

ISSN 0206-5657

ВІСНИК
ЛЬВІВСЬКОГО
УНІВЕРСИТЕТУ

СЕРІЯ БІОЛОГІЧНА

Випуск 77

2018

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

Series Biology | **Серія біологічна**

Issue 77 | **Випуск 77**

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

2018

Друкується за ухвалою Вченої ради
Львівського національного університету
імені Івана Франка
Протокол №48/4 від 25 квітня 2018 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. Сибірна*; 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

<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 70x100/₁₆
Ум. друк. арк. 12,5
Тираж 100 прим. Зам.

© Львівський національний університет
імені Івана Франка, 2018

УДК 57.088.3+577.152.1

**ВИДІЛЕННЯ, ОЧИЩЕННЯ, СТАБІЛІЗАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА
ФЛАВОЦИТОХРОМУ b_2 ІЗ КЛІТИН НАДПРОДУЦЕНТА
OGATAEA POLYMORPHA «tr1» (*gcr1 catX CYB2*)**

О. Смуток*, М. Карковська, Н. Стасюк, М. Гончар

*Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, Львів 79005, Україна
e-mail: smutok.oleg.2015@gmail.com*

Опрацьовано новий метод виділення, очищення та стабілізації L-лактат: цитохром с оксидоредуктази (КФ 1.1.2.3; флавоцитохром b_2 , ФЦ b_2) із клітин рекомбінантного штаму дріжджів *Ogataea (Hansenula) polymorpha* «tr1» (*gcr1 catX CYB2*) та досліджено фізико-хімічні властивості очищених препаратів ферменту. Штам характеризується порушенням глюкозної катаболітної репресії та п'ятикратним надсинтезом ФЦ b_2 , порівняно із батьківським штамом дикого типу. Для забезпечення максимального виходу мембранозв'язаного ФЦ b_2 досліджено вплив низки детергентів і оптимізовано умови виділення ферменту. Для очищення ФЦ b_2 розроблено новий метод афінної хроматографії, який ґрунтується на використанні цитохрому с як природного ліганда, іммобілізованого на амінопропілсилохромі. Ефективність розробленого методу афінної хроматографії було порівняно з іонообмінною хроматографією на DEAE-Toyorearl 650M целюлозі. За використання обох типів хроматографії питома активність ФЦ b_2 у ферментних препаратах становила 10 Од·мг⁻¹, а вихід очищеного ферменту коливався в межах 75–95 %. Ступінь очищення цільового ферменту від баластних білків оцінено за допомогою електрофорезу в ПААГ у денатуруючих умовах за наявності SDS. Досліджено дію низки стабілізуючих агентів і умов зберігання, щоби забезпечити підтримання максимальної активності ФЦ b_2 . Найкращий стабілізуючий ефект спостерігали за використання 70 % амонію сульфату і зберігання препарату за температури –20 °С. Визначено деякі фізико-хімічні параметри очищеного ферменту з клітин *O. polymorpha* «tr1», зокрема: молекулярну масу і спектральні характеристики окисленої та відновленої форм ферменту.

Ключові слова: L-лактат: цитохром с оксидоредуктаза; *Ogataea polymorpha*; клітини надпродуцента; виділення, очищення, стабілізація ферменту

L-молочна кислота (L-лактат) як аналіт відіграє важливу роль у різних сферах діяльності людини. В інтенсивній терапії та хірургії визначення вмісту лактату в біологічних рідинах є важливим для оцінки стану пацієнта. Підвищення рівня L-лактату у крові є основним індикатором ішемічного стану, причинами якого можуть бути різні типи шоку, гіпоксія, карбон монооксид- або ціанідна інтоксикації, серцева недостатність і т.п. [10]. Зміни вмісту L-лактату також можуть бути наслідком діабету або патологічного всмоктування жирних кислот у товстому кишківнику [5, 7]. У спортивній медицині визначення вмісту L-лактату дає змогу оцінити пороговий анаеробний рівень витривалості спортсмена і підібрати оптимальні режими навантаження. Однак важливість аналізу L-лактату не лімітується лише медичним сектором. Лактат є компонентом багатьох харчових продуктів і напоїв. Молочнокислі бактерії природно продукують L- і D-лактат, тому вони наявні в багатьох молочних продуктах, отриманих у процесі молочнокислого бродіння, таких як

йогурт, сири, а також у ферментованих овочах. L-лактат часто додають до харчових продуктів для підкреслення смаку та як природний консервант. Підвищення вмісту лактату у м'ясо-молочних продуктах є ознакою їхнього псування [3]. Якість молока, пива, вина, фруктових і овочевих соків можна оцінити, визначаючи вміст L- і D-молочної кислоти.

На сьогодні розроблено низку ензиматичних підходів для аналізу L-лактату на основі NAD⁺-залежної лактатдегідрогенази із м'язів ссавців (ЛДГ) та бактерійної лактатоксидази (ЛО). Проте більшість із описаних методів мають низку недоліків: неабсолютна селективність, необхідність використання екзогенного кофактора, що додатково підвищує вартість методів і ускладнює процедуру аналізу. Це потребує подальшого пошуку нових ферментів і технологій на їхній основі, які можуть суттєво покращити експлуатаційні характеристики біоаналітичних наборів, забезпечити високу технологічність їхнього виготовлення та можливість широкого використання.

Засвоєння L-молочної кислоти дріжджами здійснюється через селективне окиснення L-лактату, яке каталізується мітохондріальною L-лактат: ферицитохром *c* оксидоредуктазою (КФ 1.1.2.3; флавоцитохром *b*₂, ФЦ *b*₂). Цей білок кодується у дріжджів геном *CYB2*. ФЦ *b*₂, отриманий із *Saccharomyces cerevisiae* та *Hansenula anomala*, – гомотетрамер, кожна субодиниця якого містить по одній молекулі флавінмононуклеотиду і протопегму IX. Флавоцитохром *b*₂ завдяки своїм унікальним каталітичним властивостям (абсолютна специфічність до L-енантіомера лактату, відсутність у потребі екзогенного кофактора) має важливе біоаналітичне значення, оскільки здатний замінити NAD⁺-залежну ЛДГ м'язів ссавців або ЛО під час визначення вмісту L-лактату в біологічних рідинах і харчових продуктах за допомогою ензиматичних і біосенсорних підходів.

Мета роботи – розробити схему виділення, очищення та стабілізації L-лактат: цитохром *c* оксидоредуктази (ФЦ *b*₂) із клітин рекомбінантного штаму дріжджів *Ogataea (Hansenula) polymorpha* «tr1» (*gcr1 catX CYB2*), отримати і дати фізико-хімічну характеристику очищеного ферменту.

Матеріали та методи

У роботі використовували рекомбінантний штам *Ogataea polymorpha* «tr1» (*gcr1 catX CYB2*) – надпродуцент флавоцитохрому *b*₂ із колекції Інституту біології клітини НАН України [8, 13]. Штам характеризується порушенням глюкозної катаболітної репресії, відсутністю каталазної активності та п'ятикратним надсинтезом ФЦ *b*₂, порівняно із батьківським штамом [8].

Клітини вихідного штаму зберігали на скосах із багатим агаризованим середовищем (YPD) (г·л⁻¹): глюкоза – 20, дріжджовий екстракт – 5, пептон – 10, агар – 20. Дріжджі вирощували до середини стаціонарної фази росту в колбах Ерленмейера на круговому шейкері (240 об·хв⁻¹) за 30 °С у середовищі Беркгольдера [14] такого складу (г·л⁻¹): КН₂РO₄ – (0,5 – 1); (NH₄)₂SO₄ – (3 – 3,5); MgSO₄·7H₂O – (0,2 – 0,5); CaCl₂ – 0,1. До середовища додавали дріжджовий екстракт «Діфко» до 0,5 %. Як джерело карбону та енергії використовували суміш 1 % глюкози та 0,5 % рацемату лактату.

Концентрацію клітин (у мг абсолютної маси на 1 мл суспензії) визначали за мутністю розведених суспензій шляхом їхнього фотометрування на фотоелектроколориметрі ФЕК–56М (за λ=540 нм, світлофільтр № 6, кювета з довжиною оптичного шляху 3 мм). Розрахунок коефіцієнта перерахунку для ФЕК–56М проводили за кривою гравіметричного калібрування. Розрахунок концентрації клітин проводили за формулою:

$$C = \frac{E \cdot n}{1,33} \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1},$$

де C – концентрація клітин; E – оптична густина за $\lambda=540$ нм; n – розведення вихідної суспензії; 1,33 – коефіцієнт перерахунку, визначений за допомогою калібрування гравіметричним методом.

Для приготування суспензії клітин дріжджів біомасу промивали двічі водою і один раз – 50 мМ фосфатним буфером (ФБ), рН 7,8 (до концентрації 90–100 мг·мл⁻¹), що містив інгібітори протеаз – 1 мМ ЕДТА та 1 мМ фенілметилсульфонілфторид (ФМСФ) (інгібітор серинових протеїназ). Суспензію клітин розливали у склянки для гомогенізації, вносили скляні кульки (діаметр 0,45–0,5 мм) у кількості 3/4 від об'єму суспензії та заморожували. Клітини руйнували на планетарному гомогенізаторі тричі по 2 хв за 1000 об·хв⁻¹ і 0 °С. Безклітинні екстракти (БЕ) відокремлювали від уламків клітин центрифугуванням (15 000 об·хв⁻¹, $r_{\text{сеп}} = 8$ см, 30 хв, 4 °С). Осади промивали 50 мМ ФБ, рН 7,8 з 1 мМ ФМСФ, повторно руйнували і центрифугували. У БЕ визначали активність ФЦ b_2 та концентрацію білка за Lowry [12].

