46±0,26*	2,83±0,25*
Концентрація холестерину, ммоль/л	1,54±0,15	1,54±0,11	1,91±0,05	1,58±0,07
ЛФ, МО/мл	5,90±0,63	5,00±0,88	4,83±1,07	3,56±0,42*
АСТ, мкмоль/год×мл	1,72±0,04	1,81±0,02	1,76±0,11	1,73±0,05
АЛТ, мкмоль/год×мл	1,36±0,02	1,32±0,02	1,33±0,04	1,18±0,03*
Коефіцієнт де Рітіса, в.о.	1,27±0,03	1,36±0,01*	1,33±0,08	1,47±0,06*

Примітка: \* – статистично вірогідна різниця щодо показників контрольної групи з P<0,05; \*\* – з P<0,01

У крові тварин II дослідної групи на 16,5 % зростає вміст гемоглобіну, що в підсумку приводить до підвищення на 15,9 % гемоглобіну в одному еритроциті. Це вказує на збільшення потреби організму в кисні та, можливо, на інтенсифікацію окисних процесів. На користь цього припущення свідчить і зростання у 1,5 та 2,5 разу швидкості оксигенації гемоглобіну та зниження на 36,7 і 18,4 % концентрації глюкози у крові щурів II та III дослідних груп. Активність ЛДГ у цільній крові щурів I дослідної групи зростає утричі, а у щурів II та III дослідних груп, відповідно, на 43,0 та 65,5 % порівняно з контролем, що також свідчить про інтенсифікацію окисного метаболізму. Зростання активності ЛДГ (особливо за дози 5 мг/кг) є вищим, ніж за високих доз таурину (40 та 100 мг/кг) [14].

Відомо, що випоювання 0,5–2 %-ного розчину таурину (за умови, що один щур у середньому п'є 10–14 мл на день, то денна доза таурину на щура становить 62,5–250 мг/кг) протягом 30 діб щурам, яким згодовували корми з високим вмістом холестерину, знижувало концентрацію холестерину в крові. Таке ж зниження під впливом таурину було зареєстровано й у крові контрольних тварин [15]. Однак у нашому досліді за введення таурину 5–20 мг/кг не виявлено змін концентрації холестерину у плазмі крові, що може бути зумовлене нижчими дозами таурину.

Зростання активностей ЛФ, АСТ й АЛТ у плазмі крові є маркерами пошкодження органів і тканин [16]. Зокрема, зростання активності ЛФ у плазмі крові вказує на ураження жовчних проток печінки та пошкодження цитоплазматичної мембрани лейкоцитів [9]. Підвищення активності АСТ свідчить про ураження гепатоцитів [11], а АЛТ – клітин міокарда [9]. Нами зареєстровано, що тривале пероральне введення таурину в дозі 20 мг/кг знижує на 39,7 % активність ЛФ у плазмі крові щурів щодо контролю. Аналогічно, у III групі щурів активність АЛТ у плазмі крові була на 13,2 % нижчою. Активність АСТ у плазмі крові всіх дослідних груп тварин виявилася на рівні контролю. У тварин I та III дослідних груп на 6,6 і 13,6 % зростає коефіцієнт де Рітіса.

Отже, введення щурам таурину протягом 28 діб дозою 10 мг/кг підвищує вміст гемоглобіну як у крові, так і в одному еритроциті. Відомо, що таурин здатний інтенсифікувати метаболізм [10], і, відповідно, зростає потреба організму в кисні, що веде до збільшення кількості гемоглобіну у крові. Це також пояснює підвищення швидкості оксигенації гемоглобіну у щурів II дослідної групи. На користь гіпотези про інтенсифікацію метаболізму свідчить і зниження концентрації глюкози. У щурів III дослідної групи швидкість оксигенації гемоглобіну найвища, а його вміст на рівні контролю. Такий ефект введення таурину можливий за рахунок нижчого насичення крові киснем або збільшення спорідненості гемоглобіну до кисню. Останнє може відбуватися за рахунок модифікації структури білка [11]. Однак, імовірно, зареєстроване нами збільшення швидкості оксигенації гемоглобіну спричинене вищим ступенем дезоксигенації гемоглобіну у крові дослідних тварин унаслідок інтенсифікації метаболізму. Про це свідчить і зростання активності ЛДГ у крові щурів усіх дослідних груп, оскільки цей ензим в еритроцитах перетворює лактат на піруват. Активність метаболізму в організмі може мати як позитивні наслідки – зростання забезпечення енергією, так і негативні – ураження активними формами кисню клітин [13]. Крім цього, інтенсифікація метаболізму за перорального введення таурину в організм тварин підтверджується зниженням концентрації глюкози у крові. Іншою причиною зниження глюкози може бути зростання секреції інсуліну підшлунковою залозою за впливу таурину [17].

Отже, тривале пероральне введення низьких доз таурину інтенсифікує метаболізм, що проявляється у зростанні вмісту і швидкості оксигенації гемоглобіну, активності ЛДГ та зниженні концентрації глюкози. При цьому за 10 і 20 мг/кг живої маси таурин нормалізує

обмінні процеси, що характеризується зниженням активностей ЛФ і АЛТ у плазмі крові дослідних тварин. Тому дози 10 і 20 мг/кг є оптимальними для забезпечення кращого функціонування організму та нормалізації обмінних процесів.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: МЕДпресс-информ, 2004. С. 504–591.
2. Левченко В. І., Головаха В. І., Конорахін І. П. Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин / за ред. В.І. Левченка. К.: Аграрна освіта, 2010. С. 271–292.
3. Остапів Р. Д., Кисців О. С., Манько В. В. Вплив тривалого перорального введення таурину на фізіологічні показники щурів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2015. Вип. 69. С. 247–255.
4. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / за ред. В.В. Влізло. Львів, 2004. С. 56–66.
5. Anand P., Rajakumar P., Felix J. W. et al. Effects of oral administration of antioxidant taurine on hematological parameters in Wistar rats // Pakistan J. Biol. Sci. 2010. Vol. 13. P. 785–793.
6. Cherif H., Reusens B., Dahri S. et al. Stimulatory effects of taurine on insulin secretion by fetal rat islets cultured in vitro // J. Endocrinol. 1996. Vol. 151. P. 501–506.
7. El Idrissi A., Okeke E., Yan X. et al. Taurine regulation of blood pressure and vasoactivity // Adv. Exp. Med. Biol. 2013. Vol. 775. P. 407–425.
8. Huxtable R. J. Physiological actions of taurine // Physiol. Rev. 1992. Vol. 72. P. 101–160.
9. Kaplan M. M. Serum alkaline phosphatase-another piece is added to the puzzle // Hepatology. 1986. Vol. 6. N 3. P. 526–528.
10. Lambert I. H., Kristensen D. M., Holm J. B. et al. Physiological role of taurine – from organism to organelle // Acta Physiol. 2015. Vol. 203. P. 191–202.
11. Lang F., Lang E., Föller M. Physiology and pathophysiology of eryptosis // Transfus. Med. Hemother. 2012. Vol. 39. N 5. P. 308–314.
12. Nandhinia A., Balakrishnana S. D., Anuradha C. V. Taurine improves lipid profile in rats fed a high fructose-diet // Nutrition Research. Vol. 22. P. 343–354.
13. Ostapiv R. D., Manko V. V. Antioxidant defense of rat organism at long-term per oral taurine injection // Studia Biologica. Vol. 9. P. 59–70.
14. Ostapiv R. D., Humenyuk S. L., Manko V. V. Activity and isozyme content of lactate dehydrogenase under long-term oral taurine administration to rats // Ukr. Biochem. J. 2015. Vol. 87. N 4. P. 54–62.
15. Pushpakiran G., Mahalakshmi K., Anuradha C. V. Taurine restores ethanol-induced depletion of antioxidants and attenuates oxidative stress in rat tissues // Amino Acids. 2004. Vol. 27. P. 91–96.
16. Reitmann S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic puruvic transaminases // Amer. J. Clin. Path. 1957. Vol. 28. N 1. P. 56–63.
17. Ribeiro R. A. Taurine supplementation enhances nutrient-induced insulin secretion in pancreatic mice islets // Diabetes Metab. Res. Rev. 2009. Vol. 25. N 4. P. 370–379.

Стаття: надійшла до редакції 31.10.16

доопрацьована 16.02.17

прийнята до друку 09.03.17

## EFFECT OF LONG-TERM PERORAL TAURINE INJECTION ON BLOOD INDEXES OF RATS

R. Ostapiv<sup>1,2</sup>, Chr. Skyba<sup>1</sup>, V. Manko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*

<sup>2</sup>*SCIVP of Veterinary Medical Products and Feed Additives  
11, Donetska St., Lviv 79019, Ukraine  
e-mail: romostapiv@gmail.com*

Researches on influence of long-term peroral taurine injection on physiological and biochemical blood parameters of rats, as indexes of functional state of animal organism, were carried out. Researches were conducted on male Wistar rats (n=16) that were 4 months old and with weight 140–160 g. Animals were divided into four groups (4 rats in each) – control, animals of which were injected in esophagus daily, once a day drinking water, and three experimental groups that were injected 5 (I experimental group), 10 (II experimental group) та 20 (III experimental group) mg of taurine/kg of body weight. It was registered, that in II experimental group content of hemoglobin in whole blood and in one erythrocyte was higher than in control group. Also, in rats of II and III experimental groups blood oxygenation speed increased in 1.5 and 2.5 times, and in blood plasma concentration of glucose decreased on 36.7 та 18.4 %. Content of cholesterol in blood plasma was on control levels, but activity of lactate dehydrogenase in whole blood was higher in all experimental groups. In blood plasma of III experimental group activity of alkaline phosphatase decreased. Activity of aspartate transaminase was on control levels, and de Ritis ratio increased in I and III experimental groups. Role of taurine as oxidative metabolism activator is discussed.

*Keywords:* taurine, blood, rats, glucose, blood oxygenation speed, lactate dehydrogenase, red blood cells, hemoglobin

## ВПЛИВ АДРЕНАЛІНУ НА ДИНАМІКУ ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ЩУРІВ

С. Шкурашівська<sup>1\*</sup>, Г. Ерстенюк<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Івано-Франківський коледж фізичного виховання  
вул. гетьмана Мазепи, 142а, Івано-Франківськ 76026, Україна

<sup>2</sup>Івано-Франківський національний медичний університет  
вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ 76018, Україна  
e-mail: shkurashivskasvitlana@gmail.com

Досліджено вплив одно- і дворазової ін'єкцій адреналіну на часові зміни концентрації глюкози, пірвіноградної та молочної кислот у плазмі крові, печінці та м'язах щурів. Експериментальним тваринам вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла одно- чи двократно з подальшим забором матеріалу через 30 хв або через 24 год. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин. Очікувані ефекти адреналіну – гіперглікемія, вихід молочної кислоти (лактату) в кров і її надходження в печінку – спостерігалися через 30 хв після ін'єкції адреналіну. Через 24 год відмічено зміни протилежного характеру, а саме: зниження концентрації глюкози та пірвіноградної кислоти (пірвату) в усіх досліджуваних тканинах. Рівень лактату в тканинах щурів через 24 год після введення адреналіну залежав від кількості ін'єкцій. Зокрема, при одноразовому введенні адреналіну концентрація лактату знижувалась у крові та печінці, тоді як зростала у м'язах. Водночас при дворазовому введенні адреналіну концентрація лактату істотно зростала у всіх досліджуваних тканинах.

*Ключові слова:* адреналін, глюкоза, пірват, лактат, щурі

Адреналін є важливим регулятором метаболічних процесів у організмі людини і тварин. Викид адреналіну в кров відбувається при фізичних навантаженнях, психоемоційних стресах, травмах і шоківих станах [5, 12, 16]. Взаємодія адреналіну з рецепторами на поверхні клітин печінки зумовлює активацію відповідних протеїназ, що, у свою чергу, призводить до активації глікогенолізу. Гепатоцити починають виділяти глюкозу в кров через кілька секунд після адреналінового сигналу [4, 5, 7, 10, 12]. Глюкоза надалі надходить у клітини м'язів, де використовується для продукції аденозинтрифосфornoї кислоти (АТФ) у гліколізі та циклі трикарбонoвих кислот [12, 15, 22]. При розщепленні АТФ вивільняється енергія, яка забезпечує перебіг багатьох процесів, необхідних для переживання шокoвого стану і виведення організму з нього. Адреналін взаємодіє з рецепторами мембран м'язових клітин, унаслідок чого активуються аденілатциклазний та інозитолфосфатний каскадні механізми, що забезпечує включення у процес катаболізму великої кількості глюкози протягом короткого часу. Добре відомо, що адреналін збільшує частоту і силу серцевих скорочень, впливає на забезпечення тканин киснем, глюкозою та іншими метаболітами, які слугують джерелом енергії. Введення адреналіну часто застосовують для відновлення роботи серця у разі його тимчасової зупинки [8]. З іншого боку, деякими авторами [14, 19] висловлено припущення про те, що введення адреналіну може спричинити розвиток серцево-судинних захворювань. Недавні повідомлення [22] вказують на позитивну роль хронічного введення невеликих доз адреналіну стосовно гіпертензії, інсулінорезистентності й розвитку метаболічного синдрому. Важливим для розуміння метаболічних порушень, які виникають в організмі тварин і людини, на нашу думку, є вивчення рівня метаболітів як



кінцевих, так і проміжних не тільки у плазмі крові, але і в органах та тканинах. Такий підхід є актуальним, оскільки дає змогу отримати нові інформативні дані для розуміння перебудови метаболізму за умов впливу різних за частотою стресових ситуацій, а також оцінити віддалені наслідки такого впливу. З іншого боку, вивчення рівня глюкози, лактату й пірувату може сприяти підбору коригуючих чинників для таких стресових ситуацій, що має важливе значення для певної категорії професій, а також для клінічної практики. Виходячи з цього, метою даного дослідження було вивчити показники вуглеводного обміну в організмі експериментальних тварин за умов адреналінового стресу різної інтенсивності.

#### Матеріали та методи

В експерименті використано 40 білих щурів-самців і самок лінії Вістар масою 150–200 г. Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію [2]. Тварини контрольної та дослідних груп за 12 год до проведення експерименту були позбавлені харчування й отримували тільки питну воду. Для моделювання адреналінового стресу використовували одно- та дворазове введення 0,18 % розчину адреналіну гідрохлориду з розрахунку 0,05 мг/кг маси тіла [1]. Адреналін вводили внутрішньом'язово (задня нога, внутрішній бік). Дози адреналіну були вибрані згідно з даними літератури [1, 9]. Забір матеріалу (кров, печінку і м'язи) проводили після декапітації під тіопенталовим наркозом через 30 хв і 24 год після введення адреналіну. Декапітацію проводили згідно з положеннями директиви 2010/63/EU Європейського союзу про захист тварин, яких використовують для наукових цілей [11]. Експериментальні тварини були розподілені таким чином: I група – контрольні тварини, яким вводили фізіологічний розчин; II група – тварини, яким вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла з подальшим забором матеріалу через 30 хв; III група – тварини, яким вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла з подальшим забором матеріалу через 24 год; IV група – тварини, яким двічі вводили адреналін з інтервалом 1 год в дозі 0,05 мг/кг маси тіла з подальшим забором матеріалу через 30 хв; V група – тварини, яким двічі вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла із забором матеріалу через 24 год.

Тканини гомогенізували у ступці за допомогою товкачика в 10 %-ній трихлороцтовій кислоті (ТХО) у співвідношенні 1:10 (маса/об'єм). Отриманий гомогенат центрифугували при 8 000 об/хв на центрифугі ОПН-8. Супернатант використовували для подальшого аналізу.

Вміст глюкози визначали глюкозооксидазним методом. За наявності глюкозооксидази (КФ 1.1.3.4) глюкоза окислюється киснем повітря до глюконової кислоти й перекису водню, який за наявності пероксидази реагує з фенолом і 4-амінофеназоном з утворенням хінонімінового похідного червоно-фіолетового забарвлення, інтенсивність якого визначали на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 540 нм. Піровиноградну кислоту (піруват) визначали колориметричним методом. Метод ґрунтується на реакції оксогрупи з 2,4-динітрофенілгідразином. У результаті цієї реакції утворюються динітрофенілгідразонові похідні, які поглинають світло з довжиною хвилі 465 нм. Визначення концентрації молочної кислоти (лактату) проводили ферментативним методом з подальшим колориметруванням. Метод ґрунтується на ензиматичному окисленні молочної кислоти до піровиноградної ферментом лактатдегідрогеназою (КФ 1.1.1.27) при одночасному відновленні окисленого нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД<sup>+</sup>) до НАДН. Кількість молочної кислоти розраховували за НАДН, який утворювався в результаті реакції, визначаючи зміну його оптичної густини при 340 нм.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 7.0». Достовірність різниці між середніми оцінювали за непарним двобічним *t*-тестом Стьюдента. Вірогідними вважали відмінності за  $p < 0,05$ . Значення в таблиці та на рисунку представлені як середнє  $\pm$  стандартна похибка середнього.

### Результати і їхнє обговорення

Проведені нами дослідження дали змогу встановити, що через 30 хв після одно- або дворазового введення адреналіну в експериментальних тварин наставала гіперглікемія – концентрація глюкози у крові була на 15–16 % вища (рис. 1, А), ніж у контрольних особин. Водночас слід відмітити зниження концентрації глюкози у гомогенаті печінки цих тварин на 10 % і гомогенаті м'язів – на 74 %. Відомо, що адреналін стимулює глікогеноліз у печінці та м'язах, процеси глюконеогенезу в печінці, а гліколізу – в м'язах [5, 12, 15]. Концентрація глюкози у клітинах печінки та м'язів за умов адреналінового стресу залежатиме від інтенсивності перебігу глікогенолізу, глюконеогенезу, гліколізу і вивільнення глюкози у кров. Можна припустити, що за такого впливу в м'язах більш активно відбуваються процеси гліколізу, ніж глікогенолізу. Це цілком ймовірно, оскільки відомо, що запаси глікогену в м'язах відносно малі порівняно з такими у печінці [13]. Можливо, саме тому через 30 хв після одноразового введення адреналіну концентрація глюкози в печінці не знижувалася так стрімко, як у м'язах.