Активність ФЦ b_2 визначали спектрофотометрично, за рівнем відновлення фериціаніду калію, за $\lambda=420$ нм [4]. Реакційна суміш містила: 0,03 М фосфатний буфер, рН 7,8; 0,03 М L-лактат; 1 мМ ЕДТА; 0,083 мМ $K_3Fe(CN)_6$; 0,02 мл екстракту. Питому активність ферменту (ПА, мкмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка) розраховували за формулою (1), а питому об'ємну активність (VA, мкмоль·хв⁻¹·мл⁻¹ реакційної суміші) – за формулою (2):

$$1) \text{ ПА} = \frac{\Delta E / \text{хв} \cdot V_p \cdot n}{\varepsilon_{\text{мм}} \cdot C_b \cdot V_e}; \quad 2) \text{ VA} = \frac{\Delta E / \text{хв} \cdot V_p \cdot n}{\varepsilon_{\text{мм}} \cdot V_e},$$

де $\Delta E / \text{хв}$ – зміна оптичної густини за $\lambda=420$ нм за хвилину; V_p – об'єм реакційної суміші, мл; n – розведення екстракту; $\varepsilon_{\text{мм}}$ – мілімолярний коефіцієнт екстинції калію фериціаніду, який дорівнює 1,04 мМ⁻¹·см⁻¹; V_e – об'єм екстракту, мл; C_b – концентрація білка в екстракті, мг·мл⁻¹.

Питому активність ферменту знаходили за формулою, враховуючи різницю між специфічною активністю (+ субстрат) і неспецифічною активністю (без субстрату): $\text{ПА} = \text{ПА}_{+\text{Lact}} - \text{ПА}_{-\text{Lact}}$. За одиницю активності (1 Од.) приймали таку кількість ферменту, яка за стандартних умов визначення зумовлює окислення 1 мкмоль L-лактату за 1 хв.

Нами вдосконалено схему очищення ФЦ b_2 *O. polymorpha*, основою якого послугував метод, розроблений для дріжджів *H. anomala* [6].

Стадія 1. Лізис клітин. Висушені клітини (2 г) лізували за наявності 1,2 мл бутанолу за кімнатної температури з додаванням 100 мл буфера А: 0,1 М лактат натрію у 20 мМ ФБ, рН 7,5; 0,025 мМ ЕДТА; 1 мМ ФМСФ. Суміш витримували 12 год за температури +4 °С.

Стадія 2. Отримання безклітинних екстрактів. Відстояну суміш центрифугували 30 хв за 0 °С та 4000 об·хв⁻¹ на центрифугі К 23, супернатант відбирали, осад повторно екстрагували.

Стадія 3. Іонообмінна хроматографія на DEAE-целюлозі. Безклітинні екстракти наносили на колонку (1,0 x 20 см). Як сорбент використовували DEAE-целюлозу Toyopearl 650 М (1-7-7, AKASAKA TOKYO, Японія), зрівноважену буфером А. Колонку промивали буфером А (70 мл), пізніше 50 мл буфером Б, що містив 0,1 М натрій-калій-фосфат, рН 7,6. Елюцію проводили 15 % (від насичення за 0 °С) амоній сульфатом у буфері Б. Ступінь очищення цільового ферменту від баластних білків характеризували, визначаючи його активність у фракціях елюатів і за допомогою електрофорезу в ПААГ у денатуруючих умовах (за наявності SDS).

Стадія 4. Висолювання ферменту проводили додаванням до елюату сухого амоній сульфату до 70 % (від насичення за 0 °С і контролю рН близько 7,0–7,5). Стабілізований таким чином фермент зберігав свою активність протягом двох місяців за температури –20 °С.

Електрофоретичний аналіз білкових препаратів, отриманих на різних стадіях очищення ферменту, проводили на приладі Helicon (Естонія) на пластинах для вертикального електрофорезу. Використовували SDS-електрофоретичний буфер, рН 8,3 (за Лемлі). Електрофорез проводили за кімнатної температури 2–3 год у SDS-поліакриламідному гелі, що містив:

А) 5 % концентруючого гелю (4,0 мл): dH₂O 2,7 мл; 30 % акриламід/метиленбісакриламід (співвідношення 4:1) 0,67 мл; 1,0 М трис-гліциновий буфер (рН 6,8) 0,5 мл; 10 % персульфат калію 0,04 мл; 10 % SDS 0,04 мл; TEMED 0,004 мл.

Б) 12 % розділяючого гелю (10,0 мл): H₂O 4,0 мл; 30 % суміш акриламід/метиленбісакриламід (30:1) 3,3 мл; 1,0 М трис-гліциновий буфер (рН 6,8) 2,5 мл; 10 % персульфат калію 0,1 мл; 10 % SDS 0,1 мл; TEMED 0,004 мл.

SDS-поліакриламідні гелі фіксували 15 хв 15 % розчином трихлороцтової кислоти й зафарбовували протягом 2–3 год 0,25 % розчином Кумасі яскраво-голубого R 250 у суміші, що містила 10 % оцтову кислоту і 40 % етанол. Гель відмивали 10 % оцтовою кислотою.

Усі досліди проводили у трьох-чотирьох повторях. Для кожної вибірки показників визначали середнє значення (M), стандартну похибку середнього (m) та середнє квадратичне відхилення (σ). Розрахунок статистичних показників і побудову графіків проводили за допомогою програми Origin 7.5.

Результати і їхнє обговорення

Оптимізація виділення флавоцитохрому b₂ з клітин O. polymorpha «tr1» із використанням детергентів

Оскільки природною локалізацією холоферменту ФЦ b₂ є міжмембранний простір мітохондрій, для його ефективної екстракції необхідні детергенти (табл. 1).

Таблиця 1

Властивості окремих детергентів [1]

Показник	Концентрація, ммоль·л ⁻¹	Молекулярна маса	Розмір міцели, Да	Агрегаційне число	Густина, г·мл ⁻¹
Тритон X-100*	0,24	628	90000	140	0,908
Твін-20*	0,012	1228	76000	60	0,896
NP-40	0,29	617	90000	149	1,103
1 % N-лауроїлсаркозин	14,57	293,38	–	2	1,033

Примітка: * – ці речовини є полідисперсними сумішами, тут наведено середні значення

Тритон X-100, Твіни-20 та *нонілфеноксиполіетоксилетанол* (NP-40) є неіонними детергентами. Вони мають незаряджені гідрофільні групи в «головці», що містять поліоксіетиленові компоненти. Взагалі, неіонні детергенти більш придатні для руйнування ліпід-ліпідних або ліпід-білкових взаємодій, ніж білок-білкових, тому вони вважаються неденатуруючими й широко використовуються для виділення мембранних білків у біологічно активній формі. Речовини з поліоксіетиленовими групами в «головці» можуть містити алкілполіетиленові етери із загальною формулою C_nH_{2n+1}(OCH₂CH₂)_xOH або фенільне кільце між алкільним ланцюгом і етерним угрупованням. Тритони X-100 та NP-40 належать до останнього класу речовин. Поліоксіетиленовий ланцюг утворює невпорядковане кільце й у подальшому видаляється з гідрофобного ядра міцели. Алкільні глікозиди дедалі частіше використовуються як неіонні детергенти за виділення мембранних білків [1]. Для порівняння ефективності використання неіонних детергентів було використано іонний детергент N-лауроїлсаркозин.

Щоб вивчити ефективність використання детергентів, під час виділення ФЦ b₂ із клітин дріжджів ліофільно висушені клітини руйнували скляними кульками Balotini (діаметром 0,5 мм), з використанням відповідних детергентів (табл. 2).

Таблиця 2

Характеристика безклітинних екстрактів, отриманих руйнуванням клітин *O. polymorpha* з використанням різних детергентів (наведено результати типового експерименту)

Безклітинний екстракт	V, мл	C _б , мг·мл ⁻¹	Σ б, мг	VA ФЦ b ₂ , Од·мл ⁻¹	ПА ФЦ b ₂ , Од·мг ⁻¹	Σ VA Од.
Контроль (без додавання детергента)	0,45	14,30	6,40	13,00	0,90	5,85
NP-40 (0,0175 %)	0,45	18,20	8,20	15,00	0,82	6,75
NP-40 (0,035 %)	0,45	18,80	8,50	17,70	0,94	7,97
1 % Твін-20	0,45	15,00	6,75	9,95	0,66	4,48
1 % Тритон X-100	0,40	14,80	5,92	12,00	0,81	4,80
1 % N-лауроїлсаркозин	0,40	14,00	5,60	9,95	0,71	3,98

Примітки: V – об'єм; C_б – концентрація білка; Σ б – сумарна кількість білка; VA – питома об'ємна активність; ПА – питома масова активність; Σ VA – сумарна кількість одиниць ферменту

Найефективнішою речовиною для екстракції ФЦ b₂ виявився NP-40 у концентрації 0,035 % (табл. 2). Він забезпечував у 1,36 рази вищу об'ємну питому активність ФЦ b₂ у безклітинних екстрактах, порівняно з контролем. Проте масова питома активність ферменту практично не зростала (0,94 проти 0,90 Од·мг⁻¹), що свідчить про те, що цей детергент сприяє кращій екстракції як цільового ферменту, так і баластних білків.

Щоб вивчити ймовірний інактивуєчий вплив окремих детергентів на активність ФЦ b₂ у безклітинних екстрактах (БЕ), провели електрофорез БЕ за нативних умов. У лунки 8 % ПААГ вносили однакову кількість ФЦ b₂ (0,03 Од.) і після проведення електрофорезу проводили візуалізацію ферментативної активності відповідно до методики [9].