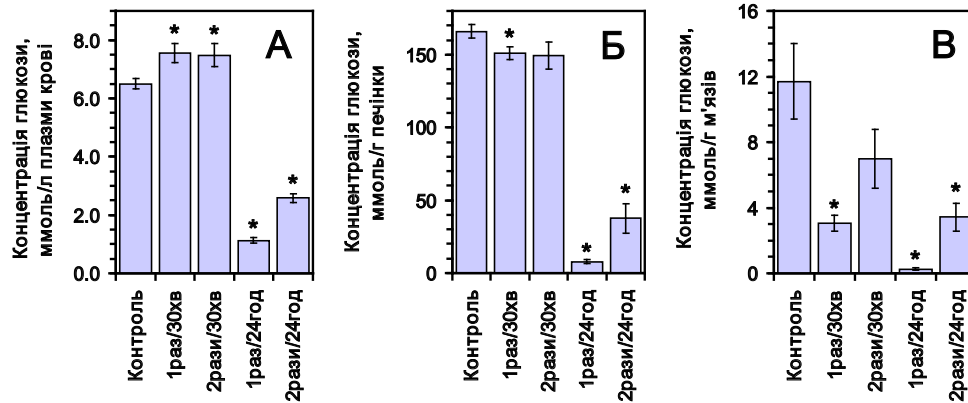


Рис. 1. Концентрація глюкози (ммоль/л або ммоль/г тканини) у плазмі крові (А), печінці (Б) та м'язах (В) шурів після одно- або дворазового введення адреналіну з подальшим забором проб через 30 хв і 24 год. Дані представлені як середнє  $\pm$  похибка середнього. \*Показник достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізняється від значення в контролі. У всіх дослідях було використано 7–10 тварин

Викликають інтерес результати дослідження концентрації глюкози у тканинах через 24 год після одно- та дворазового введення адреналіну. Отримані дані вказують на розвиток гіпоглікемії за таких умов: рівень глюкози у плазмі крові знижувався в 5,8 і 2,5 рази після одно- або дворазового введення адреналіну відповідно, причому більш суттєві зміни спостерігали після одноразового введення. Подібну тенденцію спостерігали у тканинах печінки та м'язів: через 24 год після одно- і дворазового введення адреналіну концентрація глюкози у печінці знижувалась у 22 та 4,4 рази відповідно (рис. 1, Б), у м'язах - в 44 та 3,4 рази (рис. 1, В).

З наукової літератури [7, 12] відомо, що адреналін швидко видаляється з руслу крові після виділення наднирниками або введення ззовні. Віддалені ефекти введення адреналіну можуть бути пов'язані з індукцією вторинної гормональної відповіді [21, 22]. Можливе, зокрема, виділення інших гормонів, які активують катаболізм вуглеводів, що, у свою чергу, призводить до виснаження енергетичних запасів або до надходження глюкози до інших тканин, які ми не аналізували [10, 20].

Важливим показником для характеристики обміну вуглеводів є рівень пірувату як кінцевого метаболіту гліколізу. У багатьох тканинах піруват одразу після утворення в глі-

колізі може включатися в цикл лимонної кислоти, йдучи на синтез відновних еквівалентів і, надалі, на синтез АТФ [3, 6, 10]. У м'язах він відновлюється до лактату, після чого може перетворюватись на глюкозу вже в печінці. Піруват також може вступати в реакції переамінування з утворенням в-аланіну, тим самим використовуючись для утворення білків або, навпаки, включатись у глюкозо-аланіновий цикл і перетворюватись на глюкозу [18].

Проведені нами дослідження показали, що одноразове введення адреналіну не спричинило істотних змін концентрації пірувату в тканинах упродовж 30 хв (див. таблицю). Дворазове введення адреналіну призводило до зниження концентрації пірувату в плазмі крові на 23 %, а в печінці та м'язах – на 33 і 44 % порівняно з контрольною групою тварин. Така динаміка може свідчити на користь швидкого використання пірувату на енергетичні потреби, відновлення до молочної кислоти, можливе переамінування та включення в глюконеогенез. Через 24 год після одноразового введення адреналіну спостерігали зниження рівня пірувату в печінці на 7 % і м'язах – на 19 %, натомість у крові цей показник суттєво не змінювався. Дворазове введення адреналіну призвело до зниження концентрації пірувату на 17 % у плазмі крові та на 19 % у м'язах. У печінці цей показник перебував у межах контролю.

Концентрація пірувату (ммоль/л або ммоль/г тканини) у тканинах щурів після одно- або дворазового введення адреналіну з подальшим забором проб через 30 хв і 24 год

Тканини	Групи тварин				
	Контрольна (n=7)	Одноразове введення з забором матеріалу через 30 хв (n=7)	Дворазове введення з забором матеріалу через 30 хв (n=10)	Одноразове введення з забором матеріалу через 24 год (n=7)	Дворазове введення з забором матеріалу через 24 год (n=7)
Плазма крові	28,3±1,4	28,4±0,9	21,7±0,4*	31,4±0,6	23,4±0,9*
Печінка	206±3	200±3	139±1*	191±5*	204±6
М'язи	224±4	231±6	126±2*	181±7*	183±1*

**Примітки:** Дані представлені як середнє ± похибка середнього.

\*Показник достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізняється від значення в контролі.

Для характеристики метаболізму вуглеводів використовують дослідження концентрації молочної кислоти, яка утворюється з пірувату в ході анаеробного окиснення. Отримані нами результати вказують на те, що через 30 хв після одноразового введення адреналіну рівень лактату в крові та печінці зростав у 1,8 та 1,2 разу, відповідно. Одночасно відмічено зниження концентрації лактату в м'язах у 2,8 разу (рис. 2). Такі дані можуть свідчити, що в цьому періоді адреналін сприяє активному виведенню лактату з клітин м'язів у кров і надходження його до печінки з включенням у цикл Корі. Втім, істотне зниження концентрації лактату в м'язах може свідчити також про зменшення його утворення й одночасне включення пірувату в цикл трикарбонних кислот для отримання енергії за рахунок окисного фосфорилування.

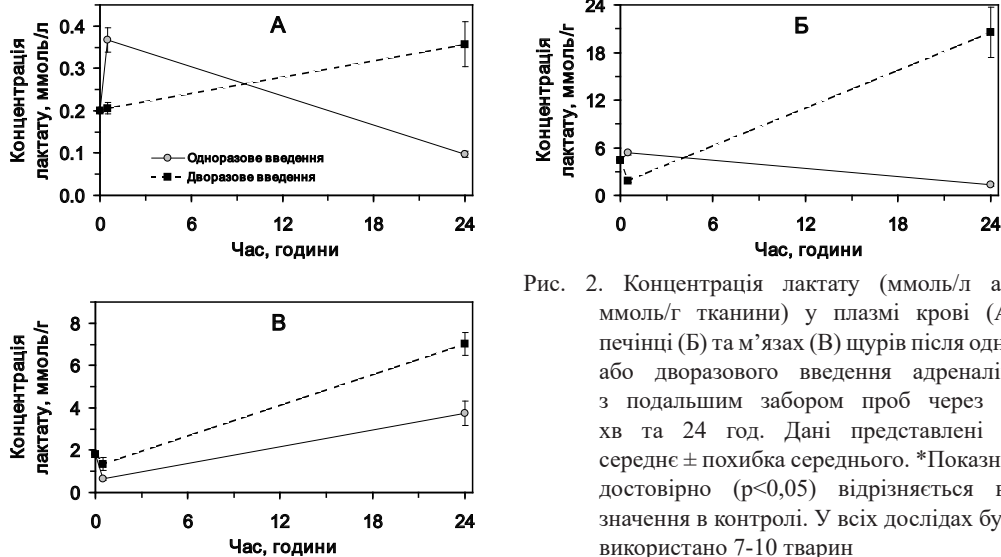


Рис. 2. Концентрація лактату (ммоль/л або ммоль/г тканини) у плазмі крові (А), печінці (Б) та м'язах (В) щурів після одно- або дворазового введення адреналіну з подальшим заборою проб через 30 хв та 24 год. Дані представлені як середнє  $\pm$  похибка середнього. \*Показник достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізняється від значення в контролі. У всіх дослідах було використано 7-10 тварин

Через 30 хв після дворазового введення адреналіну концентрація лактату в плазмі крові та м'язах достовірно не відрізнялася від контролю, проте в печінці була в 2,4 разу нижчою (рис. 2, А і Б). Через 24 год після одноразового введення адреналіну спостерігалось зниження концентрації лактату в плазмі крові та печінці в 2,1 та 3,3 разу, відповідно. Водночас концентрація лактату в м'язах була в 2,1 разу вищою, ніж у контролі (рис. 2, В). Через 24 год після дворазового введення спостерігалось накопичення лактату в усіх досліджуваних тканинах, порівняно з контролем.

Таким чином, одержані нами дані вказують на те, що очікувані ефекти адреналіну – гіперглікемія, вихід лактату в кров і надходження в печінку – спостерігаються через 30 хв після введення адреналіну. Спостереження через 24 год дали змогу встановити істотні порушення вуглеводного обміну, що супроводжувалися розвитком гіпоглікемії, а також зниженням концентрації глюкози в печінці та м'язах з одночасним зниженням концентрації пірувату. Знижена концентрація глюкози у всіх тканинах у цей момент може свідчити про швидке використання глюкози в енергетичному обміні та сповільнення процесів глюконеогенезу. Такі віддалені ефекти дії адреналіну також підтверджують інші автори [3].

Концентрація лактату в тканинах щурів через 24 год після введення адреналіну залежить від кількості введень адреналіну. Найбільш суттєві зміни цього показника спостерігали при дворазовому введенні, вони супроводжувалися накопиченням лактату, що може призвести до розвитку лактоацидозу.

Отримані дані спонукають до подальших досліджень віддалених наслідків впливу адреналінового стресу на метаболічні процеси та пошуки способів корекції виявлених порушень.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Берегова Т. В., Григорова Н. В., Щенко Ю. В. та ін. Зміни вмісту цинку в крові та клітинах різних органів при стресових впливах // Фізіолог. журнал. 2007. Т. 53. № 6. С. 29–33.

2. *Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А.* и др. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте [3-е изд., перераб. и доп.]. К.: Вища школа, 1983. 383 с.
3. *Кургалюк Н., Ткаченко Г.* Ефективність окисних процесів за впливу L-аргініну й адреналінової міокардіодистрофії у щурів із різною резистентністю до гіпоксії // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2004. Вип. 37. С. 198–204.
4. *Липунова Е. А., Сорокина М. Ю.* Физиология крови: моногр. исслед. Белгород: Изд-во БелГУ, 2007. 324 с.
5. *Парванян С. Г., Лебединский К. М., Курапеев И. С.* и др. Физиологические эффекты адреналина и применение эпинефрина в клинике // Анестезиология и реаниматология. 2008. № 4. С. 74–77.
6. *Сирота Т. В., Елисеєва О. П., Хундерякова Н. В.* и др. Действие масла из семян амаранта на энергетические функции митохондрий печени крыс в условиях введения адреналина // Укр. біохім. журнал. 2007. Т. 79. № 5. С. 196–203.
7. *Хухо Ф.* Нейрохимия: Основы и принципы / пер. с англ. М.: Мир, 1990. 384 с.
8. *Callaway C. W.* Epinephrine for cardiac arrest // *Curr. Opin. Cardiol.* 2013. Vol. 28. N 1. P. 36–42.
9. *Chen M. H., Lu J. Y., Xie L.* et al. What is the optimal dose of epinephrine during cardiopulmonary resuscitation in a rat model? // *Am. J. Emerg. Med.* 2010. 28. N 3. P. 284–290.
10. *Depre C., Vanoverschelde J. L., Taegtmeyer H.* Glucose for the heart // *Circulation.* 1999. Vol. 99. N 4. P. 578–588.
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // *Official Journal of the European Union.* 2010. L273. P. 33–79.
12. *Functional metabolism: Regulation and adaptation.* Hoboken, New Jersey: Wiley-Liss, Inc., 2004. 594 p.
13. *Iwasaki H., Naka A., Iida K. T.* et al. TFE3 regulates muscle metabolic gene expression, increases glycogen stores, and enhances insulin sensitivity in mice // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012. Vol. 302. N 7. P. E896–E902.
14. *Jang Y., Kim E.* Cardiovascular effect of epinephrine in endodontic microsurgery: a review // *Restor. Dent. Endod.* 2013. Vol. 38. N 4. P. 187–193.
15. *Kusaka M., Ui M.* Activation of the Cori cycle by epinephrine // *Am. J. Physiol.* 1977. Vol. 232. N 2. P. E145–E155.
16. *Luchette F. A., Jenkins W. A., Friend L. A.* et al. Hypoxia is not the sole cause of lactate production during shock // *J. Trauma.* 2002. Vol. 52. N 3. P. 415–419.
17. *Maheandiran M., Mylvaganam S., Wu C.* et al. Severe hypoglycemia in a juvenile diabetic rat model: presence and severity of seizures are associated with mortality // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, N 12 (e83168). P. 1–13.
18. *Perriello G., Jorde R., Nurjhan N.* et al. Estimation of glucose-alanine-lactate-glutamine cycles in postabsorptive humans: role of skeletal muscle // *Am. J. Physiol.* 1995. Vol. 269. N 3. P. E443–E450.
19. *Rumantir M. S., Jennings G. L., Lambert G. W.* et al. The ‘adrenaline hypothesis’ of hypertension revisited: evidence for adrenaline release from the heart of patients with essential hypertension // *J. Hypertens.* 2000. Vol. 18. N 6. P. 717–723.
20. *Vaughan M.* Effect of hormones on glucose metabolism in adipose tissue // *J. Biol. Chem.* 1961. Vol. 236. P. 2196–2199.

21. *Vicini P., Avogaro A., Spilker M. E. et al.* Epinephrine effects on insulin-glucose dynamics: the labeled IVGTT two-compartment minimal model approach // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2002. Vol. 283. N 1. P. E78–E84.
22. *Ziegler M. G., Elayan H., Milic M. et al.* Epinephrine and the metabolic syndrome // *Curr. Hypertens. Rep.* 2012. Vol. 14. N 1. P. 1–7.

*Стаття: надійшла до редакції 02.02.16*

*доопрацьована 30.09.16*

*прийнята до друку 01.12.16*

## THE EFFECT OF ADRENALINE ON DYNAMICS OF CARBOHYDRATE METABOLISM INDICES IN RATS

S. Shkurashivska<sup>1</sup>, H. Ersteniuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Ivano-Frankivsk College of Physical Education  
142a, Mazepa St., Ivan-Frankivsk 76026, Ukraine*

<sup>2</sup> *Ivano-Frankivsk National Medical University  
2, Halytska St., Ivano-Frankivsk 76018, Ukraine  
e-mail: shkurashivskasvitlana@gmail.com*

The influence of single or double adrenaline injection on time changes of glucose, pyruvic and lactic acid concentration in rat blood plasma, liver and muscles has been investigated. Experimental animals were injected once or twice by adrenalin 0.05 mg/kg at dose followed by samples collection after 30 minutes or 24 hours. Physiological solution was injected into animals of the control group. Expected effects of adrenaline, namely hyperglycemia, lactic acid (lactate) release into blood and its uptake by the liver, were observed 30 minutes after adrenaline injection. Twenty four hours after adrenaline injection, opposite kind of changes were indicated, particularly, decrease in glucose and pyruvic acid (pyruvate) concentration in all tissues investigated. Lactate level in rat tissues 24 hours after adrenaline injection depended on the number of injections. Namely, lactate concentration decreased in blood plasma and liver, while increased in muscles after single injection. At the same time, lactate concentration increased considerably in all tissues investigated after double adrenaline injection.

*Keywords:* adrenaline, glucose, pyruvate, lactate, rats

## МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ САМЦІВ ЩУРІВ F<sub>1</sub> У ПЕРІОД ВИПОЮВАННЯ «НАНОГЕРМАНІЮ» ЦИТРАТУ І ЦИТРАТУ ГЕРМАНІЮ ХІМІЧНО СИНТЕЗОВАНОГО

М. Храбко<sup>1</sup>, Р. Федорук<sup>1</sup>, М. Храбко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут біології тварин НААН  
вул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна

<sup>2</sup> Вишнянський коледж Львівського національного аграрного університету  
с. Вишня, Львівська обл. 81540, Україна  
e-mail: khrabko95@gmail.com

Вивчали порівняльний вплив різних доз цитрату Ge, що коригує метаболічні процеси і рівень мінеральних елементів у тканинах, має імуностимулюючі властивості, на біохімічні показники крові, вміст окремих макро- та мікроелементів у тканинах і детоксикаційну здатність тканин окремих органів самців щурів. Дослідження виконані в умовах віварію Інституту біології тварин НААН на самцях щурів першого покоління, поділених на п'ять груп, по 5 тварин у кожній, отриманих від самиць, яким випоювали аналогічні кількості цитратів Ge упродовж вагітності й лактації, що застосовувалися для відповідних груп самців. Тварини I групи (контрольної) отримували гранульований комбікорм і питну воду. Щурам дослідних груп, крім комбікорму, додавали щоденно до питної води цитрат Ge, отриманий методом нанотехнології з розрахунку: II група – 10 мкг Ge/кг маси тіла, III – 20 мкг Ge/кг м. т., IV – 200 мкг Ge/кг м. т., а для V – 2000 мкг Ge/кг м. т. з його цитрату, що отриманий методом хімічного синтезу. Відзначено відмінності вмісту загального протеїну, альбуміну, триацилгліцеролів, креатиніну, Кальцію і активності АсАТ у крові тварин дослідних груп, порівняно з контрольною. Біологічна дія цитратів Ge зумовлювала більш виражені зміни у тварин II і III груп, що характеризувалися вірогідно вищим вмістом у крові альбуміну (III), креатиніну (II, III), триацилгліцеролів (III, IV груп), а також АсАТ активності крові (II) на тлі нижчого рівня альбуміну, триацилгліцеролів і Кальцію (II). У той же час відзначено нижчий вміст загального протеїну у крові тварин V групи, яким випоювали 2 мг Ge з його цитрату хімічно синтезованого. Тварини III, IV і V груп виявляли також вищий рівень детоксикаційної здатності їхнього організму, що характеризувалася вірогідно вищим вмістом фенолсульфатів у тканинах печінки (III, V) та нирок (III), а для фенолглюкуронідів – у тканинах печінки та скелетних м'язів (III) і нирок (III і IV груп щурів). Встановлено вірогідно вищий вміст Cu у тканинах печінки і нирок щурів II і III груп, легень – усіх дослідних груп, а також Co і Mn – печінки для II і III груп, Mn – легень для IV і V груп, порівняно з контролем. У м'язах щурів відзначено вірогідно нижчий вміст Cu, Co і Mn для III, IV і V груп, Fe – II та V, а Zn – IV груп, на тлі зростання його рівня для II і V дослідних груп.

*Ключові слова:* метаболізм, цитрат германію, щурі, кров

На сьогоднішній день одним із найбільш перспективних напрямів розвитку науки є нанотехнології та наноматеріали, що поступово проникають у всі сфери нашого життя, [1, 2, 9, 10]. Велику кількість препаратів, розроблених на основі гідратованих або карбоксилатованих наночастинок мікроелементів, успішно використовують для діагностики, лікування та профілактики різних захворювань [8, 9, 12]. Особливої уваги також заслуговують комплексні сполуки біогенних металів у складі різних добавок. Органічні сполуки макро- та мікроелементів, що отримані у вигляді карбоксилатів наночастинок, мають низку переваг.

Завдяки високій біологічній активності вони посилюють функції травлення, активність низки ензимів, вітамінів, унаслідок чого поживні речовини краще засвоюються організмом і використовуються у процесах обміну [2, 3, 14, 16]. Серед маловивчених мікроелементів, що позитивно впливають на організм, особливої уваги заслуговує використання ультрамікроелемента Германію у вигляді цитрату [11, 12, 15].

Відомо, що цитрат германію, отриманий методом нанотехнології, має низку позитивних фізіологічних ефектів, не виявляє токсичного впливу на організм людини і тварин, на відміну від його солей мінеральних кислот, які можуть утворювати оксиди й інші неорганічні форми. Хімічно синтезовані органічні сполуки Германію внаслідок гідролізу можуть також утворювати неорганічні сполуки (діоксид германію, тетрахлорид германію), що є токсичними [4, 12]. Досліджено, що Германій швидко поглинається у травному тракті й на 90 % виводиться з організму зі сечею [4, 5, 7, 18]. Однак неорганічні сполуки Германію можуть спричинити їхнє нагромадження в організмі з токсичним ефектом, що проявляється порушенням функцій нирок [7, 13, 18]. У зв'язку з цим розширюються дослідження нетоксичних, зокрема карбоксилатів, органічних сполук Германію, який виконує в організмі унікальні функції – імуностимулюючу, каталітичну, структурну, регуляторну [3, 9, 16]. Завдяки здатності органічних сполук Ge, що містять O<sub>2</sub>, швидко переноситися кров'ю і взаємодіяти з іонами водню, в організмі цей елемент запобігає розвитку гіпоксії, коригує вплив інших елементів у нервових клітинах, підвищує активність фізіологічних систем [5, 8, 20]. Крім того, сполуки Германію виявляють протипухлинну, протизапальну, антиоксидантну, імуномодулюючу, антигіпертензивну, знеболювальну дію [4, 13, 19]. Однак вивчення карбоксилатів германію, зокрема, цитрату, отриманого нанобіотехнологічним методом М. В. Косінова, В. Г. Каплуценка [10], розпочато лише в останні роки. Раніше проведені нами дослідження свідчать про стимулюючий вплив цитрату германію на репродуктивну функцію, антиоксидантну й імунну системи організму щурів [3, 15, 16]. Метою цих досліджень було порівняльне вивчення впливу тривалого вживання різних кількостей цитрату германію, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу, на метаболічні процеси в організмі самців щурів F<sub>1</sub> у період фізіологічного і статевого дозрівання.

#### Матеріали та методи

Дослідження проведено у віварії Інституту біології тварин НААН на білих лабораторних щурах-самцях F<sub>1</sub>, сформованих у п'ять груп за принципом аналогів у віці 2–2,5 місяця, масою тіла 90–120 г, по п'ять тварин у кожній. Тварини народжені від самиць, яким вживали цитрати Ge, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу в кількостях, аналогічних для їхнього приплоду. Тварини I групи – контрольної, отримували збалансований стандартний раціон (СР) зі згодовуванням гранульованого комбікорму впродовж усього періоду досліджень і споживанням води без обмеження. Тваринам II–V дослідних груп згодовували СР і вживали з водою Ge цитрат у таких кількостях: II – наногерманій цитрат (HGeЦ), виготовлений нанотехнологічним методом [9, 10], з розрахунку 10 мкг Ge/кг маси тіла; III група – СР + 20 мкг Ge/кг м. т. з HGeЦ; IV група – СР + 200 мкг Ge/кг м. т. з HGeЦ; V група – СР + 2000 мкг Ge/кг м. т. з германію цитрату хімічно синтезованого (GeЦХС). Водний розчин наногерманію цитрату в концентрації 1,2 г/дм<sup>3</sup>, рН 1,30 був отриманий від ТОВ “Наноматеріали та нанотехнології”, м. Київ. Хімічно синтезований цитрат германію з концентрацією 1,452 г Ge/0,1 дм<sup>3</sup>, рН 0,31 був виготовлений співробітниками кафедри загальної хімії та полімерів (завідувач – доктор хімічних наук, професор І. Й. Сейфулліна), Одеського національного університету імені І.І. Мечникова у рамках співпраці за договором між Інститутом біології тварин НААН і вказаною кафедрою університету. Надходження HGeЦ і GeЦХС в організм самців щурів F<sub>1</sub> дослідних груп тривало впродовж лактації самиць F<sub>0</sub> (з молоком), їх вживали до досягнення 4–4,5-місячного



віку. На 120–135 добу життя всіх самців  $F_1$  з кожної групи забивали шляхом декапітації після наркозу і знерухомлення  $CO_2$  з дотриманням біоетичних норм [17], відбирали зразки крові та тканин печінки, нирок, легень, м'язів стегна для дослідження за вказаними нижче методами, що описані у довіднику [6]. У сироватці крові визначали: вміст загального протеїну з біуретовим реактивом, а також альбуміну, креатиніну, триацилгліцеролів (ТАГ), Кальцію, Фосфору – на біохімічному аналізаторі «Humalyzer» 2000; аланін- (АлАТ) і аспартатамінотрансферазну (АсАТ) активності крові – тест-набором «Simko Ltd» за методом Райтмана-Френкеля; у тканинах – фракції вільних фенолів, фенолсульфатів і фенолглюкуронідів з використанням реактиву Фоліна-Чіокальтеу; вміст Cu, Co, Mn, Fe, Zn на атомно-абсорбційному спектрофотометрі СФ-115 ПК після сухого озолення зразків.

Отриманий цифровий матеріал опрацьовано методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента. Розраховували середні арифметичні величини (M) та похибки середніх арифметичних величин ( $\pm m$ ). Зміни вважали вірогідними за  $P \leq 0,05$ . Для розрахунків використано комп'ютерну програму Excel.

### Результати і їхнє обговорення

Аналіз фізіолого-біохімічних показників крові самців щурів, яких утримували за умов випоювання різних кількостей цитрату Ge, вказує на міжгрупові різниці вмісту загального протеїну, альбуміну, триацилгліцеролів і Кальцію, а також аланін- і аспартатамінотрансферазної активності крові. Зокрема, відзначено зниження концентрації загального протеїну у крові тварин дослідних груп, крім IV, з вірогідною її різницею в V групі (на 9,5 %) за випоювання високої концентрації GeЦХС, порівняно до контролю (табл. 1). Вищий на 6 % рівень протеїну в крові тварин IV групи, можливо, зумовлювався невірогідним зростанням у крові тварин цієї групи вмісту альбуміну, тоді як у самців II і V груп рівень альбуміну був нижчим. Це підтверджується й нижчим вмістом загального протеїну у крові тварин цих груп, проте у III групі вміст альбуміну зростав на 23 %, що не відповідає тенденції до зменшення загального протеїну у крові тварин цієї групи. Вищий вміст загального протеїну у крові самців IV групи може вказувати на фізіологічно обумовлений оптимізуючий вплив застосованої дози (200 мкг Ge) на синтез протеїнів, транспортну здатність крові й забезпечення тканин організму киснем. Встановлено, що тривале застосування діоксиду германію з кормом у дозі 0,9 мг/кг на добу зумовлювало збільшення приростів маси щуренят [7]. Там же вказується, що низька (0,0956 ммоль/л) концентрація Ge стимулює, а висока – послаблює поглинання  $O_2$  тканинами печінки та мозку.

Таблиця 1

Біохімічні показники сироватки крові самців щурів  
за випоювання цитратів германію різної концентрації ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Показник	I	II	Група III	IV	V
Загальний протеїн, г/л	74,6 $\pm$ 1,48	70,7 $\pm$ 1,07	71,6 $\pm$ 1,52	79,2 $\pm$ 3,19	67,6 $\pm$ 1,31*
Альбумін, г/л	37,1 $\pm$ 1,09	33,5 $\pm$ 0,37*	45,8 $\pm$ 0,77***	40,8 $\pm$ 1,26	36,4 $\pm$ 0,78
АлАТ, мккат/л	0,52 $\pm$ 0,023	0,43 $\pm$ 0,039	0,43 $\pm$ 0,049	0,55 $\pm$ 0,020	0,53 $\pm$ 0,035
АсАТ, мккат/л	0,73 $\pm$ 0,026	0,92 $\pm$ 0,056*	0,74 $\pm$ 0,033	0,74 $\pm$ 0,049	0,72 $\pm$ 0,025
Креатинін, мкмоль/л	51,3 $\pm$ 1,86	63,8 $\pm$ 1,44***	57,9 $\pm$ 1,11**	55,1 $\pm$ 1,04	56,9 $\pm$ 2,01
Триацилгліцероли, ммоль/л	1,17 $\pm$ 0,027	0,68 $\pm$ 0,043***	1,32 $\pm$ 0,060*	1,49 $\pm$ 0,056**	1,25 $\pm$ 0,059
Фосфор, ммоль/л	2,8 $\pm$ 0,11	2,7 $\pm$ 0,13	3,0 $\pm$ 0,40	2,4 $\pm$ 0,13	2,4 $\pm$ 0,19
Кальцій, ммоль/л	2,8 $\pm$ 0,09	2,6 $\pm$ 0,05	2,6 $\pm$ 0,05	2,6 $\pm$ 0,04	2,7 $\pm$ 0,06

**Примітка:** у цій і наступних таблицях різниці статистично вірогідна порівняно з контрольною (I) групою \* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$ , \*\*\* –  $p \leq 0,001$

Аланінамінотрансферазна активність крові не виявляла вірогідних різниць у тварин дослідних груп, проте спрямованість відмінностей була протилежна за дії малих (10 і 20 мкг) і високих (200 і 2000 мкг) доз Ge. Аспартатамінотрансферазна активність крові залишалася на рівні контролю у щурів дослідних груп, за винятком II групи, у тварин якої її активність вірогідно зростала на 26 %. Це може мати зв'язок з протеїн-синтетичною активністю тканин печінки і нижчим на 9,7 % вмістом альбуміну в крові щурів цієї групи.

Вміст креатиніну зростав у крові тварин усіх дослідних груп порівняно з контрольною з вірогідними різницями для самців щурів II і III груп, яким випоювали низькі дози Ge. Однак рівень креатиніну в крові залишався у межах фізіологічної норми, що може вказувати на зростання інтенсивності катаболізму протеїнів у щурів дослідних груп. Характерно, що вміст креатиніну в крові щурів, які отримували малу кількість (10 і 20 мкг HGeЦ), був вищим, порівняно з рівнем його у тварин, яким випоювали вищі дози – 200 мкг з HGeЦ і 2000 мкг GeЦХС. Ця закономірність відзначалася у проведених нами попередніх дослідженнях [16]. Це може свідчити про стимулюючий вплив малої дози цитрату Ge на перетворення креатину в креатинфосфат, який інгібує утворення креатиніну.

Дозозалежні зміни були відмічені для концентрації триацилгліцеролів у крові – зниження за впливу низької концентрації HGeЦ (II група) та зростання за дії його вищих доз (III, IV групи). Однак у крові тварин V групи рівень ТАГ виявляв тільки тенденцію до зростання порівняно з контролем, що вказує на відмінності впливу високої дози GeЦХС, порівняно з нижчими дозами HGeЦ у III і IV групах, але отриманого методом нанотехнології. У літературі наявні дані щодо впливу спірогерманію на ліпідний обмін зі зниженням рівня холестерину в крові собак [13].

Досліджені показники мінерального обміну у крові самців дослідних груп були нижчими порівняно з контролем, але вміст P і Ca залишався в межах фізіологічної норми. Відстежується тенденція до зменшення рівня Ca в організмі тварин II, III і IV, а P – IV і V груп, що вказує на слабо виражений інгібуючий вплив цитрату Ge на рівень цих макроелементів у крові. Однак дані інших авторів вказують на позитивний вплив карбоксилгермесеквіоксану на мінералізацію кісток [13], а інших координаційних сполук Ge з органічними кислотами – на фосфорно-кальцієвий обмін у тканинах зубів [12].

Оцінка показників детоксикаційної здатності організму самців щурів дослідних груп не показала вірогідних змін вмісту вільних фенолів у тканинах печінки, скелетних м'язів і нирок порівняно з контролем (табл. 2). Дослідження концентрації фенолсульфатів і фенолглюкуронідів свідчить про вірогідне зростання їхнього вмісту у тканинах печінки та нирок, а фенолглюкуронідів – лише у тканинах скелетних м'язів самців щурів III групи порівняно з контролем. Однак вищий вміст кон'югованих фенолів у тканинах печінки і нирок відмічено також для тварин II, IV та V (тільки печінки) груп з вірогідною різницею для фенолсульфатів у печінці щурів V групи. У тканинах нирок самців щурів IV групи вірогідно підвищувався вміст фенолглюкуронідів зі збереженням тенденції до вищої концентрації фенолсульфатів, порівняно з контрольною групою. У скелетних м'язах щурів II, IV та V груп відзначено виражену тенденцію до вищого вмісту фенолглюкуронідів, що вказує на певні фізіолого-біохімічні відмінності дії Ge на детоксикаційну здатність тканин м'язів і внутрішніх органів. Одержані результати вказують на те, що випоювання щурам різних доз цитрату Ge, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу, зумовлює неоднаковий їхній вплив на детоксикаційну здатність організму самців щурів F<sub>1</sub>, оскільки біологічна дія цих сполук у вищих дозах характеризується більше вираженим стимулюючим проявом щодо інтенсивності цих процесів у досліджених тканинах. Однак вірогідно ви-

ражених відмінностей перебігу детоксикаційних процесів у організмі самців щурів II–IV груп, порівняно з V групою, за дослідженими показниками у період дії наногерманію цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого не встановлено.

Таблиця 2

Уміст вільних і кон'югованих фенолів у тканинах самців щурів за впоювання цитратів германію різної концентрації ( $M \pm m$ ,  $n=3, 4$ )

Показник	Група	Тканини		
		печінки	скелетних м'язів	нирок
Вільні феноли, мкмоль/л	I	68,6±0,42	47,6±0,57	66,2±0,84
	II	69,2±0,62	47,8±1,08	65,2±0,77
	III	70,8±1,23	48,4±0,78	66,6±0,55
	IV	69,8±0,10	47,3±0,10	67,2±0,10
	V	69,8±0,71	49,8±1,41	68,1±1,13
Фенолсульфати, мкмоль/л	I	78,1±1,15	63,3±1,30	76,9±0,36
	II	82,3±1,00	67,12±1,79	78,0±0,95
	III	85,0±1,14**	61,9±0,67	81,3±1,03**
	IV	81,5±0,26	60,9±1,16	78,8±0,94
	V	83,9±1,56*	67,1±1,29	78,8±1,14
Фенолглюкуроніди, мкмоль/л	I	189,1±1,45	177,6±1,40	187,2±1,62
	II	193,4±2,09	180,6±2,60	189,5±1,19
	III	203,6±2,88**	182,6±2,93*	197,6±2,25**
	IV	195,5±2,93	185,4±2,36	197,1±2,06**
	V	192,1±2,09	180,6±1,68	188,6±2,38

Отримані результати досліджень не вказують на виражений токсичний вплив високої (2 мг/кг м. т.) дози цитрату германію, отриманого методом хімічного синтезу на організм, проте вірогідне зниження вмісту загального протеїну у крові та збільшення – фенолсульфатів у печінці самців щурів V групи може свідчити про певне напруження обміну протеїнів і фенолів в організмі цих тварин.