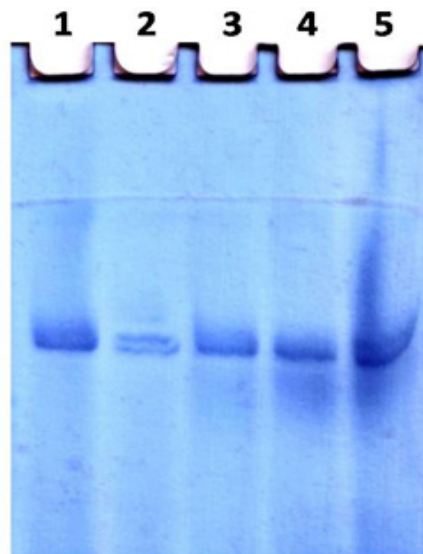


Рис. 1. Візуалізація активності ФЦ b₂ безклітинних екстрактів, отриманих за використання різних детергентів: 1 – контроль (без додавання детергента); 2 – 1 % Твін-20; 3 – 1 % N-лауроїлсаркозин; 4 – 1 % Тритон X-100; 5 – NP-40 (0,035 %). Умови нативного електрофорезу: 8 % ПААГ; рН 8,8; 5 год; 60 В; 12 мА; кімнатна температура

Як видно із рис. 1, практично всі досліджені детергенти не виявляють суттєвої інактивуєчої дії на активність ферменту в процесі його виділення. Лише за використання 1 % Твіну-20 візуально спостерігали зниження активності ФЦ b₂ щодо контролю.

Для забезпечення кращого виходу ФЦ b_2 , після руйнування клітин дріжджів уламки клітин додатково обробляли сумішшю, що містила 10 % бутанол у 50 мМ фосфатному буфері (рН 7,8) з додаванням 1 мМ ЕДТА, 1 мМ ФМСФ та 100 мМ лактату натрію за наявності досліджуваних детергентів (NP-40, Твін-20, Тритон X-100 та N-лауроїлсаркозин). Оптимальні умови обробки уламків клітин були такими: співвідношення екстрагуючої суміші до уламків клітин – 2 г на 10 мл; час інкубації – 20 год; температура 4 °С із постійним перемішуванням на магнітній мішалці. Безклітинні екстракти відокремлювали від уламків клітин центрифугуванням за 10 000 g. В отриманих екстрактах визначали сумарний білок за Лоурі та питому активність ФЦ b_2 (табл. 3).

Таблиця 3

Характеристика безклітинних екстрактів, отриманих із клітин *O. polymorpha* після 20 год лізису з використанням бутанолу та детергентів (наведені результати типового експерименту)

Супернатант	V, мл	C_6 , мг·мл ⁻¹	Σ б, мг	VA, Од·мл ⁻¹	ПА, Од·мг ⁻¹	Σ VA, Од.
Контроль (без додавання детергента)	0,45	16,7	7,50	2,30	0,13	1,04
NP-40 (0,0175 %)	0,45	16,80	7,56	9,00	0,53	4,05
NP-40 (0,035 %)	0,45	17,60	7,90	27,00	1,57	12,15
1 % Твін-20	0,45	15,00	6,00	6,00	0,40	2,70
1 % Тритон X-100	0,45	23,00	10,35	4,60	0,20	2,07
1 % N-лауроїлсаркозин	0,45	20,00	9,00	23,00	1,16	10,35

Примітки: V – об'єм; C_6 – концентрація білка; Σ б – сумарна кількість білка; VA – питома об'ємна активність; ПА – питома масова активність; Σ VA – сумарна кількість одиниць ферменту

Результати, представлені у табл. 3, чітко підтверджують попередні дані про позитивний вплив NP-40 (у концентрації 0,035 %) на екстракцію ферменту з уламків клітин протягом їхньої обробки бутанолом – 12,15 Од. проти 1,04 Од., що майже у 12 разів вище, порівняно з контролем. Трохи менший вихід ферменту спостерігали за використанням N-лауроїлсаркозину – 10,35 Од., що майже в 10 разів перевищує значення контролю. Слід зазначити, що «коефіцієнт якості» екстракції щодо цільового білка в 1,35 разу кращий для системи з NP-40, ніж для системи з N-лауроїлсаркозином (ПА 1,57 Од·мг⁻¹ проти 1,16 Од·мг⁻¹, відповідно).

*Афінна хроматографія для виділення й очищення ФЦ b_2 із клітин рекомбінантного штаму *O. polymorpha* «tr1»*

Для афінного очищення ФЦ b_2 нами синтезовано афінний сорбент на основі амінопропілсилохрому, модифікованого комерційним цитохромом *c* у ролі ліганда. Цитохром *c* зі серця бика (C2037 SIGMA-ALDRICH) ковалентно зв'язували силохромом, активованим глутаровим альдегідом, завдяки утворенню основи Шиффа між залишками лізину й альдегідними групами.

Афінний сорбент синтезували за такою схемою: до 25 мл силохрому амінопропілового додавали 50 мл 0,25 М ФБ, рН 8,0 та 5 мл 25%-ного глутарового альдегіду. Суміш, помірно перемішуючи на шейкері, залишали на ніч за температури 28 °С. Осад промивали 250 мл 0,05 М ФБ. Модифікацію активованого сорбенту проводили за допомогою цитохрому *c*. У колбу вносили 10 мл активованого глутаровим альдегідом амінопропілового силохрому у ФБ, рН 8,0 і додавали розчин цитохром *c* з концентрацією 2 мг·мл⁻¹. Сорбент промивали дистильованою водою за помірного перемішування з подальшою фільтрацією крізь фільтрувальний папір. Модифікований силохром сушили на повітрі [2].

Для контролю ступеня модифікації сорбенту визначали сумарний білок цитохрому *c* до і після його зв'язування, промиваючи сорбент 10 мМ ФБ, рН 7,8. Сумарний білок у розчині цитохрому *c* з концентрацією 2 мг·мл⁻¹ до зв'язування становив 10 мг, тоді як після зв'язування в промивах білка залишалося тільки 0,5 мг. Отже, 5 мл сорбенту зв'язало близько 9,5 мг цитохрому *c*.

Для очищення ФЦ *b*₂ 15 мл БЕ зі сумарною кількістю одиниць активності 278 Од. і білком 359 мг наносили на колонку, наповнену іммобілізованим на модифікованому цитохромом *c* аміносилохромі. Після нанесення БЕ колонку промивали 25 мМ фосфатним буфером рН 7,8 та елюювали зв'язані білки зростаючими концентраціями того ж буферу. Отримані білкові фракції збирали й аналізували активність ферменту. За швидкості потоку буферу для елюції 20 та 25 мл·хв⁻¹ було отримано фракцію білків, що не зв'язувалася зі сорбентом (ФНБ), і білкові фракції, що елюювалися 0,2 М фосфатним буфером рН 7,8 (Ф1). Результати визначення активності продемонстрували, що активність ФЦ *b*₂ виявлялась у Ф1 і не визначилась у ФНБ, що свідчить про високу спорідненість ферменту до афінного сорбенту.

Таблиця 4

Етапи очищення ФЦ *b*₂ з використанням афінної хроматографії на іммобілізованому цитохромі *c* (наведено результати типового експерименту)

Показник	V, мл	C _б , мг·мл ⁻¹	∑ б, мг	VA, Од.·мл ⁻¹	ПА, Од.·мг ⁻¹	∑ VA, Од.	Вихід, %	Очищення, разів
БЕ	15,0	23,9	359,0	18,5	0,77	277,5	=100	–
«Проскок» під час нанесення	10,0	16,0	160,0	слідова	слідова	слідова	–	–
Елюція 25 мМ ФБ, рН 7,8	3,0	22,0	66,0	23,80	1,10	71,0	25,6	1,43
Елюція 50 мМ ФБ, рН 7,8	3,0	6,50	19,5	35,0	5,38	105,0	37,8	8
Елюція 200 мМ ФБ, рН 7,8	3,0	1,0	3,0	10,0	10,0	30,0	10,8	13

Примітки: V – об'єм; C_б – концентрація білка; ∑ б – сумарна кількість білка; VA – питома об'ємна активність; ПА – питома масова активність; ∑ VA – сумарна кількість одиниць ферменту

Унаслідок проведеної афінної хроматографії отримано очищений препарат ФЦ *b*₂ з питоною активністю до 10 Од.·мг⁻¹. Вихід ферменту за активністю становив 74 %. Для стабілізації ферменту до об'єднаних фракцій елюату додавали сухий амоній сульфат до 70 % від насичення за 0 °С, підтримуючи рН близько 7,5.

Ступінь очищення цільового ферменту від баластних білків характеризували, визначаючи його активність і концентрацію білка в кожній фракції елюату (табл. 4) та за допомогою електрофорезу в ПААГ за денатуруючих умов за наявності SDS (рис. 2).

Як видно з електрофореграми, очищений препарат ферменту представлений чіткою домінуючою зоною з молекулярною масою субодиниць 79 кДа. Мінорна зона з молекулярною масою 64,6 кДа відповідає домішковому білку невідомої природи, можливо, частково деградованим субчастинкам ФЦ *b*₂.

Для додаткової характеристики чистоти очищеного препарату ФЦ *b*₂ аналізували його спектр поглинання у видимій ділянці порівняно з цитохромом *c*. В обидвох випадках використовували однакову концентрацію білка – 1 мг·мл⁻¹. Спектри реєстрували у кварцовій кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см в межах довжин хвилі 350–700 нм на спектрофотометрі SHIMADZU UV-1650 PC, використовуючи стандартну програму “UVProbe 2.20” (рис. 3).