Аналіз результатів вмісту Cu, Co, Mn, Fe і Zn у тканинах печінки, нирок, легень і скелетних м'язів щурів свідчить про виражений вплив застосованих доз цитратів германію на рівень цих мікроелементів у життєво важливих органах і м'язах. Зокрема, встановлено вищий вміст Cu у тканинах печінки, нирок (II, III,  $P \leq 0,001$ ) і легень (II – V,  $P \leq 0,001$ ) груп, порівняно з контрольною (табл. 3). Вірогідно вищий вміст Cu у тканинах легень щурів усіх дослідних груп вказує на стимулюючий вплив застосованих доз цитрату германію, отриманого методами як хімічного синтезу, так і нанотехнології, на нагромадження та виділення Cu в легенях. Водночас для печінки і нирок ця дія відзначена тільки для низьких (10 і 20 мкг) доз. Однак вміст Cu у тканинах скелетних м'язів самців II дослідної групи суттєво не змінювався порівняно з контрольною групою, а для тварин III, IV і V груп відзначено вірогідне зниження рівня цього елемента ( $P \leq 0,05$ ;  $P \leq 0,01$ ). Характерним є також вищий рівень Cu у тканинах легень, але нижчий – у тканинах печінки, нирок ( $P \leq 0,01$ ) і скелетних м'язів ( $P \leq 0,01$ ) щурів V групи, які отримували 2000 мкг Ge з GeЦХС. У доступній для аналізу літературі нами не виявлено прямих даних щодо синергічного чи антагоністичного впливу сполук Ge на рівень інших мікроелементів у тканинах і органах тварин. Однак вказується, що Ge діє опосередковано на тіосполуки інших елементів, серед яких цей зв'язок відзначений для Fe, Cu, Se [7]. На певну залежність вмісту Ge, Fe, Cu, Se у вигляді біоорганічних сполук опосередковано вказують також результати дослідження рослинної лікарської сировини, у яких відзначено прямо пропорційний зв'язок вмісту цих елементів у коренях женьшеню, дев'ясила, кульбаби [4].

Таблиця 3

Уміст мікроелементів у тканинах щурів, мг/кг ( $M \pm m$ ,  $n=3, 4$ )

Орган / тканина	Елемент	Група				
		I	II	III	IV	V
Печінка	Cu	3,5±0,78	10,6±0,42***	11,5±0,69***	4,0±0,31	1,7±0,26
	Co	0,9±0,09	1,4±0,21*	1,2±0,13	0,7±0,05	1,0±0,12
	Mn	2,2±0,55	8,6±1,12**	5,0±0,52*	1,2±0,17	1,4±0,04
	Fe	20,9±1,06	25,0±0,82*	23,6±0,73	29,0±1,06**	18,4±0,69
	Zn	86,7±6,35	82,8±6,44	124,1±6,32*	109,5±5,8	77,5±0,74
Нирка	Cu	5,1±0,33	9,5±0,51***	7,8±0,4**	4,5±0,36	3,3±0,27**
	Co	1,8±0,31	1,9±0,17	1,3±0,26	1,5±0,21	2,3±0,23
	Mn	2,5±0,95	4,2±0,76	3,9±0,20	3,6±0,28	2,8±1,45
	Fe	28,0±1,70	38,9±1,87*	29,8±1,22	20,9±0,93*	14,3±1,12**
	Zn	161,4±6,67	150,5±6,01	191,4±6,38*	108,1±0,48**	148,2±3,21
Легені	Cu	1,4±0,09	4,3±0,37***	4,7±0,31***	4,4±0,27***	2,8±0,16***
	Co	1,0±0,11	1,2±0,06	1,0±0,12	0,7±0,05*	1,1±0,07
	Mn	1,9±0,49	2,1±0,33	2,2±0,28	3,3±0,25*	4,1±0,25*
	Fe	20,2±1,46	35,3±2,35**	27,2±1,96*	27,8±2,22*	28,2±1,91*
	Zn	79,1±1,25	93,1±2,75**	72,5±1,09*	77,8±1,85	110,2±5,89**
М'язи	Cu	2,4±0,12	2,6±0,18	1,6±0,18*	1,3±0,15**	1,3±0,15**
	Co	0,54±0,05	0,49±0,05	0,29±0,02**	0,30±0,03**	0,23±0,04**
	Mn	1,4±0,26	1,5±0,49	0,9±0,08	0,7±0,11*	0,8±0,09
	Fe	17,4±1,18	12,0±0,62*	15,4±0,75	11,3±2,37	6,38±0,32***
	Zn	25,0±1,16	31,8±1,10*	27,3±1,30	16,3±0,64**	44,1±1,67***

Суттєві відмінності між дослідними і контрольною групами встановлено щодо вмісту Mn у тканинах печінки: вірогідно вищий рівень у II і III групах, але нижчий – у IV і V групах. Уміст Mn у тканинах нирок тварин II–V дослідних груп зберігав тенденцію до вищого рівня, порівняно з контролем. Однак у тканинах легень тварин IV і V груп вміст Mn підвищувався в 1,74 і 2,16 рази ( $P \leq 0,05$ ). Це вказує на можливе нагромадження Mn у легенях і збільшення інтенсивності його виділення через дихальні шляхи за дії цитрату германію у високих (200 і 2000 мкг) дозах, отриманого методами як нанотехнології, так і хімічного синтезу. Збереження для Mn рівня контрольної групи у тканинах скелетних м'язів щурів II групи зі зниженням у III, IV ( $P \leq 0,05$ ) і V групах може вказувати на антагоністичну дозозалежну дію цитрату германію на вміст цього елемента у м'язах щурів. Уміст Co у тканинах печінки щурів підвищувався в II ( $P \leq 0,05$ ) і невірогідно – у III групах, проте у м'язах щурів III–V дослідних груп, а легень – IV групи рівень його був вірогідно нижчим, ніж у тварин контрольної групи. У тканинах нирок вірогідних змін концентрації Co не відзначено.

Відмінності між контрольною і дослідними групами вмісту Fe і Zn характеризувалися вищим рівнем їх у тканинах печінки щурів III, IV груп та II – тільки Fe, а також нирок (II – Fe, III – Zn), легень (II – V для Fe і II, V – для Zn) і м'язів (II і V групи для Zn). Відзначено зниження рівня цих елементів у тканинах нирок щурів IV і V, а м'язів – II-V груп (для Fe) і IV групи – для Zn. Характерно, що високі дози цитратів Ge в IV і V групах зумовлювали вірогідно нижчий вміст Fe і Zn у тканинах нирок, але вищий – легень, крім Zn для IV групи. Метаболічна дія цитратів Ge у м'язах щурів IV і V груп характеризувалася нижчим вмістом усіх досліджених мікроелементів у цих тканинах, за винятком рівня Zn у II і V групах. Низький вміст Fe у тканинах м'язів щурів усіх дослідних груп може зумовлюватися посиленням доставки і використання  $O_2$  з цитратної сполуки Ge зі зменшенням

надходження гемоглобіну, на що вказують отримані раніше дані інших авторів про важливе значення Ge у забезпеченні O<sub>2</sub> тканинного метаболізму [4, 5, 12, 13, 20].

Підсумовуючи отримані результати, необхідно відзначити вірогідні різниці досліджуваних показників крові та тканин у щурів, яким вполювали менші (10 і 20 мкг Ge/кг м. т.) кількості цитрату Ge, виготовленого методом нанотехнології та незначний інгібуючий вплив високої дози (2 мг Ge /кг м. т.) з GeЦХС на рівень загального протеїну у тварин V групи. Вплив цитратів Ge на вміст досліджених мікроелементів більше виражений у печінці, легенях і м'язах, що характеризувався вірогідними відмінностями вмісту Cu, Co, Mn у цих тканинах, а також Fe і Zn — у нирках. Найбільше виражена біологічна дія цитратів германію щодо вмісту мікроелементів у досліджених тканинах відзначена для Cu. Проведений аналіз отриманих результатів дає підставу для таких висновків:

1. Тривале вполювання різних доз цитратів Ge зумовлює різноспрямовані зміни показників крові у щурів дослідних груп з активацією альбумін-транспортної та структурно-ліпідної (зростання вмісту триацилгліцеролів) здатності крові, а також детоксикаційної функції організму самців щурів, які отримували середній (20 мкг) рівень цитрату Ge, виготовленого нанотехнологічним методом.

2. Застосування щурам V групи високої (2000 мкг Ge) дози цитрату Ge, виготовленого методом хімічного синтезу, зумовлює інгібуючий вплив на рівень загального протеїну у крові й активує утворення сульфаткон'югованих фенолів у печінці самців цієї групи без вірогідних відмінностей інших показників, порівняно з контролем.

3. Метаболічний вплив цитратів Ge у самців щурів характеризується міжгруповими відмінностями показників мінерального обміну з вірогідно вищим вмістом у тканинах: печінки – Cu, Co, Mn, Fe – II, III, а Zn – III і IV груп; нирок: Cu – II, III, Fe – II, а Zn – III груп на тлі зменшення у цих тканинах рівня Cu для V, Fe – IV і V, а Zn – IV груп; легень – Cu і Fe у II–V групах, Zn – II і V, але зменшення його рівня у III (P<0,05), а Co у IV (P<0,05) групах; м'язів – Zn у II і V групах на тлі зниження вмісту Zn у IV (P<0,01), а Cu, Co, Mn, Fe – у III, IV і V групах.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Влізло В. В., Бащенко М. І., Іскра Р. Я. та ін. Нанотехнології та їх застосування у тваринництві й ветеринарній медицині // Вісн. аграрної науки. 2015. № 11. С. 5–9.
2. Влізло В. В., Іскра Р. Я., Федорук Р. С. Нанобіотехнології. Сучасність та перспективи розвитку // Біологія тварин. 2015. Т. 17. № 4. С. 18–29.
3. Долайчук О. П., Федорук Р. С., Каплуненко В. Г. Фізіологічний вплив наноцитрату германію за умов його вполювання лактуючим самкам щурів та їх приплоду // Фізіол. журнал. 2014. Т. 60. № 3. С. 222.
4. Комаров Б. А., Комаров А. Б., Комарова К. Б. Об элементе германий и его роли в биопроцессах [Електронний ресурс] // Фитотерапия. 2014. Режим доступу: [http://www.treskunov.ru/fitohitodezi/komarov\\_o\\_germanii.html](http://www.treskunov.ru/fitohitodezi/komarov_o_germanii.html).
5. Кресюн В. Й., Шемонаєва К. Ф., Відавська А. Г. Фармакологічна характеристика сполук германію // Клініч. фармація. 2004. № 4. С. 64–68.
6. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В.В. Влізло, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін.; за ред. В.В. Влізла. Львів: СПОЛОМ, 2012. 764 с.
7. Лукевиц Э. Я., Гар Т. К., Игнатович Л. М., Миронов В. Ф. Биологическая активность соединений германия. Рига: Зинатне, 1990. 191 с.

8. Лукьянчук В. Д., Немятых О. Д. Влияние координационного соединения германия с никотиновой кислотой на активность ферментов энергетического обмена при экстремальном кислорододефицитном состоянии // Укр. журнал екстрем. медицины ім. Г.О. Можаяєва. 2003. № 1. С. 62–66.
9. Наноматеріали в біології. Основи нановетеринарії / В.Б. Борисевич, В.Г. Каплуненко, М.В. Косінов та ін.; за ред. В.Б. Борисевича, В.Г. Каплуненка. К.: Авіценна, 2010. 416 с.
10. Патент України на корисну модель № 38391. МПК (2006): C07C 51/41, C07F 5/00, C07F 15/00, C07C 53/126 (2008.01), C07C 53/10 (2008.01), A23L 1/00, B82B 3/00. Спосіб отримання карбоксилатів металів «Нанотехнологія отримання карбоксилатів металів» [Текст] / М.В. Косінов, В.Г. Каплуненко. Опубл. 12.01.2009. Бюл. № 1.
11. Саханда І. В. Препарати Германію та їх застосування в медицині // Укр. наук-мед. молодіжний журнал. 2014. № 4 (84). С. 83–86.
12. Сейфулліна І. Й., Немятых О. Д., Лук'яничук В. Д., Ткаченко Є. В. Фармакологічні ефекти германієвих сполук // Одеський мед. журнал. 2003. № 6. С. 111–114.
13. Стадник А. М., Биць Г. О., Стадник О. А. Біологічна роль германію в організмі тварин та людини // Наук. вісн. Львів. нац. акад. ветерин. медицини ім. С.З. Гжицького. 2006. Т. 8. № 2. Ч. 1. С. 185–174.
14. Трахтенберг І. М., Чекман І. С., Линник В. О. та ін. Взаємодія мікроелементів: біологічний, медичний і соціальний аспекти // Вісн. НАН України. 2013. № 6. С. 11–20.
15. Федорук Р. С., Храбко М. І. Динаміка маси тіла і репродуктивна функція самок щурів та життєздатність приплоду за впоювання різних кількостей цитрату германію // Біологія тварин. 2015. Т. 17. № 3. С. 214.
16. Dolaychuk O. P., Fedoruk R. S., Kovalchuk I. I., Kropyvka S. I. Physiological and biochemical processes in the organisms of rats when feeding them with different amounts of germanium citrate // Біологія тварин. 2015. Т. 17. № 2. С. 50–56.
17. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes. Coun. of Europe, Strasbourg, 1986. Pp. 53.
18. Long Q. C., Zeng G. X., Zhao X. L. Pharmacokinetics of germanium after po beta-carboxyethylgermanum sesquioxide in 24 Chinese volunteers // Zhongguo Yao Li Xue Bao. 1996. Vol. 17. N 5. P. 415–418.
19. Sawai K., Kurono M., Awaaya J. et al. Composition containing Organogermanium compound and immunity – adjusting agent composition. Pat. (5 340 806 (K1. 514184) USA; 23) Aug. 1994.
20. Thayer J. S. Germanium compounds in biological systems // Rev. Silicon, Germanium, Tin, Lead Compd. 1985. Vol. 8 (2–3). P. 133–155.

Стаття: надійшла до редакції 24.06.16

доопрацьована 14.02.17

прийнята до друку 30.03.17

**METABOLISM IN THE MALES RATS F<sub>1</sub> IN PERIODS WATERING  
NANOGERMANIUM CITRATE AND GERMANIUM CITRATE OBTAINED  
BY CHEMICAL SYNTHESIS**

**M. Khrabko<sup>1</sup>, R. Fedoruk<sup>1</sup>, M. Khrabko<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Institute of Animal Biology, NAAS of Ukraine  
38, Vasyl Stus St., Lviv 79034, Ukraine*

*<sup>2</sup>Vyshnyansky College Lviv National Agrarian University  
v. Vyshnya, Lviv Region 81540, Ukraine  
e-mail: khrabko95@gmail.com*

Studied comparative influence of different doses of citrate germanium, which corrects metabolism and level of mineral elements in tissues, has immune stimulating properties and biochemical parameters of blood, the content of some macro and microelement in tissues and detoxification ability of male rats. Research performed in vivarium conditions Institute of animal biology NAAS in male rats first generation, divided into five groups, 5 animals in each derived from females which drinking varying amounts of citrate Ge, which were used for similar groups of males during pregnancy and lactation. Animals in group I, control, receiving granulated feed and drinking water. Rats research groups, except feed was added daily to drinking water citrate Ge, which was obtained by nanotechnology at the rate of: II group – 10 mg Ge/kg body weight, III – 20 mg Ge/kg b. w., IV – 200 mg Ge/kg b. w., and for V – 2000 mg Ge/kg b. w. its citrate which was obtained by chemical synthesis. Marked differences of total protein, albumin, triacylglycerols, creatinine, Calcium and AST activity in animal blood research groups compared with the control. Biological effects of citrate Ge predetermined more significant changes in animals II and III groups were characterized by significantly higher blood levels of albumin (III), creatinine (II, III), triacylglycerols (III and IV group) and AST activity of blood (II) against the backdrop of lower albumin, triacylglycerols and Calcium (II). At the same time marked by low total protein in the blood animals of group V, which drinking 2 mg Ge from his citrate chemical synthesis. Animals III, IV and V groups also showed higher levels of detoxification ability of the organism, manifested significantly higher content fenolsulfate's in liver tissues (III, V) and kidney (III) groups, and for fenolglucuronide's in liver tissue and skeletal muscles (III) and kidney (III and V) groups of rats. Established significantly higher Cu content in the tissues of the liver and kidneys of rats II and III groups, the lungs – all research groups and Co and Mn – liver for II and III groups Mn – lung IV and V groups compared with the control. In muscles of rats observed significantly lower levels of Cu, Co and Mn for III, IV and V groups, Fe – II and V, and Zn – IV groups, amid growing his level – for II and V research groups.