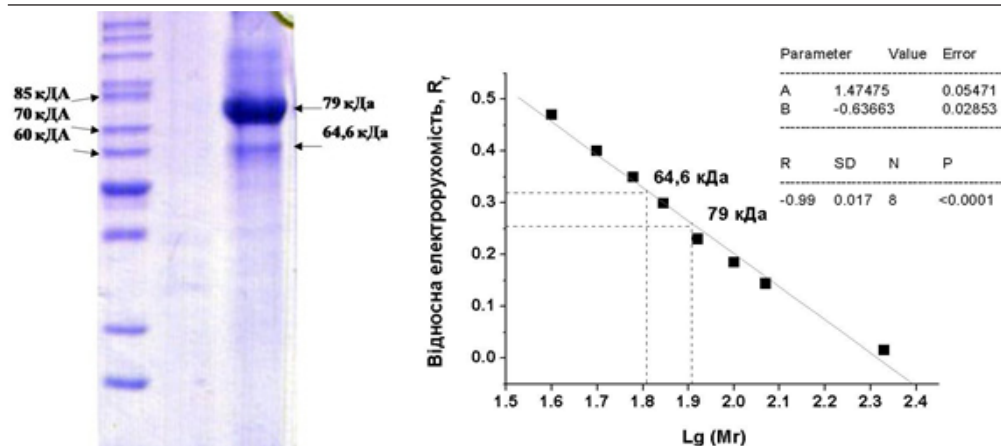


Рис. 2. Електрофоретична характеристика та визначення молекулярної маси очищеного препарату ФЦ b_2 *O. polymorpha*, отриманого за допомогою афінної хроматографії. SDS-електрофорез за денатуруючих умов у 12 % ПААГ. Білки забарвлені Кумасі R-250

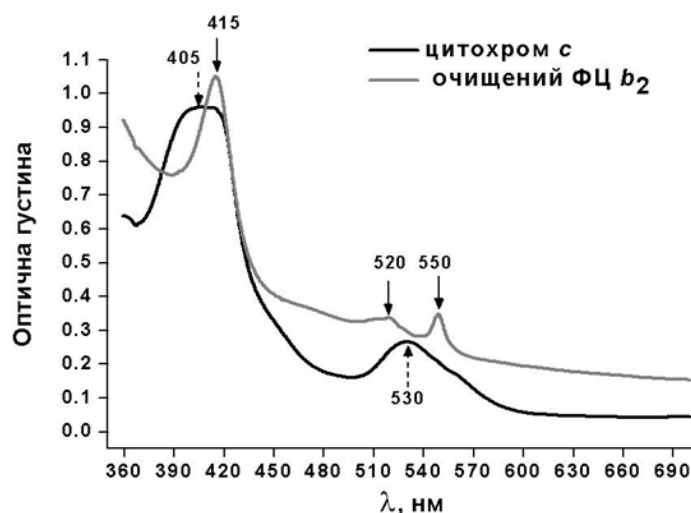


Рис. 3. Спектри поглинання цитохрому c і очищеного препарату ферменту (відновлена форма ФЦ b_2) за наявності 0,33 мМ L-лактату

У спектрі спостерігали максимуми поглинання гему для цитохрому c і очищеного ФЦ b_2 , які припадають на 405 та 415 нм, відповідно. Окрім того, для відновленої форми ФЦ b_2 мають місце максимуми поглинання флавінових груп за $\lambda=520$ та 550 нм; у разі цитохрому c цих піків немає. Для препарату цитохрому c виявлено характерний максимум за довжини хвилі 530 нм.

Для оцінки ефективності афінної хроматографії ФЦ b_2 її результати порівнювали з параметрами очищення ферменту за допомогою іонообмінної хроматографії. Останню проводили на колонці, заповненій комерційним сорбентом DEAE-Toyopearl 650M. Після нанесення безклітинних екстрактів на колонку, „проскок” і промивні розчини відбирали, визначаючи в них концентрацію білка й активність ФЦ b_2 . Фракції збирали, стежачи за просуванням по колонці буро-забарвленої зони, що відповідає ФЦ b_2 .

Таблиця 5

Етапи очищення ФЦ b_2 за допомогою іонообмінної хроматографії на DEAE-целюлозі
 (наведено результати типового експерименту)

Показник	V, мл	C_6 , мг·мл ⁻¹	Σ б, мг	VA, Од.·мл ⁻¹	ПА, Од.·мг ⁻¹	Σ VA, Од.	Вихід, %	Очищення, разів
БЕ	6,00	23,90	143	18,50	0,77	111	=100	–
«Проскок» під час нанесення	5,00	2,80	14,00	слідова	слідова	слідова	–	–
Елюція 50 мМ ФБ, рН 7,8	3,00	4,75	14,25	слідова	слідова	слідова	–	–
Елюція 125 мМ ФБ, рН 7,8	3,00	1,30	3,90	слідова	слідова	слідова	–	–
Елюція 200 мМ ФБ, рН 7,8	3,00	1,98	5,94	слідова	слідова	слідова	–	–
Елюція 200 мМ ФБ, рН 7,8 + 30% (NH ₄) ₂ SO ₄	2,20	4,8	10,45	48,3	10,00	106,3	95	13,4

Примітки: V – об'єм; C_6 – концентрація білка; Σ б – сумарна кількість білка; VA – питома об'ємна активність; ПА – питома масова активність; Σ VA – сумарна кількість одиниць ферменту

За допомогою іонообмінної хроматографії отримано препарат ФЦ b_2 з питоною активністю 10 Од·мг⁻¹, що збігається з характеристикою ферменту, очищеного за допомогою афінної хроматографії (у кращій III фракції елюату). Вихід ферменту за активністю близький до 95 %. Для стабілізації ферменту до об'єднаних фракцій елюату додавали сухий амонію сульфат до 70 % від насичення за 0 °С, підтримуючи рН близько 7,5.

Ступінь очищення ФЦ b_2 отриманого іонообмінною хроматографією, оцінювали за допомогою електрофорезу в ПААГ у денатуруючих умовах за наявності SDS (рис. 4).

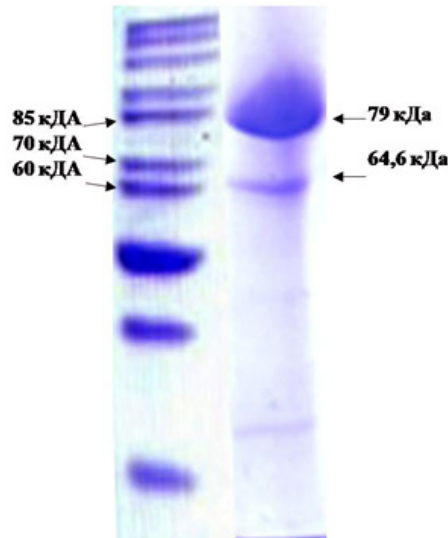


Рис. 4. Характеристика препарату ФЦ b_2 *O. polymorpha* «tr1» після очищення іонообмінною хроматографією. SDS-Електрофорез за денатуруючих умов у 12 % ПААГ. Білки забарвлено Кумассі R-250

Як видно з рис. 4, очищений препарат ферменту представлений чіткою домінуючою білковою зоною з молекулярною масою субодиниці 79 кДа. Як і у разі використання афінної хроматографії, на електрофореграмі препарату ФЦ b_2 після іонообмінної хроматографії нижче основної зони спостерігається мінорна білкова зона з молекулярною масою 64,6 кДа.

Для додаткової перевірки гомогенності очищених препаратів ФЦ b_2 проведено дослідження спектральних характеристик окисленої та відновленої форм ферменту.

Відновлення вихідної окисленої форми очищеного ФЦ b_2 проводили додаванням 0,3 мМ L-лактату (субстрату) до вихідного препарату ферменту.

Спектри препарату ФЦ b_2 з питомою активністю 10 Од·мг⁻¹ та концентрацією білка 4,8 мг·мл⁻¹ реєстрували на спектрофотометрі SHIMADZU UV-1650 PC (рис. 5).

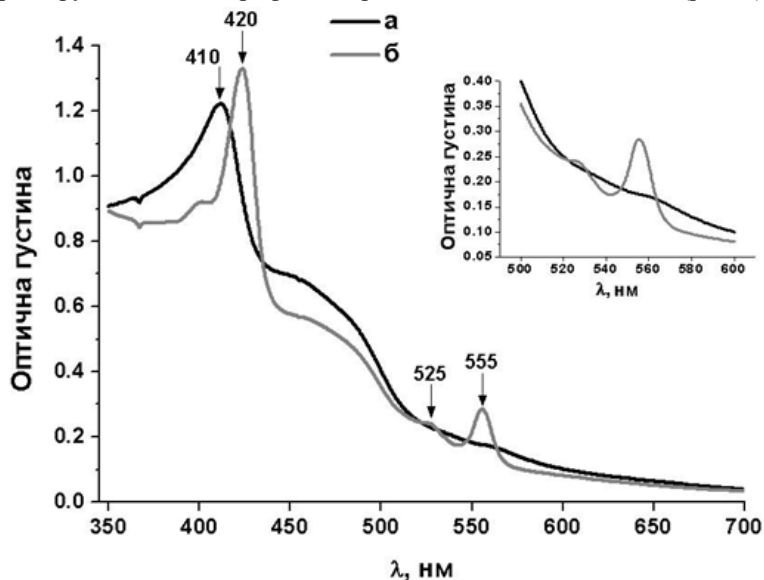


Рис. 5. Спектри поглинання ФЦ b_2 вихідної окисленої (а) та відновленої форми (за наявності 0,3 мМ L-лактату) (б)

Як видно зі спектра поглинання окисленої форми ФЦ b_2 , пік Соре (максимум поглинання гему) припадає на 410 нм з коефіцієнтом мілімолярної екстинкції 20,0 мМ⁻¹·см⁻¹ (з урахуванням молекулярної маси субодиниці 79 кДа). У разі відновленої форми ферменту максимум поглинання гемової групи трохи зміщується до 420 нм з коефіцієнтом мілімолярної екстинкції 21,9 мМ⁻¹·см⁻¹, а піки в ділянці 525 та 555 нм є близькими до максимумів поглинання флавінових груп, описаних у літературі для флавоцитохромів b_2 [11]. Окрім того, чіткий пік Соре свідчить про високу чистоту очищеного препарату ФЦ b_2 .

Пошук стабілізуючих компонентів і оптимізація умов зберігання очищених препаратів ферменту

У процесі тестування потенційних стабілізуючих компонентів для зберігання ферменту, препарат очищеного ФЦ b_2 із активністю 20 Од·мл⁻¹, що містив 25 мМ Тріс-ФБ, рН 8,5, 1 мМ ЕДТА та 1 мМ ФМСФ, інкубували за наявності низки органічних і неорганічних речовин: 40 % гліцеролу, 40 % сахарози та 70 % сульфату амонію. Як контроль за аналізу стабілізуючого впливу різних речовин використовували препарат ФЦ b_2 без додавання жодних стабілізаторів (рис. 6).

Найкращий стабілізуючий ефект спостерігали за використання 70 % амонію сульфату (рис. 6). Проте навіть за його використання, активність очищеного препарату на сімнадцяту добу зберігання знижувалася в 1,25 разу (до 16 Од·мл⁻¹), що свідчить про необхідність проведення подальших досліджень із пошуку оптимальних стабілізаторів ферменту.

Залежність активності очищеного препарату ФЦ b_2 від температур зберігання представлено на рис. 7.

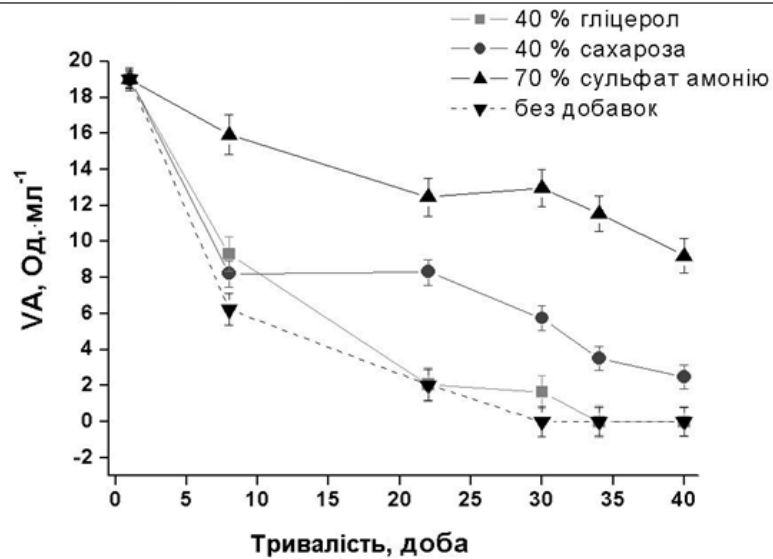


Рис. 6. Питома об'ємна активність препаратів очищеного ФЦ b_2 ($VA = 20$ Од·мл⁻¹) за використання низки стабілізуючих агентів: 40 % гліцеролу; 40 % сахарози; 70 % амонію сульфату. Умови зберігання: 25 мМ Трис-ФБ, рН 8,5; 1 мМ ЕДТА; 1 мМ ФМСФ та один зі стабілізуючих агентів за 4 °С у щільно закритих світлонепроникних пробірках

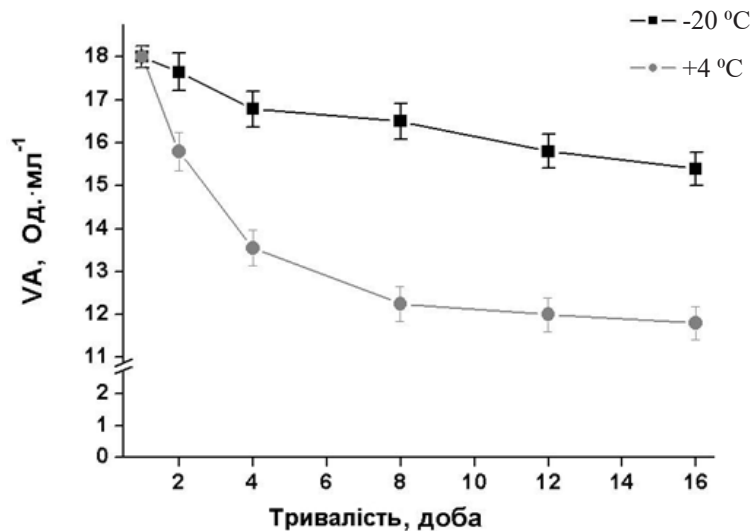


Рис. 7. Залежність питомої об'ємної активності очищеного препарату ФЦ b_2 ($VA = 20$ Од·мл⁻¹) за різних температурних режимів зберігання. Умови зберігання: 25 мМ Трис-ФБ, рН 8,5; 1 мМ ЕДТА; 1 мМ ФМСФ у 70 % амонію сульфаті в щільно закритих світлонепроникних пробірках за 4 °С (а) та -20 °С (б)

Отримані результати свідчать, що за використання як стабілізуючого агента 70 % амонію сульфату оптимальною температурою для зберігання є -20 °С. Так, на шістнадцяту добу зберігання препарату ФЦ b_2 із VA 20 Од·мл⁻¹ за температури -20 °С активність ферменту становила 16,0 Од·мл⁻¹, що відповідає 80 % від його вихідної активності. У разі

зберігання препарату за температури 4 °С протягом шістнадцяти діб активність ФЦ b_2 становила 12,0 Од·мл⁻¹, що відповідає 60 % від вихідної активності препарату (рис. 7).

Отже, в результаті роботи опрацьовано схему виділення флавоцитохрому b_2 із клітин рекомбінантного штаму-продуцента *Ogataea (Hansenula) polymorpha* «tr1» із використанням різних детергентів. Розроблено новий метод очищення ФЦ b_2 із клітин метилотрофних дріжджів *O. polymorpha* на основі афінної хроматографії на іммобілізованому цитохромі *c*. Охарактеризовано фізико-хімічні властивості отриманих препаратів ферментів. Оптимізовано умови стабілізації очищеного препарату ФЦ b_2 .

Автори вдячні к. х. н. Г. Гайді за консультування у приготуванні амінопропілсурохрому. Роботу виконано за фінансової підтримки МОН України у межах проектів #0118U000297 та #0116U004737.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Остапченко Л. І., Михайлик І. В. Біологічні мембрани: методи дослідження структури та функцій: навч. посібник. К.: ВПЦ «Київський університет», 2006. 215 с.
2. Стасюк Н., Гаїда Г., Гаїда А. та ін. Синтез афінних сорбентів для очищення аргінази І людини із рекомбінантних дріжджів *Hansenula polymorpha* // Праці НТШ. Сер. Хемія і Біохемія. 2011. Т. 28. С. 139–149.
3. Ackland M. R., Reeder J. E. A rapid chemical spot test for the detection of lactic acid as an indicator of microbial spoilage in preserved foods // Appl. Bacteriol. 1984. Vol. 56. N 3. P. 415–419.
4. Appleby C., Morton R. Lactic dehydrogenase and cytochrome b_2 from yeast. Purification and crystallization // Biochem. J. 1959. Vol. 71. P. 492–499.
5. Bleiberg B., Steinberg J., Katz S. et al. Determination of plasma lactic acid concentration and specific activity using high-performance liquid chromatography // J. Chromatogr. 1991. Vol. 568. N 2. P. 301–308.
6. Celerier J., Risler Y., Schwenke J. Isolation of the flavodehydrogenase domain of *Hansenula anomala* flavocytochrome b_2 after mild proteolysis by an *H. anomala* proteinase // Eur. J. Biochem. 1989. Vol. 182. N 1. P. 67–75.
7. Crawford S., Hoogeveen R., Brancati F. et al. Association of blood lactate with type 2 diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities Carotid MRI Study // Int. J. Epidemiol. 2010. Vol. 39. N 6. P. 1647–1655.
8. Dmytruk K., Smutok O., Gonchar M., Sibirnyĭ A. Construction of flavocytochrome b_2 -overproducing strains of the thermotolerant methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* (*Pichia angusta*) // Microbiology (Moscow). 2008. Vol. 77. N 2. P. 213–218.
9. Gaida G. Z., Stel'mashchuk S. Ya., Smutok O. V., Gonchar M. V. A new method of visualization of the enzymatic activity of flavocytochrome b_2 in electrophoretograms // Appl. Biochem. Microbiol. (Moscow). 2003. Vol. 39. N 2. P. 221–223.
10. Ichai C., Leverve X., Orban J.-Ch. Lactate and Acute Heart Failure Syndrome / in the Book Acute Heart Failure (Springer publishing. ISBN: 978-1-84628-781-7). 2008. P. 768–780.
11. Jacq C., Lederer F. Two molecular species of cytochrome b_2 from *Saccharomyces cerevisiae* // Eur. J. Biochem. 1972. Vol. 25. N 1. P. 41–48.
12. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. P. 265–275.
13. Smutok O., Dmytruk K., Gonchar M. et al. Permeabilized cells of flavocytochrome b_2 overproducing recombinant yeast *Hansenula polymorpha* as biological recognition element in amperometric lactate biosensors // Biosens. Bioelectron. 2007. Vol. 23. N 5. P. 99–605.