*Keywords:* metabolism, germanium citrate, rats, blood

ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 581.143.6 : 633.34

**МОРФОГЕНЕТИЧНІ РЕАКЦІЇ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* ІЗОГЕННИХ  
ЗА ГЕНАМИ *EE* ЛІНІЙ СОЇ *GLYCINE MAX* (L.) MERR.**

**М. Васильченко<sup>1</sup>, С. Степченкова<sup>1</sup>, О. Авксентьєва<sup>1,2\*</sup>**

<sup>1</sup> Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
майдан Свободи, 4, Харків 61022, Україна

<sup>2</sup> Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна  
e-mail: avksentyeva@karazin.ua

У роботі представлені результати дослідження особливостей морфогенетичних реакцій в культурі *in vitro* зразків сої культурної, що різняться за фотоперіодичною чутливістю. Дослідження проводили на 7 генотипах ізогенних за генами *E*-серії (*early maturity genes*) ліній (NILs) сої культурної *Glycine max* (L.) Merrill сорту Clark. Показано, що всі лінії ефективно вводяться в культуру *in vitro*, здатні до прямого морфогенезу за використання як експланта котиледонних вузлів, але різняться за ступенем прояву та спрямованістю морфогенетичних реакцій. Ізолінії з короткоденною фотоперіодичною реакцією (КДР) реалізують морфогенетичні реакції за умов *in vitro* шляхом гемогенезу та ризогенезу, в той час як фотоперіодично нейтральні ізолінії (ФПР) – більшою мірою шляхом калусогенезу. Встановлено, що КДР ізолінії характеризуються максимальними показниками адвентивного пагоноутворення, ризогенезу та формуванням більшої кількості пагонів на експланті на регенераційних середовищах різного складу порівняно з фотоперіодично нейтральними ізолініями. Обговорюється зв'язок фотоперіодичної реакції ізогенних ліній *in vivo*, яка детермінується їхнім генотипом, і особливостями прямого морфогенезу за умов *in vitro*.

*Ключові слова:* *Glycine max* (L.) Merrill, NILs, система генів *E*-серії (*early maturity genes*), фотоперіодична реакція, прямий морфогенез *in vitro*

Соя культурна (*Glycine max* (L.) Merrill) – це рослина зі сімейства бобових, яка широко вирощується у світі для споживання людиною, виробництва кормів, технічних цілей тощо. Насіння сої характеризується найвищим вмістом білка серед бобових культур, і його якість поліпшується з кожним роком, завдяки дослідженню генетичних ознак. Останніми роками у селекційних програмах багатьох сільськогосподарських культур активно використовуються біотехнологічні методи, які дають змогу суттєво підвищити ефективність селекційного процесу і створювати нові генотипи на основі клітинної інженерії [6]. Отримання нових форм рослин з використанням методів культур *in vitro* передбачає підбір та оптимізацію умов для індукції калусогенезу, морфогенезу, отримання рослин-регенерантів і адаптацію їх до умов *ex vitro* [5, 6]. Зазвичай протоколи цих етапів строго індивідуальні та значною мірою детерміновані генотипом вихідної рослини. Відомо, що є дуже великі розбіжності у морфогенетичному потенціалі рослин різних видів та сортів і на цей час ще недостатньо відомостей про регуляторні механізми морфогенетичних реакцій, які обумовлюють різноманітні шляхи розвитку рослин за умов *in vitro* [4]. Соя як представник дводольних рослин легко вводиться в культуру *in vitro* та формує типову калусну тканину, але морфогенетичні процеси й отримання рослин-регенерантів не завжди є ефективними [7, 11]. Для прямого та непрямого морфогенезу сої найчастіше як експланти використовую-



ють гіпокотилі [12], сім'ядольні вузли [16], котиледони [15] та ін. Ефективність процесу залежить від складу живильного середовища [13], умов культивування [18], вмісту фітогормонів [17] та інших екзогенних факторів впливу. Дуже важлива роль вихідної рослини-донора – її генотипу, віку, фізіологічного стану, типу експланта тощо. У зв'язку з цим на сьогодні актуальним завданням є виявити роль конкретних генетичних систем і генів у здатності рослинних експлантів сої до культивування за умов *in vitro*.

Відомо, що регуляція темпів розвитку у сої культурної детермінована системою генів *E-серії*, яка контролює тривалість періодів від сходів до цвітіння і від цвітіння до дозрівання, а також опосередковано пов'язана з продуктивністю [9, 14]. До теперішнього часу виявлено 8 основних генів *E-серії* (*early maturity*), що контролюють час до цвітіння і дозрівання: *E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7* і *E8* [8, 20]. Встановлено, що головними серед них є гени *E1, E2*, домінуючі алелі яких обумовлюють прояв короткоденної фотоперіодичної реакції рослин, а рецесивні алелі – фотоперіодично нейтральну реакцію. Зручною і широко визнаною моделлю для досліджень генетичних систем є майже ізогенні лінії сої (*NILs – near isogenic lines*), створені в генофоні сорту Clark, які відрізняються між собою тільки станом окремих локусів генів *E-серії*. У разі використання цієї моделі виявлені чіткі фенотипові ефекти генів *E-серії* на ріст і розвиток сої *in vivo* на організменому рівні [10]. Однак до теперішнього часу не проведено вивчення ефектів цих генів на морфогенетичні реакції в культурі *in vitro*, в якій виникають нові функціональні зв'язки, відмінні від тих, які притаманні цілісному рослинному організму за умов *in vivo*. Такі дослідження мають важливе значення для поглиблення поширених уявлень про функціональну значимість генетичної регуляції росту і розвитку на різних рівнях організації рослинного організму та виявлення регуляторних механізмів прояву різноманітних морфогенетичних реакцій за умов культури *in vitro*.

Метою роботи було дослідження можливої ролі системи генів *E-серії*, яка визначає фотоперіодичну реакцію рослин за умов *in vivo*, у детермінації процесів різноманітних шляхів морфогенезу в системі *in vitro* у ізогенних ліній сої *Glycine max* (L.) Merrill сорту Clark.

### Матеріали та методи

#### Рослинний матеріал

Дослідження проводили на семи генотипах – ізогенних за *E-генами* ліній сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr). Ці майже ізогенні лінії NILs створені в генофоні сорту Clark і відрізняються за станом окремих локусів генів *E-серії* та фотоперіодичною реакцією (табл. 1).

Таблиця 1

Генотип і фотоперіодична реакція NILs за генами *EE* сої сорту Clark

Ізолінія	Генотип*	Фотоперіодична реакція (ФПР)**
<i>L 74-441</i>	<i>E1 E2 e3 E4 e5 E7</i>	Короткоденна (КДР)
<i>L 80-5879</i>	<i>E1 e2 e3 E4 e5 E7</i>	Короткоденна (КДР)
сорт Clark	<i>e1 E2 E3 E4 e5 E7</i>	Короткоденна (КДР)
<i>L 63-3016</i>	<i>e1 E2 E3 e4 e5 E7</i>	Короткоденна (КДР)
<i>L 94-1110</i>	<i>e1 e2 E3 E4 E5 E7</i>	Нейтральна (ФПН)
<i>L 63-3117</i>	<i>e1 e2 E3 E4 e5 E7</i>	Нейтральна (ФПН)
<i>L 71-920</i>	<i>e1 e2 e3 E4 e5 E7</i>	Нейтральна (ФПН)

**Примітки:** \* дані наведені за Agricultural Research Service [www.ars.usda.gov](http://www.ars.usda.gov); \*\* – результати власних досліджень за вегетації рослин на географічній широті м. Харкова (50 ° п.ш.)

Насіння ліній репродукували при культивуванні рослин на експериментальній ділянці кафедри фізіології та біохімії рослин і мікроорганізмів Харківського національного

університету імені В.Н. Каразіна в умовах штучно створеного короткого фотоперіоду у ході польових експериментів 2012–2014 років.

#### *Введення в культуру in vitro*

Для приготування живильних середовищ, стерилізації та культивування рослинного матеріалу використовували традиційні для робіт у культурі рослинних тканин методики [1, 5]. Введення в культуру *in vitro* здійснювали через стадію асептичних проростків, які вирощували на середовищі Шенка-Хільдербранта (ШХ) без стимуляторів росту, що містить вітаміни В<sub>1</sub> і РР – 5 мг/л, В<sub>6</sub> – 0,5 мг/л, мезо-інозит 1 г/л, сахарозу 30 г/л і агар-агар 7 г/л, протягом 10 діб в окремих пробірках за освітлення 1,5 кЛк при 26 °С за 16-годинного фотоперіоду. Потім зі сформованих асептичних проростків за умов стерильності проводили вичленення експлантів – котиledonних вузлів (3–4 мм завдовжки) для дослідження морфогенетичних реакцій у культурі *in vitro*.

#### *Морфогенез in vitro*

Відокремлені котиledonні вузли пасивували на регенераційні середовища різного складу: Мурасиге і Скуга МС-1 – з повним вмістом макро- і мікросолей та додаванням БАП і НОК (МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК) та МС-2 – з половинним вмістом макро- і мікросолей (½ МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 НОК). Експланти культивували упродовж 6 тижнів за освітлення 1,5 кЛк при температурі 22 °С та 16-годинному фотоперіоді. Різноманітність прояву морфогенетичних реакцій у культурі *in vitro* аналізували за показниками гемо-, калусо- та ризогенезу, розраховуючи їхню частоту як відношення кількості експлантів, що утворюють дані морфогенні структури, до загальної кількості експлантів у відсотках. Вплив складу живильного середовища на прямий морфогенез у культурі *in vitro* розраховували за показниками загального адвентивного пагоноутворення та кількості пагонів на одному експланті [1, 5].

#### *Статистична обробка*

Усього проведено три біологічні серії експериментів, кожен генотип сої культивували не менш ніж у 3–4 чашках Петрі по 7–10 експлантів у кожній. Отримані дані оброблені методом однофакторного статистичного аналізу [2] з використанням пакету програмного забезпечення MS Excel 2010.

### **Результати і їхнє обговорення**

Морфогенез рослин за умов культури *in vitro* має ширший спектр прояву різноманітних шляхів, ніж за умов *in vivo*. Під час морфогенезу формуються нові тканини й органи, а відповідні процеси мають назви, що відображають їхню сутність – гістогенез, ризогенез, гемогенез, соматичний ембріогенез, флоральний гемогенез тощо [5, 6]. Однак генетичні, клітинні та молекулярні механізми індукції цих процесів у культурі *in vitro* ще досі не зрозумілі. Для сої культурної, яка інтенсивно досліджується методами культури *in vitro*, найбільш розповсюдженим шляхом морфогенезу *in vitro* є прямий морфогенез із використанням котиledonних вузлів як експланта [12]. Останнім часом з'являються роботи, у яких розробляють протоколи непрямого шляху отримання регенерантів (через соматичний ембріогенез), але вихід рослин або дуже низький [19], або рослини, отримані цим способом, є стерильними [16].

Ми вивчали індукцію прямого морфогенезу у семи генотипів ізогенних ліній сої культурної, що різняться за фотоперіодичною реакцією. Експланти – котиledonні вузли – пасивували на середовища різного складу з додаванням фітогормонів цитокінінів (БАП) і ауксинів (НОК) у співвідношенні МС-1 6:1 та МС-2 5:1 для індукції процесу формування адвентивного пагоноутворення (гемогенезу). У разі культивування *in vitro* всі досліджувані ізоляції проявляли морфогенетичні реакції, але різною мірою та різної спрямованості (табл. 2).

Таблиця 2

Морфогенетичні реакції в культурі *in vitro* ізогенних за генами *E*-серії ліній NILs сої сорту Clark (культивування на середовищі МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК)

Ізолінії	Генотип	Гемогенез, %	Калусогенез, %	Ризогенез, %
Короткоденні ізолінії (КДР)				
L74-441	E1 E2 e3 E4 e5 E7	92,5	56,1	41,7
L80-5879	E1 e2 e3 E4 e5 E7	87,7	65,6	46,2
Clark (copm)	e1 E2 E3 E4 e5 E7	88,2	52,3	30,5
L63-3016	e1 E2 E3 e4 e5 E7	91,0	63,4	32,3
	HIP <sub>0,05</sub>	5,1	7	11
Фотоперіодично нейтральні ізолінії (ФПН)				
L94-1110	e1 e2 E3 E4 E5 E7	65,7	85,2	17,2
L63-3117	e1 e2 E3 E4 e5 E7	73,4	87,3	23,5
L71-920	e1 e2 e3 E4 e5 E7	57,2	93,2	12,3
	HIP <sub>0,05</sub>	7	5	9

У результаті наших експериментів показано, що морфогенетичні реакції у досліджуваних ізогенних ліній сої в культурі *in vitro* проявлялися шляхом гемогенезу (рис. 1, а), гемогенезу та калусогенезу (рис. 1, б), гемогенезу, калусогенезу та ризогенезу (рис. 1, в). У короткоденних ізоліній (КДР) L74-441, L80-5879, Clark, L63-3016 частота гемогенезу становила 92,5–87,7 %, в той час як у фотоперіодично нейтральних (ФПН) ізоліній L94-1110, L63-3117, L71-920 показники частоти прямого морфогенезу були істотно нижчими 57,2–73,4 %. Також органогенез у культурі *in vitro* за культивування на живильному середовищі МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК був реалізований шляхом ризогенезу: корені утворювалися безпосередньо з котиледонних вузлів, або шляхом непрямого морфогенезу з калусної культури, що попередньо була сформована з первинного експланта (рис. 1, в). За показниками частоти ризогенезу, як і гемогенезу, всі КДР ізолінії істотно переважають ФПН ізолінії (табл. 2).

При культивуванні на штучному живильному середовищі поряд із процесами органогенезу всі досліджувані ізолінії сої формували калусні тканини, тобто морфогенез також ішов шляхом калусогенезу (рис. 1, б). Згідно з отриманими результатами, частота калусогенезу у ФПН ізоліній L94-1110, L63-3117, L71-920 становила 93,2–85,2 %, що значно переважало показники частоти калусогенезу у КДР ізоліній L74-441, L80-5879, Clark, L63-3016 – 65,6–52,3 %.

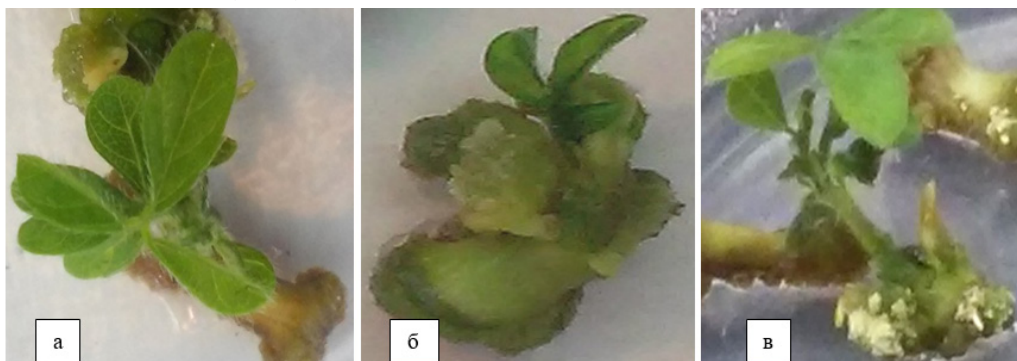


Рис. 1. Морфогенетичні реакції ізогенних *E*-серії ліній сої *Glycine max* (L.) Merr. сорту Clark у культурі *in vitro* (живильне середовище МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК): а – адвентивне пагоноутворення короткоденної ізолінії L74-441 генотип E1 E2 e3 E4 e5 E7; б – пагоноутворення та калусогенез фотоперіодично нейтральної ізолінії L71-920 генотип e1 e2 e3 E4 e5 E7; в – адвентивне пагоноутворення та ризогенез короткоденної ізолінії L80-5879 генотип E1 e2 e3 E4 e5 E7

У наших попередніх дослідженнях [3] було показано, що всі ізоляції *E*-серії ефективно вводяться в культуру *in vitro* та формують первинні й пересадкові калусні культури. Особливості калусогенезу опосередковано пов'язані з фотоперіодичною реакцією, тобто детерміновані генотипом [3]. Так, ізоляції з короткоденною реакцією характеризувалися швидкими темпами первинного калусогенезу, але в пересадковій культурі знижували темпи росту, а фотоперіодично нейтральні ізоляції мали більш низькі темпи первинного калусогенезу, але значно випереджали короткоденні лінії за субкультивування.

Таким чином, нами встановлено протилежні тенденції в реалізації морфогенетичних реакцій за умов *in vitro* у ізоляцій, які контрастні за фотоперіодичною реакцією в умовах *in vivo*. У КДР ізоляцій морфогенез переважно відбувався шляхом реалізації процесів формування надземної частини рослин (органогенезу) та кореневої системи (ризогенезу). Водночас за цих самих умов культивування у ФПН ізоляцій морфогенез максимально реалізувався шляхом калусогенезу.

Склад живильного середовища, вміст основних фітогормонів і синтетичних сполук гормональної дії є важливим фактором, що зумовлює спрямованість морфогенетичних реакцій сої в культурі *in vitro* [17, 18]. Результати дослідження адвентивного пагоноутворення з котиledonних вузлів на 6-й тиждень культивування на середовищах різного складу показали (табл. 3), що короткоденні ізоляції сої значно інтенсивніше формують пагони порівняно з фотоперіодично нейтральними ізоляціями (як за показниками загального пагоноутворення, так і за кількістю новоутворених пагонів на одному експланті).