14. *Shavlovskiy G. M., Zharova V. P., Shchelokova I. F.* et al. Flavinogenic activity of natural strains of the yeast // *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 1978. Vol. 14. N 2. P. 184–189.

Стаття: надійшла до редакції 29.01.18

доопрацьована 21.02.18

прийнята до друку 27.02.18

**ISOLATION, PURIFICATION, STABILIZATION AND CHARACTERISATION
OF FLAVOCYTOCHROME b_2 FROM OVERPRODUCING CELLS OF *OGATAEA
POLYMORPHA* “tr1” (*gcr1 catX CYB2*)**

O. Smutok*, M. Karkovska, N. Stasyuk, M. Gonchar

*Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine
14/16, Drahomanov St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: smutok.oleg.2015@gmail.com*

A new method of isolation, purification, and stabilization of L-lactate: cytochrome c oxidoreductase (EC 1.1.2.3; flavocytochrome b_2 , FC b_2) from the cells of recombinant yeast *Ogataea (Hansenula) polymorpha* “tr1” (*gcr1 catX CYB2*) has been developed and physico-chemical characterisation of purified preparations has been done. The strain is characterized by impairment of glucose catabolic repression and a five-fold overproduction of FC b_2 , compared to a parent wild-type strain. The effect of several detergents on the yield of membrane-incorporated FC b_2 was studied and the enzyme isolation procedure has been optimized. A new method of affinity chromatography for purification of FC b_2 , based on the use of cytochrome c as a natural ligand, immobilized on aminopropyl silochrome, has been developed. The efficiency of the developed affinity chromatography was compared to ion exchange chromatography on DEAE-Toyopearl 650M cellulose. The specific activity of FC b_2 preparations for both types of chromatography was about $10 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ and enzyme yield was in the range of 75–95 %. The purity of the purified FC b_2 was evaluated by SDS-PAAG electrophoresis under denaturing conditions. The effect of a number of stabilizing agents and storage conditions has been investigated in order to provide the maximum activity of the FC b_2 . The best stabilizing effect was observed using 70 % ammonium sulfate and by storage of the preparation at $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. Some physico-chemical parameters of the purified enzyme from *O. polymorpha* “tr1” cells have been studied (molecular mass and spectral characteristics of oxidized and reduced enzyme forms).

Keywords: L-lactate: cytochrome c oxidoreductase; *Ogataea polymorpha*; overproducing cells; isolation, purification, stabilization of the enzyme

БІОФІЗИКА

УДК: 576+577

**СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ГІСТАМІНУ
ТА ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ**

Н. Гарасим¹, О. Бішко-Москалюк¹, О. Кулачковський¹, М. Луцик², Д. Санагурський¹

*¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

*²Львівський науково-дослідний
експертно-криміналістичний центр МВС України
вул. Конюшинна, 24, Львів 79040, Україна
e-mail: garasymnataly@gmail.com*

Досліджено вплив гіпохлориту натрію та гістаміну, а також одночасну їхню дію на структурні особливості респіраторного відділу легень щурів на 1-шу, 7-му, 14-ту доби досліду і після реабілітаційного періоду (21-ша доба). Встановлено, що введення гістаміну зумовлює дозозалежне зменшення просвіту альвеол, підвищення товщини міжальвеолярних перегородок, спазмування бронхіол, ушкодження мітохондрій, ендоплазматичної сітки, підвищення кількості пероксисом і лізосом. Випоювання шурам гіпохлориту натрію у концентрації 20 мг/л зумовлює дистрофічні зміни клітин легень, розростання сполучної тканини, зменшення площі поперечного перерізу альвеол упродовж усього часу дії цієї сполуки, тоді як випоювання гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л призводить до менш виражених патологічних змін. За одночасного підшкірного введення гістаміну і випоювання гіпохлориту натрію відбувається гідропічна дистрофія внаслідок ушкодження структур ендоплазматичної сітки і мітохондрій, спазмування бронхіол, підвищення утворення сурфактанту, розростання сполучної тканини. Ці зміни є менше вираженими за одночасної дії гіпохлориту натрію у концентрації 5 мг/л і гістаміну в дозі 8 мкг/кг.

Ключові слова: гістамін, гіпохлорит натрію, легені, морфометрія

За останні кілька десятиліть поширення набули такі захворювання як алергічна астма, риніт, кон'юнктивіт, харчова алергія й анафілаксія. Системна анафілаксія зумовлює найбільшу смертність серед них. Приблизно 300 мільйонів людей страждають від астми в усьому світі. Всесвітня організація охорони здоров'я підрахувала, що смертність в усьому світі через астму щорічно сягає більше 180 000 осіб. Астма розвивається у всіх вікових групах. Патогенез переважно включає запалення дихальних шляхів, що, у свою чергу, впливає на чутливість їхніх нервових закінчень і призводить до подразнення, задишки та хрипів. Екологічні агенти (сірководень, вуглеводні, викиди заводів із виробництва кормів для тварин та ін.), які в нормі є нешкідливими, виступають причиною цього захворювання. Астма, алергічний риніт, atopічний дерматит і харчова алергія належать до гіперчутливості I типу. Багато типів клітин, які беруть участь у запальних процесах, такі як Т-хелпери 2 типу, тканинні базофіли, В-клітини, еозинофіли та низка лейкоцитів і цитокіни, беруть участь у гіперчутливості I типу. Алергени активують В-клітини для утворення антитіл, імуноглобулінів Е та G. Зв'язування IgE з високоафінним рецептором IgE (FcεR1) на поверхні тканинних базофілів і базофільних тригерах активації тканинних базофілів зумовлює вивільнення запальних медіаторів, таких як гістаміну та біологічно активних ліпідів, у тому числі ейкозаноїдів, фактора активації тромбоцитів, численних прозапальних цитокі-

нів, які є важливими в патогенезі алергічних захворювань і анафілаксії [6, 10, 23]. Секреція хемокінів, із тканинних базофілів, ініціює реакцію пізньої фази, яка сприяє проникненню лейкоцитів в уражені патогенними мікроорганізмами та шкідливими речовинами тканини. Кортикостероїди, антигістамінні препарати і стабілізатори мембран тканинних базофілів зазвичай використовуються під час лікування гіперчутливості I типу. Ці препарати є протизапальними або запобігають активації клітин, які беруть участь у запальних процесах, а отже, блокують дію медіаторів запалення. Хоча ці препарати корисні у лікуванні підвищеної чутливості I типу, вони можуть мати побічні ефекти за тривалого застосування. Наприклад, пероральні кортикостероїди викликають загальну імуносупресію, подразнення шкіри, синдром Кушинга. Навіть антигістамінні препарати нового покоління не повністю позбавлені седативних властивостей. Тому нові антиастматичні агенти, які ефективні в ранню та пізню фази з хорошою переносимістю за тривалого застосування, як і раніше, є життєво важливою необхідністю [23]. Поряд із негативною дією гістаміну, є повідомлення, що лактобактерії *Lactobacillus Reuteri* 6475 (Lr) людської мікробіоти синтезують гістамін і можуть пригнічувати запалення через активацію 2-го типу рецепторів до гістаміну (H2) в кишечнику ссавців. Мікроорганізми кишечника, такі як *Lactobacillus Reuteri* 6475, сприяють передачі сигналу від H2-рецепторів і можуть пригнічувати H1-рецептори до гістаміну, прозапальні сигнальні шляхи, проте механізм цей невідомий [16].

У медицині як дезінтоксикант використовують гіпохлорит натрію (ГХН). Так, застосування ГХН у комплексному лікуванні алкогольного абстинентного синдрому в соматогенній стадії гострих отруєнь етанолом супроводжується більш інтенсивною корекцією показників гомеостазу, а також значним зниженням вираженого ендотоксикозу, що сприяє підвищенню ефективності детоксикації організму і проявляється у суттєвому покращенні результатів лікування [5]. Його використовують у комплексі з перманганатом калію і морською сіллю для купання новонароджених дітей, щоб інгібувати діяльність бактерій, зниження свербіння і посилення десквамації [6]. Цю речовину офіційно застосовують для знезараження водопровідної води [18]. Є відомості, що ГХН знижує вміст гістаміну в крові людей за важких отруєнь психофармакологічними речовинами [12]. Відомо також, що гістамін легко піддається окисненню, тоді як ГХН виступає потужним оксидантом. Тому можна припустити, що введення в організм ГХН буде знешкоджувати гістамін (проявляти антигістамінну дію) і таким чином запобігати негативному його впливу на тканини. Важливо зазначити, що гістаминаза знешкоджує гістамін (шляхом окиснювального дезамінування) до NH_3 , аміноальдегіду та пероксиду водню. У свою чергу, аміноальдегід за допомогою альдегіддегідрогеназ окиснюється до органічних кислот. Власне, такі органічні кислоти утворюються під час взаємодії ГХН із гістаміном. У науковій літературі немає досліджень, які би підтвердили дію ГХН як антигістамінного чинника. Враховуючи те, що ГХН може потрапляти в організм як дезінтоксикант під час лікування, під час вживання водопровідної води, а також те, що з кожним роком зростає кількість людей із алергічними проявами, де провідну роль відіграє гістамін (що викидається у кров'яне русло), важливо вивчити незалежну дію цих двох речовин і їхній поєднаний вплив на тканини легень, оскільки відомо, що вони особливо чутливі до дії гістаміну. Відомо, що гладенькі м'язи бронхів на своїй поверхні містять специфічні рецептори до гістаміну, активація яких зумовлює їхній спазм. Актуальності таким дослідженням додає той факт, що підвищена концентрація гістаміну у крові може з'явитись у людей після вживання їжі з високим його вмістом, що призводить до інтоксикації [17]. Мета – вивчити незалежний вплив гістаміну (за його вмісту, вищого від фізіологічного) і ГХН, а також одночасну дію цих двох речовин на структуру тканин легень шурів, і встановити безпечність застосування ГХН у медицині

як імовірного антигістамінного чинника, а також як дезінтоксиканта на фоні надмірного вивільнення гістаміну у кровоплин.

Матеріали та методи

Дослід проводили на білих нелінійних щурах-самцях. Маса тварин була в межах 180–220 г. Експеримент тривав 21 добу. Перша група тварин слугувала контролем. Тваринам другої та третьої груп упродовж 14-ти днів підшкірно вводили розчини гістаміну в дозі 1 та 8 мкг/кг, відповідно (розчини гістаміну готували з гістаміну дигідрохлориду). Дози гістаміну є такими, які зумовлюють патологічні прояви в експериментальних умовах [8]. Четвертій групі тварин одночасно вводили гістамін концентрацією 1 мкг/кг і ГХН у концентрації 5 мг/л питної води. П'ятій групі одночасно вводили гістамін у концентрації 1 мкг/кг та ГХН концентрацією 20 мг/л питної води. Шостій і сьомій групам щурів одночасно підшкірно вводили гістамін (концентрацією 8 мкг/кг) і вipoювали ГХН концентрацією 5 та 20 мг/л, відповідно. Щоб виявити вплив ГХН на структурні параметри клітин інтактних щурів, ми сформували ще восьму та дев'яту групи, де тваринам вipoювали ГХН у концентраціях 5 і 20 мг/л, відповідно. З 14-ї доби тваринам припиняли підшкірне введення гістаміну та вipoювання ГХН. У період від 14-ї до 21-ї доби досліді щурі перебували на реабілітації.

На 1-шу, 7-му, 14-ту, 21-шу доби досліді по 5 тварин декапітували під легким ефірним наркозом із дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, 1986), та згідно з "Загальними принципами роботи на тваринах", затвердженими І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Відбирали зразки респіраторних відділів правої легені. Тканини фіксували у формаліні (15 %). Виготовляли гістозрізи, які фарбували гематоксилін-еозином. Гістопрепарати вивчали за допомогою мікроскопа МБР-3 на збільшеннях $\times 10$, $\times 40$. Фотографування здійснювали фотокамерою HIGH PERFORMANCE COLOR CCD CAMERA VISION, під'єднаною до мікроскопа МБР-3 і комп'ютера LG (програма OLYMPUS DP-Soft). Отримані зображення тканин легень опрацьовували, використовуючи комп'ютерну програму Image J [9]. За допомогою цієї програми визначали такі показники: а) площа поперечного перерізу альвеол (S), мкм^2 ; б) діаметр просвіту альвеол, мкм ; в) товщина міжальвеолярних перегородок, мкм .

Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням програми „Excel-2010” для Windows. Щоб оцінити достовірність різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних, знаходили коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважалася різниця за показників $p \geq 0,95$, $p \geq 0,99$, $p \geq 0,999$.

Проводили електронно-мікроскопічне дослідження легень щурів 1-ї, 3-ї, 6-ї, 7-ї експериментальних груп на 7-му та 14-ту доби досліді. Для електронної мікроскопії зразки тканин фіксували (протягом 1 год за $t = 4^\circ\text{C}$) 1,5 % розчином глютарового альдегіду в 0,2 М какодилатному буфері (рН 7,2). Після цього зразки промивали какодилатним буфером і додатково фіксували 2 %-вим розчином чотирьохокису осмію в тому ж буфері протягом 1 год ($t = 4^\circ\text{C}$). Препарати відмивали від фіксаторів і зневоднювали у зростаючих концентраціях етилового спирту (50° , 70° , 90° і 100°). Додатково зневоднювали у 2-х змінах окису пропілену і поміщали в епоксидну смолу епон-812. Для виготовлення зрізів використовували ультрамикротом УМТП-6 з алмазним ножом. Ультразрізи контрастували 2 %-вим розчином уранілацетату впродовж 15 хв і додатково цитратом Рb за Рейнольдсом [17]. Зрізи переглядали і фотографували за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа ПЕМ-100 [11, 14].

Результати і їхнє обговорення

Виконавши морфометричний аналіз, встановили, що гістамін у дозах 1 і 8 мкг/кг не спричиняє змін діаметра просвіту альвеол упродовж усього часу його введення. Після реабілітаційного періоду цей показник знижується на 28 % (порівняно з контролем) після підшкірного введення тваринам гістаміну в дозі 1 мкг/кг (див. таблицю). Варто зазначити, що хоча діаметр просвіту альвеол є в межах норми за дії гістаміну, проте площа поперечного перерізу альвеол знижується. Так, за впливу гістаміну в дозі 1 мкг/кг відбувається зниження цього показника на 7-му, 14-ту і 21-шу (реабілітація) доби досліджуваної на 31 %, 32 %, 58 % відповідно. Нами виявлено, що гістамін у вищій досліджуваній дозі вже з першої доби зумовлює зниження площі поперечного перерізу альвеол легень приблизно на 30 %, який повертається до меж контролю після семиденної реабілітації (див. таблицю). Ймовірно, зниження площі поперечного перерізу альвеол (їхнього просвіту) відбувається за рахунок збільшення товщини альвеолярних стінок. Відомо, що в легенях, які піддаються постійному впливу шкідливих сполук, наприклад, у курців з або без емфіземи, відбувається потовщення альвеолярних стінок з істотним відкладенням колагену, що призводить до дифузного потовщення і рубцювання альвеол [13]. Mitsunobu зі співавторами довели, що гістамін бере участь у розвитку atopічної астми [20], за якої ушкоджуються альвеоли, що веде до розвитку дихальної недостатності (порушення обміну газів у легенях). Після введення в організм щурів гістаміну у нижчій концентрації (1 мкг/кг) (після реабілітаційного періоду), ймовірно, розвиваються репараційні зміни, за яких відбувається розростання сполучної тканини і збільшення розмірів міжальвеолярних перегородок, а, відповідно, і зменшення площі поперечного перерізу альвеол. У науковій літературі є повідомлення, що тканинні базофіли, які синтезують гістамін, в альвеолярних стінках за патологічних станів легень через експресію TGF- β , протеаз фібробластів, і вироблення фіброгенних факторів, реніну та VEGF, можуть відігравати важливу роль у репарації тканин легень [13].

Зниження площі поперечного перерізу, що відбувається на тлі нормального показника діаметра просвіту альвеол, ми пояснюємо тим, що просвіт альвеол не є ідеально круглою форми. Тому вплив гістаміну на легені краще віддзеркалює показник площі поперечного перерізу альвеол.

Підшкірні ін'єкції гістаміну зумовлюють також зростання товщини міжальвеолярних перегородок на 7-му та 14-ту доби на 20 %. Цей показник зберігається на такому ж рівні і після реабілітаційного періоду на 21-шу добу за дії гістаміну у дозі 8 мкг/кг (див. таблицю). Відомо, що складовою частиною всіх органів, у тому числі й легень, є сполучна тканина. У легеневій стромі переважають елементи механічного функціонування – колагенові й еластинові волокна. Після пошкодження легень різними фізичними чи хімічними факторами відбувається розростання сполучної тканини в паренхімі легень. У цьому процесі важливого значення набувають фібробласти, що мають високу активність синтезу та гістіоцити, які виконують захисну роль. Фібробласти проліферують у місці пошкодження легень, виробляючи колаген і вуглеводо-білкові макромолекули [1]. Отже, збільшення товщини міжальвеолярних перегородок свідчить про розростання сполучної тканини, що є негативним явищем, оскільки в такому разі знижується альвеолярно-капілярний обмін газів.

Застосовуючи світлову мікроскопію, встановили, що за дії гістаміну в дозі 1 та 8 мкг/кг зростають ділянки респіраторних відділів легень із ознаками ателектазу (спадання альвеол, зменшення їхнього просвіту) (рис. 1, а, б). Поряд із тим, зафіксовано з 7-ї доби досліджуваної значне спазмування бронхіол, периваскулярний набряк унаслідок збільшення проникності судин, застій крові в судинах через порушення реологічних властивостей крові (рис. 1, в).