Таблиця 3

Морфогенез у культурі *in vitro* ізогенних за генами *E*-серії ліній NILs сої сорту Clark

Ізоляції	Генотип	Частота адвентивного пагоноутворення, %	Число пагонів / експлант, шт.	
			МС-1 *	МС-2 **
Короткоденні ізоляції				
L74-441	E1 E2 e3 E4 e5 E7	92,5	6,4	4,0
L80-5879	E1 e2 e3 E4 e5 E7	87,7	5,3	4,6
Clark (сорт)	e1 E2 E3 E4 e5 E7	88,2	6,4	4,2
L63-3016	e1 E2 E3 e4 e5 E7	91,0	6,0	4,0
	HIP <sub>0,05</sub>	5,1	0,7	0,4
Фотоперіодично нейтральні ізоляції				
L94-1110	e1 e2 E3 E4 E5 E7	65,7	4,1	3,0
L63-3117	e1 e2 E3 E4 e5 E7	73,4	4,8	3,3
L71-920	e1 e2 e3 E4 e5 E7	57,2	3,3	2,5
	HIP <sub>0,05</sub>	5,1	0,3	0,2

**Примітки:** склад живильного середовища: \*МС-1 МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК (6:1); \*\*МС-2 ½ МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК (5:1)

У короткоденних ізоляцій L74-441, L80-5879, Clark, L63-3016 число паг./експ. становить за культивування на середовищі МС-1 5,3 – 6,4 паг./експ., на середовищі МС-2 4,0 – 4,6 паг./експ. У той же час у фотоперіодично нейтральних ізоляцій L 94-1110, L 63-3117, L 71-920 за культивування на середовищі МС-1 3,3 – 4,8 паг./експ., а на середовищі МС-2 – 2,5 – 3,3 паг./експ. відповідно. Найбільш інтенсивне адвентивне пагоноутворення серед короткоденних ізоляцій спостерігали у ліній L74-441 з генотипом E1E2e3E4e5E7 та сорту Clark з генотипом e1E2E3E4e5E7, серед фотоперіодично нейтральних ізоляцій – у лінії L63-3117 з генотипом e1e2E3E4e5E7.

За культивування на середовищі з половинним вмістом макро- та мікросолей ½ МС+ 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК загально гомогенез (адвентивне пагоноутворення) відбувався менш інтенсивно (рис. 2, а), крім того, спостерігалися порушення у розвитку адвентивних пагонів – хлороз і некрози (рис. 2, б, в). Тобто для нормального розвитку новоутворених

пагонів для всіх ізоляцій сої є необхідним повноцінний вміст макро- та мікроелементів у складі живильного середовища.

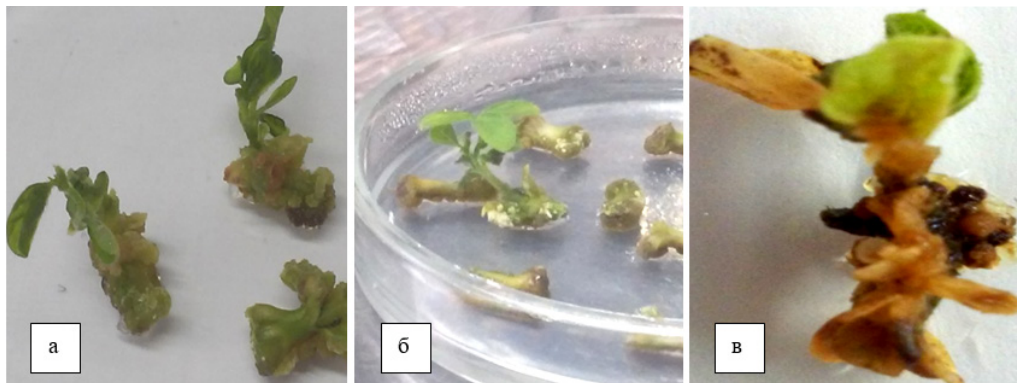


Рис. 2. Морфогенез у культурі *in vitro* ізогенних *E*-серії ліній сої *Glycine max* (L.) Merr. сорту Clark з контрастною фотоперіодичною реакцією (живильне середовище  $\frac{1}{2}$  МС+0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК): а – адвентивне пагоноутворення короткоденної ізоляції L74-441 генотип *E1E2e3E4e5E7*; б – загальний вигляд пагоноутворення у фотоперіодично нейтральної ізоляції L71-920 генотип *e1 e2 e3 E4 e5 E7*; в – формування некротичних адвентивних пагонів за культивування котиледонних вузлів на регенераційному середовищі МС-2

Отже, склад живильного середовища МС-1 – МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК (співвідношення ФГ 6:1) з повним вмістом макро- і мікроелементів є оптимальним для адвентивного пагоноутворення для всіх досліджуваних ізоляцій сої, незалежно від їхньої фотоперіодичної реакції.

Таким чином, ізоляції з короткоденною фотоперіодичною реакцією характеризуються максимальними показниками адвентивного пагоноутворення та ризогенезу на регенераційних середовищах різного складу, порівняно з фотоперіодично нейтральними ізоляціями, морфогенез яких більшою мірою реалізується шляхом калусогенезу.

Вірогідно, що генотип ізоляцій, який детермінує фотоперіодичну чутливість рослин сої за умов *in vivo*, впливає на спрямованість морфогенетичних реакцій у культурі *in vitro*. Це припущення базується на тому факті, що досліджені лінії за однакового генотипу сорту Clark розрізняються тільки станом певних генів *EE* (домінантний і/або рецесивний) і проявляють різний характер морфогенетичних реакцій.

Одним із механізмів прояву ефектів *E*-генів на морфогенетичні реакції у культурі *in vitro* може бути їхня участь за цих умов у регуляції фізіолого-біохімічних процесів подібно до того, як це відбувається у системі цілісної рослини *in vivo*, у якій гени *E*-серії, залежно від їхнього стану (домінантний чи/або рецесивний), визначають тип фотоперіодичної реакції досліджуваних ліній опосередковано, через детермінацію метаболічних і фітогормональних процесів.

Автори висловлюють подяку Національному Центру генетичних ресурсів рослин України за допомогу в отриманні ізогенних за *E*-генами ліній сої з колекції USDA (Agricultural Research Service).

Робота виконана в рамках держбюджетної теми «Дослідження фізіолого-біохімічних і молекулярно-біологічних механізмів генетичного контролю розвитку і продукційного процесу сільськогосподарських культур» (номер держреєстрації № 0112U000101) за пріоритетним тематичним напрямом «Фундаментальні проблеми наук про життя та розвиток біотехнологій», згідно з постановою КМУ № 942 від 7.09.2011.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Авксентьева О. А., Петренко В. А. Биотехнология высших растений: культура *in vitro*. Х.: ХНУ имени В.Н. Каразина, 2011. 60 с.
2. Атраментова Л. О., Утєвська О. М. Статистичні методи в біології: підручник. Х.: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2007. 288 с.
3. Васильченко М. С., Авксентьева О. А., Жмурко В. В. Фотопериодическая реакция и каллусогенез изогенных по Е-генам линий сои культурной // Вісн. Харків. ун-ту. Сер. біол. 2014. Т. 23. № 1129. С. 44–53.
4. Жумабаева Б. А., Джангалина Є. Д., Айташева З. Г. Морфогенетические реакции в культуре тканей зерновых бобовых культур // Вестн. КазНУ. Сер. биол. 2012. Т. 55. № 3. С. 58–62.
5. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. К.: Наук. думка, 1980. 488 с.
6. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. К.: Поліграф Консалтинг, 2003. 520 с.
7. Сидорчук Ю. В., Дейнеко Е. В., Шумный В. К. Морфогенетические реакции образцов сои (*Glycine max* L. Merr. и *G. ussuriensis* L.) в культуре *in vitro* // Цитология и генетика. 1999. Т. 33. № 5. С. 7–14.
8. Cober E. R., Molnar S. J., Charette M., Voldeng H. D. A new locus for early maturity in soybean // Crop Sci. 2010. Vol. 50. P. 524–527.
9. Cober E. R., Morrison M. J. Regulation of seed yield and agronomic characters by photoperiod sensitivity and growth habit genes in soybean // Theor. Appl. Genet. 2010. Vol. 120. P. 1005–1012.
10. Destro D., Carpentieri-Pipolo V., Kiihl R. A. S., Almeida L. A. Photoperiodism and genetic control of the long juvenile period control in soybean // Crop Breed. Appl. Biot. 2001. Vol. 1. P. 72–92.
11. Fomenko T. I., Malyushm M. K. Soybean (*Glycine max* L.) morphogenesis *in vitro* tissue culture // Plant Physiol. 2006. Vol. 42. P. 302–308.
12. Hai H. N., Lal S. K., Singh S. K. et al. Direct organogenesis in some soybean genotypes using cotyledonary segments // Indian J. Biotechnol. 2014. Vol. 13 P. 527–531.
13. Hofmann N., Nelson R. L., Korban S. S. Influence of media components and pH on somatic embryo induction in three genotypes of soybean // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2004. Vol. 77. P. 157–163.
14. Kim M. Y., Shin J. H., Kang Y. J. et al. Divergence of flowering genes in soybean // J. Biosci. 2012. Vol. 37. N 5. P. 857–870.
15. Ma X. H., Wu T. L. Rapid and efficient regeneration in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] from whole cotyledonary node explants // Acta Physiol. Plant. 2008. Vol. 30. P. 209–216.
16. Mangena P., Mokwala P. W., Nikolova R. V. *In vitro* multiple shoot induction in soybean // Int. J. Agric. Biol. 2015. Vol. 17. N 4. P. 838–842.
17. Radhakrishnan R., Ramachandran A., Kumari B. D. Rooting and shooting: Dual functions of thidiazuron in *in vitro* regeneration of soybean (*Glycine max*. L.) // Acta Physiol. Plant. 2009. Vol. 31. P. 1213–1217.
18. Sairam R. V., Franklin G., Hassel R. et al. A study on the effect of genotypes, plant growth regulators and sugars in promoting plant regeneration via organogenesis from soybean cotyledonary nodal callus // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2003. Vol. 75. N 1. P. 79–85.

19. Ugandhar T., Venkateshwarlu M., Parvathi D. et al. High frequency somatic embryogenesis and plantlet regeneration from shoot tip explants of Soybean // Sci. Res. Repot. 2011. Vol. 1. N 3. P. 146–150.
20. Zhai H., Lu S., Wang Y. et al. Allelic variations at four major maturity E genes and transcriptional abundance of the E1 gene are associated with flowering time and maturity of soybean cultivars // Plos One. 2014. Vol. 9. N 5. P. 1–16.

Стаття: надійшла до редакції 24.10.16

доопрацьована 23.02.17

прийнята до друку 06.03.17

### MORPHOGENETIC REACTIONS IN CULTURE *IN VITRO* OF ISOGENIC BY GENES *EE* LINES SOYBEAN *GLYCINE MAX* (L.) MERR.

M. Vasilchenko<sup>1</sup>, S. Stepchenkova<sup>1</sup>, O. Avksentieva<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>V.N. Karazin National University of Kharkiv  
4, Svoboda Sq., Kharkiv 61022, Ukraine

<sup>2</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv  
64/13, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine  
e-mail: avksentyeva@karazin.ua

The results of studies of the morphogenetic responses of soybean culture *in vitro*, differing in photoperiodic sensitivity are presented. Research has been carried out on 7 isogenic genotypes for the genes *E-series* (*early maturity genes*) lines (NILs) of soybean *Glycine max* (L.) Merrill varieties Clark. It has been shown that all the lines have been efficiently in culture *in vitro*, able to direct morphogenesis using cotyledon explants as nodes, but differ in the degree of manifestation and direction of morphogenetic responses. Isolines with shortday photoperiodic reaction (SDP) implement morphogenetic reaction *in vitro* by gemogenesis and rhizogenesis ways, while the photoperiodic neutral isolines (FNP) – increasingly realized by callusogenesis. It has been found that the SDP isogenic lines have been characterized by the highest rates of adventitious shoot formation, root formation and the formation of a larger number of shoots on explant on various regeneration media than photoperiodic neutral isogenic lines. The relationship between the photoperiodic response isogenic lines *in vivo*, which is determined by genotype, and features of morphogenesis *in vitro* are discussed.

**Keywords:** *Glycine max* (L.) Merrill, NILs, gene system *E-series* (*early maturity genes*), the photoperiodic response, direct morphogenesis *in vitro*

**СТАН ПРОДИХОВОГО АПАРАТУ ЛИСТКІВ РОСЛИН  
*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH. ТА *VICIA FABA* L.  
ЗА ВПЛИВУ NaCl ЗАСОЛЕННЯ**

**І. Деркач, Н. Ковальська, Х. Сембай, Н. Кващишин, Н. Романюк**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: ira\_derkach@ukr.net*

Досліджено вплив 100 мМ та 250 мМ NaCl на стан продихового апарату і відносний вміст води у рослин гречки посівної (*Fagopyrum esculentum* Moench.) та бобів кінських (*Vicia faba* L.) на 48-му, 72-гу год та на 7-му добу впливу солі. Встановлено, що сольовий стрес негативно впливає на розміри й апертуру продохів, а також призводить до зниження відносного вмісту води у дослідних рослинах. Водночас показано швидшу реакцію рослин *V. faba* на засолення, в яких спостерігалася більша різниця між контролем і дослідом, аніж у *F. esculentum*. Відносний вміст води у гречці залишався стабільно нижчим порівняно з контролем на усіх точках експозиції з NaCl, тоді як у бобів кінських він поступово зростав, та зрівнявся з контролем на 7-му добу впливу солі. Ймовірно, така реакція рослин на сольовий стрес пов'язана зі збереженням водного балансу в них. Збільшення відносного вмісту води у бобів може бути пов'язане із закриттям продохів, що найкраще спостерігалось на 7-му добу впливу солі, та може забезпечувати зменшення втрати води у процесі транспірації в умовах засолення середовища.

*Ключові слова:* *Fagopyrum esculentum* Moench., *Vicia faba* L., засолення, стрес, продохи

Зростання площ посушливих і засолених земель унаслідок глобального потепління, нераціонального зрошування чи використання хімічних добрив є важливою проблемою сьогодення [12, 31, 35]. Засолення ґрунту може негативно вплинути на ріст і розвиток культурних рослин, а головне – на їхню врожайність [13]. Дослідження механізмів солестійкості рослин дасть змогу селекціонерам вивести стійкі до засолення сорти [7, 16, 33]. Натомість використання аридних і засолених земель для вирощування сільськогосподарських рослин дасть змогу вирішити потребу в продовольстві, яка зростає з кожним роком [24, 27].

Високі концентрації солі у ґрунті призводять до погіршення поглинання води та мінеральних елементів кореневою системою рослин, втрати тургору клітин, негативно впливають на діаметр судин, щільність продохів, їхню форму та розмір тощо [6, 25, 30]. Листки є дуже чутливими до змін у навколишньому середовищі органами рослини. Їхнє осмотичне регулювання дає змогу рослині підтримувати поглинання води і клітинний тургор, що є важливим для роботи таких фізіологічних процесів як ріст клітин розтягом, відкриття продохів і фотосинтез [8, 28].

Засолення ґрунту здійснює негативний вплив на рослини через іонні й осмотичні зміни, проте рослини виробили різні механізми толерантності до впливу солі, зокрема ті, що мінімізують втрати води при транспірації, зокрема шляхом зміни стану продихового апарату [28]. Оскільки рослини відрізняються за своєю толерантністю до засолених ґрунтів, то набуває актуальності порівняння стану продихових апаратів у чутливих і стійких до засолення видів. Серед солестійких культур, боби кінські є важливим тестовим об'єктом для багатьох досліджень, а також поширеною кормовою культурою [17, 29]. Серед солечут-

© Деркач І., Ковальська Н., Сембай Х. та ін., 2017



ливих рослин гречка характеризується високим потенціалом щодо культивування, завдяки харчовим і дієтичним властивостям зерна, та найбільшим вмістом антиоксидантів серед зернових культур [2, 17]. Метою дослідження було здійснити порівняння короткочасного (сольовий шок) і довготривалого (сольовий стрес) впливу солі на рослини стійкого та чутливого до засолення видів культивованих рослин.

#### Матеріали та методи

Дослідження були проведені на рослинах гречки посівної (*F. esculentum*, Polygonaceae) сорту Українка та бобів кінських (*V. faba*, Fabaceae) сорту Пікуловецький. Насіння попередньо пророщували упродовж 3-х діб у чашках Петрі на вологому фільтрувальному папері при температурі  $22 \pm 1$  °C у темряві. Проростки переносили на перліт, у який вносили  $\frac{1}{2}$  поживного середовища Хогленда-Арнона і вирощували при температурі  $22 \pm 1$  °C в умовах 16-годинного світлового дня. На 14-ту добу росту у вегетаційні посудини вносили сіль до досягнення відповідної концентрації: гречка – 100 мМ NaCl, боби – 250 мМ NaCl. Вказані концентрації солі підібрані експериментально. У контрольному варіанті NaCl не вносили. Рослини аналізували на 48-му та 72-гу год (сольовий шок), а також на 7-му добу (сольовий стрес) впливу солі.

Визначали розміри продихів і величину апертури продихів сформованих листків рослин методом відбитків [11]. Цифрові зображення відбитків отримували за допомогою камери Nikon D3100. Їхній аналіз здійснювали за допомогою комп'ютерної програми ImageTool [9], розмір переводили у мікрометри за формулою:  $A = P / 3,95$ , де  $A$  – розмір апертури у мікрометрах;  $P$  – розмір апертури у пікселях; 3,95 – коефіцієнт переведення, визначений саме для даного збільшення і для даного обладнання. Коефіцієнт переведення визначали, фотографуючи лінійку від окуляр-мікрометра при даному збільшенні, а потім визначали кількість пікселів в 1 мкм (395 пікселів = 100 мкм, відповідно, 1 мкм = 3,95 пікселя). Відносний вміст води визначали за методом Barr і Weatherley [19]. Повторність дослідів була трикратною, результати опрацьовано статистично з використанням пакету Microsoft Excel [10]. Визначали середнє арифметичне значення  $M$ , похибку середнього арифметичного ( $\pm m$ ) та рівень достовірності за критерієм Стьюдента.

#### Результати і їхнє обговорення

Стан продихового апарату рослин залежить від багатьох факторів навколишнього середовища, таких як швидкість вітру, інтенсивність освітлення, водний режим рослини тощо [4, 31]. Продихи регулюють водний і газовий обмін рослини. Тому стан продихового апарату може слугувати одним із індикаторів інтенсивності впливу чинників, що пов'язані, насамперед, із забезпеченням рослини водою. Оскільки продихи – це посередники між навколишнім середовищем і клітинами мезофілу, то їхня структура та розміри можуть бути показниками здатності рослини до адаптації. Зміна апертури продихів і їхніх розмірів можуть впливати на інтенсивність транспірації, швидкість фотосинтезу тощо [3, 18]. Регулюючи процес транспірації, рослина може зменшити негативний вплив засолення. При короткочасному засоленні регуляція здійснюється завдяки відкриттю/закриттю продихів, а при довготривалому – завдяки певним анатомічним змінам листків (рис. 1, 3). Тому розміри продихів, їхня щільність і ступінь відкриття продихової щілини є важливими показниками ефективного використання водних ресурсів [14, 35].

Результати досліджень показали, що довжина та ширина продихів у листках відносно солестійких бобів кінських була відповідно на 19 і 5 % нижча від контролю на 72-гу год впливу солі (рис. 2). Розміри продихів на 48-му год та 7-му добу засолення відрізнялися від контролю лише на 5–6 %.

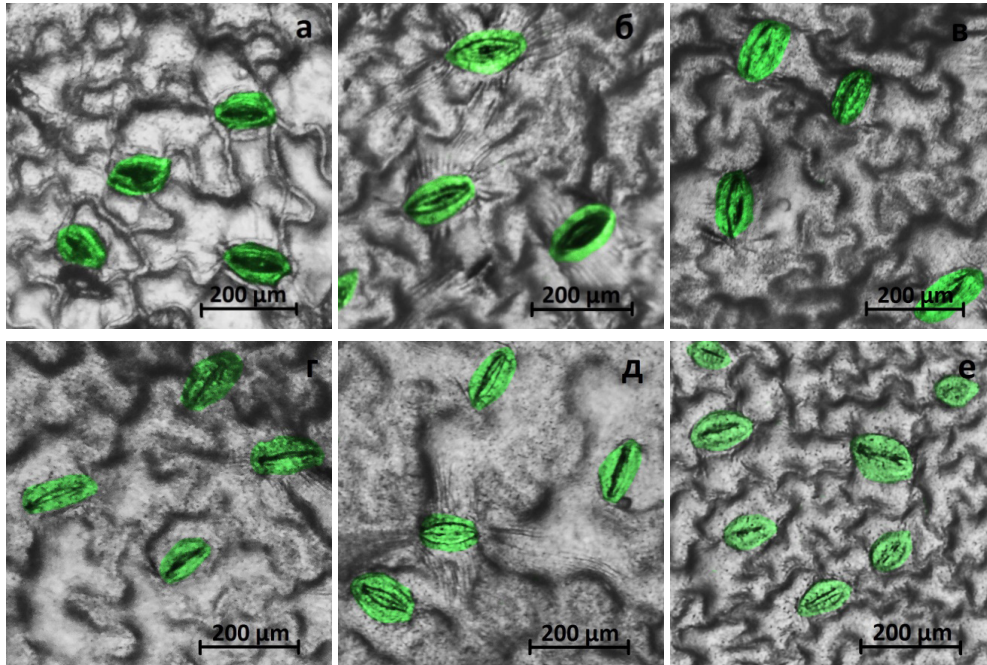


Рис. 1. Стан продихів нижньої поверхні листків рослин *Vicia faba* L. за нормальних умов (а – 48 год; б – 72 год; в – 7 доба) і за дії впливу 250 мМ NaCl (г – 48 год; д – 72 год; е – 7 доба), перліт, ½ живильного середовища Хогленда-Арнона

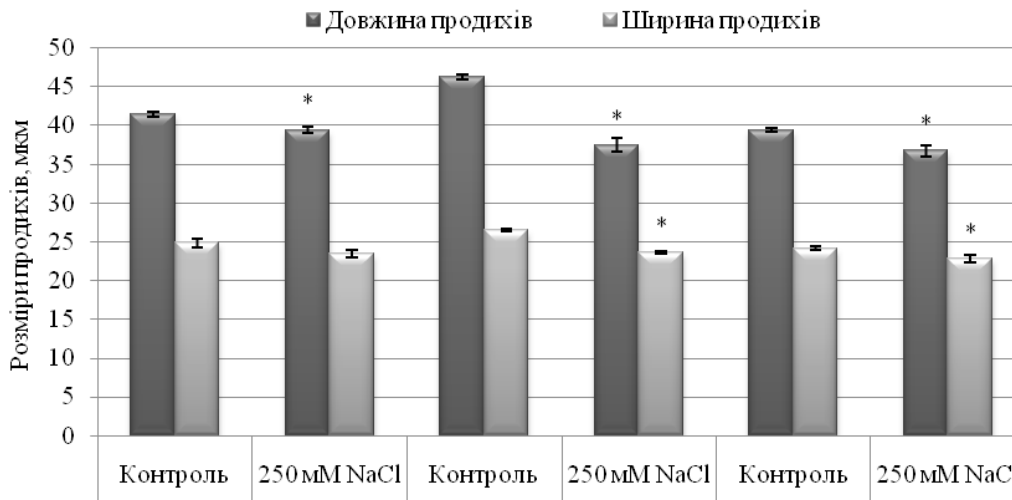


Рис. 2. Розміри продихів *Vicia faba* L. на 48-му, 72-гу год і 7-му добу впливу 250 мМ NaCl; перліт, ½ живильного середовища Хогленда-Арнона, мкм ( $M \pm m$ ,  $n=3$ ,  $*_{-} \geq 0,95$ )

Отримані нами дані продемонстрували не лише зменшення розмірів продихів в умовах сольового шоку, але й одночасне зниження відносного вмісту води у рослинах порівняно з контролем (рис. 5). Така реакція може бути механізмом ранньої відповіді рослин на засолення, оскільки відомо, що регуляція розмірів продихів на початкових етапах сольового стресу залежить також від тургору клітин листків [23, 26].

У листках проростків гречки довжина продохів була на 22 % нижчою від контролю на 48-му год впливу 100 мМ NaCl, проте на кожній наступній часовій точці цей показник зростав (рис. 4). Натомість, ширина відрізнялася лише на 72 год і 7-му добу впливу солі на 10 %. Отримані результати узгоджуються з даними Abbruzzese та ін. [14], які досліджували вплив сольового стресу на морфологічну пластичність листків і продихову провідність. Об'єктом досліджень були листки трьох генотипів *Populus alba*, які відрізнялися за соле-стійкістю (чутливий (6К3), помірно стійкий (2AS11) і стійкий (14P11)). Концентрації солі, які використовували у досліді: від 50 мМ до 250 мМ NaCl. Виявилось, що клітини генотипу 14P11 характеризувалися найменшими клітинами та більшою щільністю продохів. Окрім цього, у генотипів 14P11 і 6К3 виявили значну кореляцію між зменшенням площі продохів та їхньою провідністю.

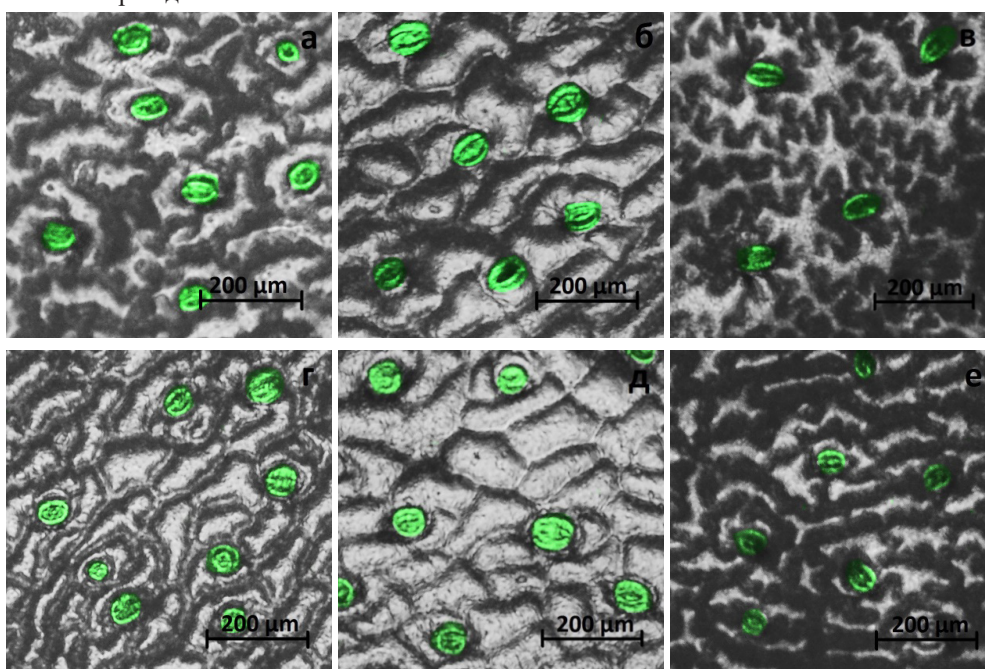


Рис. 3. Стан продохів нижньої поверхні листків рослин *Fagopyrum esculentum* Moench. за нормальних умов (а – 48 год; б – 72 год; в – 7 доба) і за дії впливу 100 мМ NaCl (г – 48 год; д – 72 год; е – 7 доба), перліт, ½ живильного середовища Хогленда-Арнона

За впливу засолення розміри продохів гречки були значно менші щодо контролю, аніж у бобів, а найпомітніша різниця спостерігалася саме за умов короткочасного (48 год) сольового шоку. Відомо, що продиhi забезпечують продихову транспірацію, а від ступеня їхньої відкритості залежить швидкість випаровування води рослиною [9, 18, 31]. В умовах стресу, зокрема сольового, продиhi можуть частково або повністю закриватися, зменшуючи при цьому втрату води з рослинного організму [34]. Так, Г. Коровецька та співавт. [9], досліджуючи вплив нафти на продиховий апарат *Carex hirta* L., виявили, що забруднення ґрунту нафтою у кількості 50 г/кг веде до зниження апертури продохів. Автори припустили, що це дає рослині можливість зменшити витрати води і проникнення токсичних, летких фракцій нафти у листки. Окрім того, закривання продохів в умовах сольового стресу може узгоджуватися із зниженням швидкості фіксації фотосинтетичного CO<sub>2</sub> [32, 35].

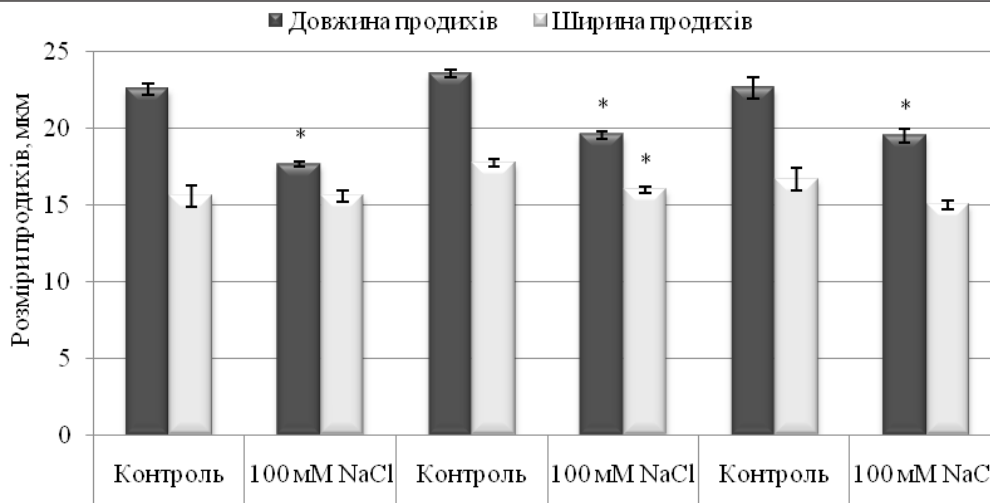


Рис. 4. Розміри продихів *Fagopyrum esculentum* Moench. на 48-му, 72-гу год та 7-му добу впливу 100 мМ NaCl; перліт, ½ живильного середовища Хогленда-Арнона, мкм ( $M \pm m$ ,  $n=3$ ,  $*_{-} \geq 0,95$ )

Встановлено, що апертюра продихів у листках бобів, які піддавалися впливу солі, була значно менша порівняно з контролем, аніж у гречки. У обох видів рослин показники стану продихів з кожною наступною точкою експозиції з NaCl зменшувалися. Так, на 7-му добу впливу солі ширина апертюри продихів у бобів була на 27 % нижчою щодо контролю, тоді як у гречки – на 22 %. На 72-гу год впливу ці показники були нижчі відповідно на 15 % та 7 %, щодо контролю.

Величина апертюри продихів нижньої поверхні листків рослин *Vicia faba* L. та *Fagopyrum esculentum* Moench. за дії NaCl; перліт, ½ живильного середовища Хогленда-Арнона; мкм ( $M \pm m$ ,  $n=3$ ,  $*_{-} \geq 0,95$ )

Об'єкт дослідження	Ширина апертюри продихів, мкм					
	Контроль	48 год	Контроль	72 год	Контроль	7 доба
<i>Vicia faba</i> L.	8,23±0,31	7,49±0,28	9,7±0,27	8,23±0,28*	10,27±0,55	7,51±0,31*
<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench.	4,3±0,33	4,63±0,25	4,61±0,32	4,29±0,3	5,45±0,2	4,21±0,25*

Така різниця між дослідними рослинами *V. faba* та *F. esculentum* пов'язана з різним рівнем солестійкості. Швидша реакція продихів бобів на появу у субстраті токсичних концентрацій солі може слугувати механізмом зменшення втрат води в умовах водного дефіциту. Отримані дані також узгоджуються з даними Rajput зі співавт. [30], які досліджували вплив солі (50 мМ, 100, 150 і 200 мМ NaCl) на фізіологічні й анатомічні показники в ранніх стадіях росту *Populus euphratica*. Ними було виявлено зменшення апертюри продихів, їхньої площі та зниження інтенсивності фотосинтезу у рослин, які піддавалися впливу солі. Kadam і Pravin [25], досліджуючи вплив засолення на продиховий апарат рослин *Crotalaria*, також виявили зменшення кількості продихів у *C. retusa* і *C. verrucosa*, що може покращувати водний баланс листя в умовах сольового стресу. Результати показали, що рослини виду *C. verrucosa* змогли краще підтримувати водний баланс в умовах сольового стресу, що проявлялось у кращій транспірації та провідності CO<sub>2</sub>. Натомість у дослідженнях Г. В. Коровецької [8] за впливу нафтового забруднення ґрунту не було виявлено істотної різниці в ширині апертюри продихів рослини *Faba bona* Medic. (*Vicia faba* L.). Автор пов'язує отримані дані з високим вмістом осмолітів у клітинах листків.

Негативний вплив солі на ріст рослин виникає внаслідок зміни розподілу сухої речовини, водного статусу рослини, іонних зв'язків, фізіологічних процесів, біохімічних реакцій або ж сукупності даних факторів [18, 22, 32]. Зв'язок між функціонуванням продохів і водним статусом рослини є складним процесом, із залученням ряду факторів [14, 31]. Корені в умовах сольового стресу першими реагують на виникнення дефіциту води, індуючи хімічний і гідравлічний сигнали. Головну роль у хімічному сигналі відіграє АБК, яка і викликає закривання продохів. Це дає рослині змогу регулювати ступінь відкритості продохів ще до зміни водного балансу листової пластинки [6, 20].

Відносний вміст води показує абсолютну кількість води, необхідну рослині для досягнення повного насичення. Цей показник залежить від водного потенціалу рослини, а тому може відображати ступінь стресу, який пов'язаний із нестачею води. Відомо, що більш стійкими до сольового стресу є рослини, здатні мінімізувати втрату води, підтримуючи тургор листків, оскільки це допомагає підтримувати такі процеси як продохова активність і активність фотосинтезу [23, 26]. Відносний вміст води у бобах кінських під впливом сольового шоку був близьким до контролю, як і на 7-му добу впливу солі. У гречки на кожну точку експозиції з NaCl відносний вміст води був нижчим щодо контролю приблизно удвічі.

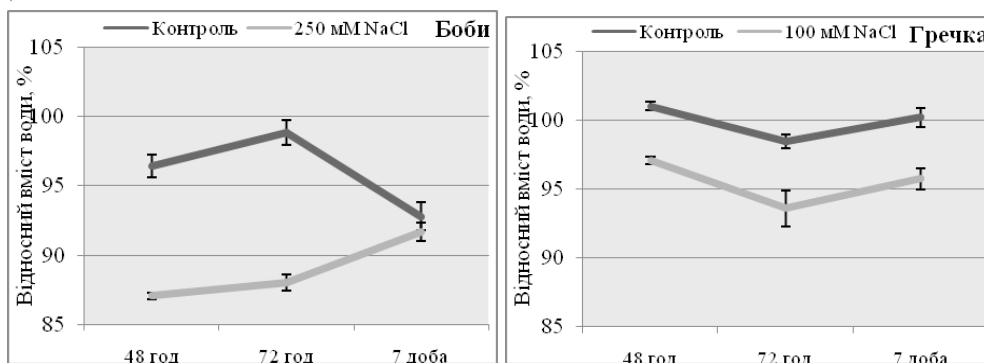


Рис. 5. Відносний вміст води у рослинах *Vicia faba* L. та *Fagopyrum esculentum* Moench. на 48-му, 72-гу год і 7-му добу впливу 100 мМ та 250 мМ NaCl; перліт, ½ живильного середовища Хогленда-Арнона, % щодо контролю

El-Bassiouny зі співавт. [21] також виявили негативний вплив сольового стресу на відносний вміст води в рослинах пшениці. У даному досліді рослини вирощували на засоленому середовищі: 0,03, 2,1, 5,0, 9,0 і 14 дСм/м<sup>1</sup>. Автори порівнювали реакцію на сольовий стрес двох сортів пшениці. Цікаво, що негативний вплив NaCl більшою мірою відображався на відносному вмісті води у рослин сорту Giza 168, аніж Gimeza 9, що свідчить про більшу здатність останнього уникати сольового стресу. Arya та Singh [15] досліджували вплив NaCl у концентрації від 0 до 2 % на рослини *F. esculentum*. Результати досліджень також показали негативний вплив усіх концентрацій солі на відносний вміст води в рослинах.

Таким чином, отримані нами результати показали, що обрані концентрації солі негативно впливають на продоховий апарат і відносний вміст води у дослідних культурах. Однак таку реакцію можна розглядати як спробу рослин до економного використання водних ресурсів, адже відомо, що закриття продохів контролює процент транспірації та підтримує сприятливий водний баланс у тканині листка [18, 20, 25]. Закриття продохів також може бути пов'язане із втратою тургору листками [20]. Як показали наші попередні дослідження

пігментної системи гречки та бобів, що росли на засоленому субстраті [5], змінювався не лише вміст хлорофілів і феофітинів, але й площа листової поверхні та маса сухої й сирої речовини. Так, площа листової поверхні у гречки була удвічі менша в рослин, що піддавалися впливу солі, а у бобів – у 3–8 разів нижча порівняно з контролем. Варто зазначити, що найпомітніша різниця у відносному вмісті води й апертурі продихів між контролем і дослідом спостерігалась у бобів кінських на 7-му добу впливу солі. Так, відносний вміст води досягнув рівня контролю, коли ширина продихової щілини значно зменшилась у рослин, які піддавалися дії солі. Вище значення відносного вмісту води може бути пов'язане із закриттям продихів для зменшення втрати води в умовах сольового стресу [15, 35]. Отже, боби кінські виявили кращу здатність до збереження водного балансу внаслідок сольового стресу, що може бути одним із механізмів більшої стійкості цієї культури, порівняно з гречкою.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аверина Н. Г., Щербатов Р. А., Бейзау З. Роль метаболізму азота в формуванні солеустойчивости растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum*) // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: междунар. науч. конф. Минск, 2012. С. 20–23.
2. Важов В. М. Гречиха на полях Алтая. М.: Изд. Дом Академии естествознания, 2013. 188 с.
3. Волошина Н. Ю., Білявська Н. О. Мікроструктура поверхні листків двох лісових видів клена в залежності від освітлення в кроні // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. біол. 2013. Вип. 1. № 28. С. 6–17.
4. Григоренко І. В. Вивчення продихового апарату листя представників родини магнолієвих в умовах південного сходу України у зв'язку з посухостійкістю // Вісн. Запорізьк. ун-ту. Сер. біол. 1999. № 1. С. 1–4.
5. Деркач І. В., Романюк Н. Д. Вплив NaCl засолення на ріст та пігментну систему *Fagopyrum esculentum* Moench. та *Vicia faba* L. // Вісн. Харків. ун-ту. 2015. Вип. 25. С. 308–319.
6. Жук О. І. Формування адаптивної відповіді рослин на дефіцит води // Физиология и биохимия культ. растений. 2011. Т. 43. № 1. С. 26–37.
7. Ісаєнков С. В. Фізіологічні та молекулярні аспекти сольового стресу рослин // Цитология и генетика. 2012. № 5. С. 50–71.
8. Коровецька Г. В. Адаптація рослин *Faba bona* Medic. (*Vicia faba* L.) та *Carex hirta* L. до дефіциту вологи в умовах нафтового забруднення ґрунту: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.12. К., 2010. 20 с.
9. Коровецька Г., Соханьчак Р., Джура Н. та ін. Стан продихового апарату листків рослин *Carex hirta* L. за впливу нафтового забруднення ґрунту // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 47. С. 166–171.
10. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш. школа, 1990. 351 с.
11. Романюк Н. Д., Цвілинюк О. М., Микієвич І. М., Терек О. І. Физиология растений: навч. практикум для студ. біол. ф-ту. Львів: Піраміда, 2005. 160 с.
12. Роменський В. Ю. Вплив зрошення і мінерального удобрення на рівень родючості ґрунту при вирощуванні польових культур в умовах південного Степу України // Бюл. Ін-ту сільськ. госп-ва степової зони. 2011. № 1. С. 140–144.
13. Соловух Н. В. Диагностика солеустойчивости растений рода *Rubus* биотехнологическим методом // Вестн. МичГАУ. 2010. № 1. С. 68–72.

14. *Abbruzzese G., Beritognolo I., Muleo R.* Leaf morphological plasticity and stomatal conductance in three *Populus alba* L. genotypes subjected to salt stress // *Environ. Exp. Bot.* 2009. Vol. 66. P. 381–388.
15. *Arya N., Singh V. P.* Protection of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) from different salinity stress by Triazoles // *Proceedings of the VII International Symposium on Buckwheat. Advances in Buckwheat Research.* Winnipeg, 1998. P. 68–75.
16. *Ashraf M., Harris J. C.* Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants // *Plant Sci.* 2004. Vol. 166. P. 3–16.
17. *Azooz M. M.* The potential role of seed priming with ascorbic acid and nicotinamide and their interactions to enhance salt tolerance in broad bean (*Vicia faba* L.) // *AJCS.* 2013. N 7. P. 2091–2100.
18. *Barbieri G., Vallone S., Orsini F.* Stomatal density and metabolic determinants mediate salt stress adaptation and water use efficiency in basil (*Ocimum basilicum* L.) // *J. Plant Physiol.* 2012. Vol. 169. P. 1737–1746.
19. *Barr H. D., Weatherley P. E.* A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves // *Aust. J. Biol. Sci.* 1962. Vol. 15. N 3. P. 413–428.
20. *Chaves M. M., Flexas J., Pinheiro C.* Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell // *Ann. Bot.* 2009. Vol. 103. P. 551–560.
21. *El-Bassiouny H. M. S., Bekheta M. A.* Effect of salt stress on relative water content, lipid peroxidation, polyamines, amino acids and ethylene of two wheat cultivars // *Int. J. Agric. Biol.* 2005. Vol. 7. N 3. P. 363–368.
22. *Fariduddin Q., Mir B. A., Ahmad A.* Physiological and biochemical traits as tools to screen sensitive and resistant varieties of tomatoes exposed to salt stress // *Braz. J. Plant Physiol.* 2012. Vol. 24. N 4. P. 281–292.
23. *González L., González-Vilar M.* Determination of relative water content // *Handb. Plant Eco-physiol. Techniques.* 2001. Ch. 14. P. 207–212.
24. *Gupta B., Huang B.* Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization // *Int. J. Genomics.* 2014. Vol. 2014. P. 1–18.
25. *Kadam P., Pravin C.* Effect of NaCl salinity on stomatal density and stomatal behaviour of *Crotalaria* L. species // *Bionano Frontier.* 2010. Vol. 3. N 2. P. 300–303.
26. *Mullan D., Pietragalla J.* Leaf relative water content // *Physiological Breeding II: A Field Guide to Wheat Phenotyping.* 2012. Ch. 5. P. 25–27.
27. *Munns R., Gilliham M.* Salinity tolerance of crops – what is the cost? // *New Phytol.* 2015. Vol. 208. P. 668–673.
28. *Neto A. D. A., Prisco J. T., Enéas-Filho J.* et al. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes // *Braz. J. Plant Physiol.* 2004. Vol. 16. N 1. P. 31–38.
29. *Qados A. M. S.* Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.) // *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 2011. N 10. P. 7–15.
30. *Rajput V. D., Chen Y., Ayup M.* Effects of high salinity on physiological and anatomical indices in the early stages of *Populus euphratica* Growth // *Russ. J. Plant Physiol.* 2015. Vol. 62. N 2. P. 229–236.
31. *Robinson M. F., Very A. A., Sanders D., Mansfield T. A.* How can stomata contribute to salt tolerance? // *Ann. Bot.* 1997. Vol. 80. P. 378–393.
32. *Seemann J. R., Critchley C.* Effects of salt stress on the growth, ion content, stomatal behavior and photosynthetic capacity of a salt-sensitive species, *Phaseolus vulgaris* L. // *Planta.* 1985. Vol. 164. P. 151–162.

33. Van Hoorn J. W., Van Alphen J. G. Salinity control // Drainage Principles and Applications. Wageningen, 2006. P. 533–600.
34. Zheng Y. H., Li X., Li Y. G. et al. Contrasting responses of salinity-stressed salt-tolerant and intolerant winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to ozone pollution // Plant Physiol. Biochem. 2012. Vol. 52. P. 169–178.
35. Zollinger N., Koenig R., Cerny-Koenig T., Kjelgren R. Relative salinity tolerance of intermountain Western United States native herbaceous perennials // Hort Sci. 2007. Vol. 42. N 3. P. 529–534.

Стаття: надійшла до редакції 18.10.16

доопрацьована 01.03.17

прийнята до друку 03.03.17

## STOMATAL BEHAVIOR OF *FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH. AND *VICIA FABA* L. PLANTS UNDER THE NaCl SALINITY

I. Derkach, N. Kovalska, Ch. Sembai, N. Kvashchyshyn, N. Romanyuk

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: ira\_\_derkach@ukr.net*

The impact of 100 mM and 250 mM NaCl on the stomatal apparatus and the relative water content in the buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) and beans (*Vicia faba* L.) plants under the 48th, 72th hours and 7th day of the salt impact. It was revealed that salt negatively affects the size and stomata aperture, and reduces the relative water content in the experimental plants. However, *V. faba* plants show faster than *F. esculentum* responses to the salinity in the stomata closure. The relative water content of buckwheat stayed consistently lower in comparison to the control at all timepoints with NaCl, while in beans it gradually increased, and caught up with the control on the 7th day of the salt impact. It was assumed, that these responses are associated with the maintenance of the water balance under osmotic stress. The increase of relative water content in the beans partially could be caused by stomata closure, which was best observed on the 7th day of the salt impact, and can reduce a transpirational water loss in the salt environment.

*Keywords: Fagopyrum esculentum* Moench., *Vicia faba* L., salinity, stress, stomata



## ЗМІСТ ОГЛЯДИ

<i>В. Дзюба, О. Кучменко</i> Сучасні уявлення про роль убіхінону в процесах метаболізму клітини .....	3
--	---

### БІОФІЗИКА

<i>О. Водяницький, О. Потрохов, О. Зіньковський, М. Причепя</i> Зміна активності $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази в ембріонах коропових риб за дії різного температурного та кисневого режиму водойм .....	14
--	----

### БОТАНІКА

<i>О. Смаглюк, Н. Смоляр, В. Соломаха</i> Флористична класифікація мезофільних кленово-липово-дубових лісів у басейні нижньої Сули (Україна) .....	23
<i>В. Начичко, В. Гончаренко</i> Ботаніко-географічна характеристика видів роду <i>Thymus</i> L. ( <i>Lamiaceae</i> ) у флорі західних регіонів України .....	35
<i>G. Angelov, I. Bednarska</i> Isoenzyme diversity within genus <i>Melica</i> (Poaceae) – systematic implications .....	48
<i>З. Мамчур, М. Чуба, Ю. Драч</i> Мохоподібні та судинні рослини на території залізниці міста Львова .....	54

### ГЕНЕТИКА

<i>I. Rokytskyu, S. Kulaha, H. Mutenko, M. Rabyk, B. Ostash</i> Peculiarities of codon context and substitution within streptomycete genomes .....	66
---	----

### ЕКОЛОГІЯ

<i>В. Савосько, М. Квітко</i> Сучасний життєвий стан лісових культурфітоценозів Криворіжжя .....	75
<i>Л. Вовнянко</i> Біотопна характеристика кумок ( <i>Bombina</i> ) гібридної зони північно-західного Передкарпаття .....	83
<i>М. Вінічук, К. Розен</i> Особливості позакореневого надходження $^{134}\text{Cs}$ у надземну вегетативну масу та бульби картоплі .....	90

### ЗООЛОГІЯ

<i>О. Іванець</i> Таксономія та еколого-морфологічна характеристика роду <i>Graptoleberis</i> (Sars, 1862) ( <i>Cladocera: Anotopoda: Chydoridae</i> ) Українського Розточчя .....	99
<i>С. Філіпенко</i> Ссавці ряду Carnivora в остеологічній колекції Зоологічного музею Луганського національного університету .....	107

## МІКРОБІОЛОГІЯ

<i>S. Tistechok, V. Fedorenko, O. Gromyko</i> Screening of Actinomycetes – potential biocontrol agents of the typical trees infections ....	119
<i>О. Мороз, С. Гнатуш, Х. Богославець, Г. Яворська, Г. Звір, Б. Борсукевич</i> Вплив калій біхромату на деякі фізіологічні особливості бактерій циклу сульфуру озера Яворівське .....	127
<i>О. Тарабас, С. Гнатуш, Б. Остап, Г. Мутенко, О. Кошля</i> Ідентифікація пурпурових несіркових бактерій <i>Rhodopseudomonas</i> sp. Ya-2016 .....	140

## ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

<i>Р. Остапів, Х. Скиба, В. Манько</i> Вплив тривалого перорального введення таурину на показники крові щурів .....	146
<i>С. Шкурашівська, Г. Ерстенюк</i> Вплив адреналіну на динаміку показників вуглеводного обміну в щурів .....	151
<i>М. Храбко, Р. Федорук, М. Храбко</i> Метаболічні процеси в організмі самців щурів F <sub>1</sub> у період випоювання «Наногерманію» цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого .....	158

## ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

<i>М. Васильченко, С. Степченко, О. Авксентьєва</i> Морфогенетичні реакції в культурі <i>in vitro</i> ізогених за генами EE ліній сої <i>Glycine max</i> (L.) Merr. ....	167
<i>І. Деркач, Н. Ковальська, Х. Сембай, Н. Кваццишин, Н. Романюк</i> Стан продигового апарату листків рослин <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench. та <i>Vicia faba</i> L. за впливу NaCl засолення .....	175

## CONTENTS

### REVIEW

- V. Dziuba, O. Kuchmenko*  
Modern aspects of ubiquinone functions in cell metabolism ..... 3

### BIOPHYSICS

- A. Vodyanitskyi, A. Potrohov, O. Zinkovskyi, M. Prychepa*  
Changes in activity of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP-ase in embryos carp fish under different oxygen  
and temperature of reservoirs regime ..... 14

### BOTANY

- O. Smagliuk, N. Smoliar, V. Solomakha*  
Floristic classification of mesophilous maple-lime-oak forests in the basin of lower Sula .. 23
- V. Nachychko, V. Honcharenko*  
Botanical-geographical characterization of *Thymus* L. (*Lamiaceae*) species in the flora  
of western regions of Ukraine ..... 35
- G. Angelov, I. Bednarska*  
Isoenzyme diversity within genus *Melica* (Poaceae) – systematic implications ..... 48
- Z. Mamchur, M. Chuba, Yu. Drach*  
Mosses and vascular plants on railway tracks in the Lviv city ..... 54

### GENETICS

- I. Rokytskyi, S. Kulaha, H. Mutenko, M. Rabyk, B. Ostash*  
Peculiarities of codon context and substitution within streptomycete genomes ..... 66

### ECOLOGY

- V. Savosko, M. Kvitko*  
Current life state of cultivated forest community in Kryvorizhzhya ..... 75
- L. Vovnianko*  
Biotope characteristics of the bellied-toads (*Bombina*) in the hybrid zone  
of north-west Pre-Carpathians ..... 83
- M. Vinichuk, K. Rosén*  
Foliar uptake of <sup>134</sup>Cs by potato foliage and tubers ..... 90

### ZOOLOGY

- O. Ivanets*  
Taxonomy, ecological and morphological characteristics of genus *Graptoleberis* (Sars,  
1862) (*Cladocera: Anomopoda: Chydoridae*) of Ukrainian Roztocze ..... 99
- S. Filipenko*  
Carnivore mammals in the osteological collection of the Zoological Museum  
of Luhansk National University ..... 107

## MICROBIOLOGY

- S. Tistechok, V. Fedorenko, O. Gromyko*  
Screening of Actinomycetes – potential biocontrol agents of the typical trees infections .... 119
- O. Moroz, S. Hnatysh, Ch. Bohoslavets, G. Yavorska, G. Zvir, B. Borsukevych*  
Potassium dichromate influence on some physiological peculiarities of sulfur cycle  
bacteria from Yavorivske lake ..... 127
- O. Tarabas, S. Hnatysh, B. Ostash, G. Mutenko, O. Koshla*  
Identification of purple non-sulfur bacteria of *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016..... 140

## HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

- R. Ostapiv, Chr. Skyba, V. Manko*  
Effect of long-term peroral taurine injection on blood indexes of rats ..... 146
- S. Shkurashivska, H. Ersteniuk*  
The effect of adrenaline on dynamics of carbohydrate metabolism indices in rats ..... 151
- M. Khrabko, R. Fedoruk, M. Khrabko*  
Metabolism in the males rats  $F_1$  in periods watering Nanogermanium citrate and  
germanium citrate obtained by chemical synthesis ..... 158

## PLANT PHYSIOLOGY

- M. Vasilchenko, S. Stepchenkova, O. Avksentieva*  
Morphogenetic reactions in culture *in vitro* of isogenic by genes EE lines soybean  
*Glycine max* (L.) Merr. .... 167
- I. Derkach, N. Kovalska, Ch. Sembai, N. Kvashchyshyn, N. Romanyuk*  
Stomatal behavior of *Fagopyrum esculentum* Moench. and *Vicia faba* L. plants  
under the NaCl salinity ..... 175