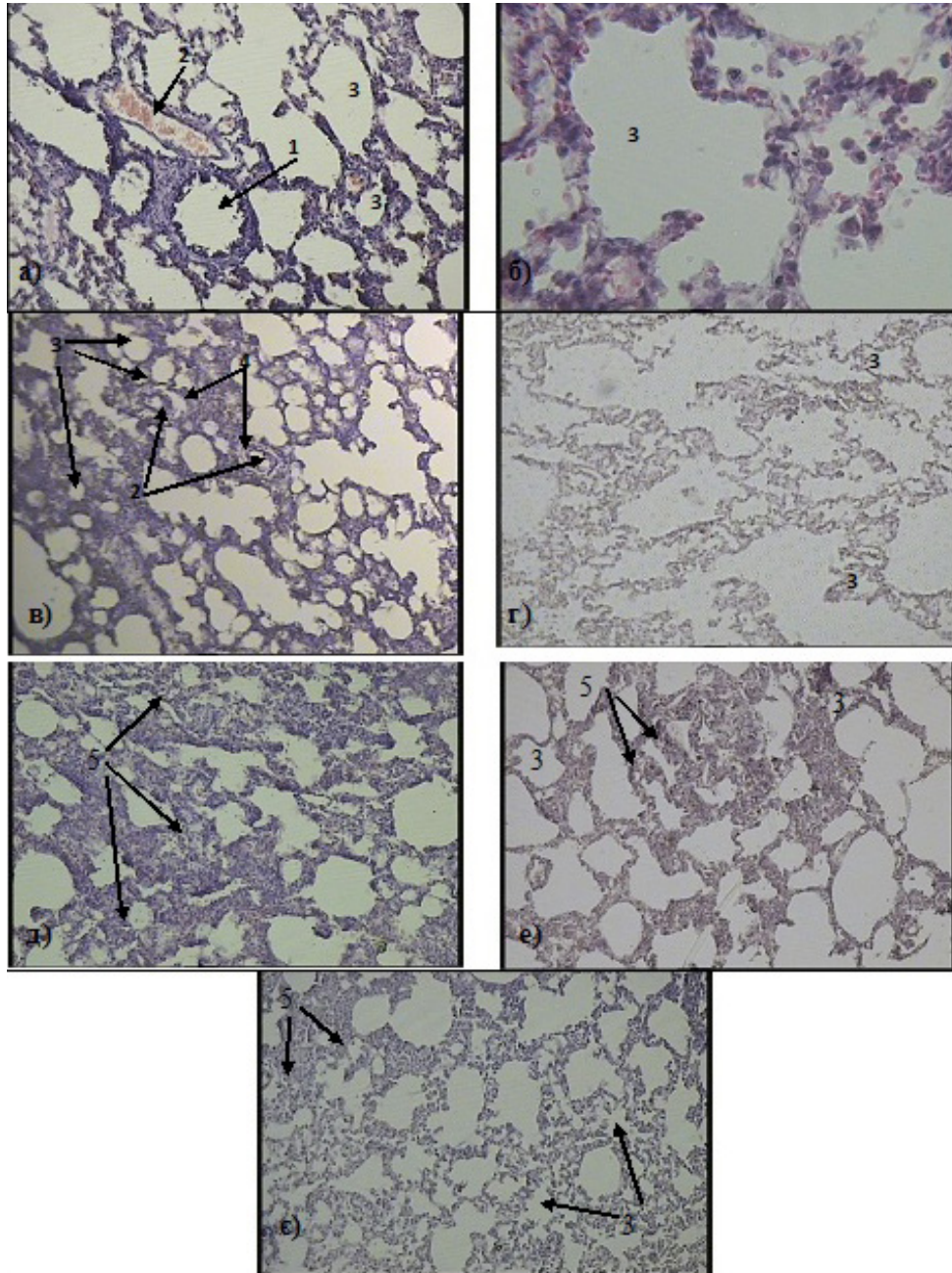


Рис. 1. Респіраторний відділ легень щурів. Фарбування гематоксилін-еозином: а – контроль, 1 доба. Ок. 10, об. 10; б – гістамін, 1 мкг/кг. 1 доба. Ок. 10, об. 40; в – гістамін, 8 мкг/кг. 7 доба. Ок. 10, об. 10; г – гіпохлорит натрію, 5 мг/л. 1 доба. Ок. 10, об. 10; д – гіпохлорит натрію, 5 мг/л. 14 доба. Ок. 10, об. 10; е – гіпохлорит натрію, 20 мг/л. 1 доба. Ок. 10, об. 10; є – гіпохлорит натрію, 20 мг/л. 14 доба. Ок. 10, об. 10. Тут і далі: 1 – бронхіола; 2 – судина; 3 – альвеола; 4 – периваскулярний набряк; 5 – вакуолізація цитоплазми

Ці зміни були прогнозованими, оскільки відомо, що гістамін посилює проникність судин і зумовлює спазм гладеньких м'язів. Із наукової літератури відомо [15], що, діючи на H_1 - та H_2 -рецептори, гістамін індукує вивільнення судинним ендотелієм оксиду азоту, який стимулює гуанілциклазу та підвищує кількість гуанозинмонофосфату в ендотеліальних клітинах судин, унаслідок чого відбувається вазодилатація, еритема, набряк і зростання проникності судин. Вазодилатація посилюється через аксонний рефлекс, унаслідок вивільнення субстанції P через антидромні проведення по аферентних C-волоконках. Спорідненість гістаміну до H_1 -рецепторів у судинах приблизно в 10 разів вища, ніж до H_2 -рецепторів. Діючи через H_1 - та H_2 -рецептори, гістамін також зменшує опір периферичних судин, знижує артеріальний тиск і дає позитивний інотропний ефект. Впливаючи на H_1 -рецептори, гістамін також призводить до скорочення гладкої мускулатури дихальних шляхів, хронотропного ефекту в серці та стимуляції закінчень сенсорних нервів, що спричинює свербіння слизових оболонок і шкіри шляхом стимуляції тонких немієлінізованих C-волокон, які мають низьку швидкість передачі імпульсів та великі площі іннервації. H_1 -рецептори сполучені з G-білками. Ці рецептори демонструють незалежну від агоніста передачу сигналів. H_1 -блокатори гістаміну пригнічують цю конституційну передачу сигналу, імовірно, через стабілізацію неактивної структури H_1 -гістамінового рецептора та діючи як зворотні агоністи [15]. Нами встановлено, що паренхіма легень за впливу гістаміну інтенсивно забарвлена, а це свідчить про ушкодження клітин через підвищення проникності мембран (під час фарбування клітини барвника в неї надходить значно більше). Відбувається збільшення сполучної тканини. Такі типові зміни зберігаються і на 21-шу добу досліду.

За допомогою електронно-мікроскопічних досліджень встановлено, що на 7-му добу дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг у клітинах легень щурів утворюються вакуолоподібні структури дуже низької електронної щільності, що є розширенням ендоплазматичної сітки. У тканинних базофілах легень зростає вміст гранул із ендогенним гістаміном. Збільшується протяжність ділянок із підвищеним вмістом колоїдного розчину глікопротеїнів у гіпофазі сурфактантного комплексу (міститься між мембранною фазою просвіту альвеол і епітеліоцитами) (рис. 2, а, б). У тканинних базофілах, макрофагах, альвеолоцитах значна кількість мітохондрій набубнявілі з електронно-світлим матриксом (рис. 2, а, в). Набрякання мітохондрій відбувається за рахунок руху молекул води в матрикс у процесі збільшення колоїдно-осмотичного тиску всередині неї. Зміни в мітохондріях ведуть до зниження споживання кисню, роз'єднання окисного фосфорилування, зниження здатності накопичувати кальцій. У цитоплазмі клітин міжальвеолярних перегородок трапляються мультивезикулярні тільця за дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг на 7-му добу досліду. Слід зазначити, що всі описані зміни посилюються на 14-ту добу досліду. Поряд із цим, зафіксовано, що у альвеолоцитах другого порядку (великі епітеліоцити), які є більші за альвеолоцити першого порядку, у тканинних базофілах з'являється значна кількість вторинних лізосом і пероксисом. Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що в цей час відбувається підвищення активності каталази, яка, власне і міститься в пероксисомах [2]. У таких клітинах ядра мають високу електронну щільність, у них переважає гетерохроматин, що вказує на їхню знижену функціональну активність (рис. 2, г).

Отже, введення гістаміну в легень щурів призводить до зменшення площі поперечного перерізу альвеол, підвищення товщини міжальвеолярних перегородок. Ці зміни є вираженими на 7-му та 14-ту доби дії біогенного аміну, поряд із якими також відбувається спазмування бронхіол і периваскулярний набряк навколо судин. Гістамін у вищій дозі зумовлює більш виражені зміни морфометричних показників, починаючи з першої доби досліду. Альтерація клітин респіраторного відділу легень супроводжується набряканням

мітохондрій, утворенням вакуолоподібної ендоплазматичної сітки, підвищенням кількості пероксисом і лізосом, із домінуванням на 14-ту добу дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг.

Площа поперечного перерізу альвеол,
товщина міжальвеолярних перегородок і діаметр просвіту альвеол
у легенях щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію

	№ групи	Площа поперечного перерізу альвеол, мкм ² , M±m	p	Товщина міжальвеолярних перегородок, мкм, M±m	p	Діаметр просвіту альвеол, мкм, M±m	p
1 доба	Контроль	1051,5±62,5		7,3±0,2		27,04±0,8	
	Гістамін, 1 мкг/кг	879,4±177,7	0,6	7,1±0,3	0,49	27,5±1,9	0,16
	Гістамін, 8 мкг/кг	756,4±95,5	*	7,3±0,3	0,2	27,8±1,9	0,26
	ГХН, 5 мг/л	743,9±89,7	*	8,4±0,9	0,63	25,9±2,4	0,3
	ГХН, 20 мг/л	599,1±104,2	**	8,7±0,5	*	24,5±2,4	0,64
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	1212,4±193,5	0,54	10,6±1,2	*	33,4±2,7	0,93
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	1081,2±117,3	0,17	9,2±0,4	**	33,3±2,5	0,94
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	884,4±171,3	0,6	8,2±0,5	0,87	29,3±2,8	0,53
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	673,3±246,3	0,8	10,4±0,7	**	23,6±5,8	0,42
7 доба	Контроль	992,5±75,9		7,24±0,4		27,6±0,8	
	Гістамін, 1 мкг/кг	685,2±73,4	*	8,7±0,4	*	25,2±1,7	0,75
	Гістамін, 8 мкг/кг	612,9±120,2	*	8,7±0,3	*	25,3±1,4	0,8
	ГХН, 5 мг/л	1399,8±325,4	0,71	7,8±0,6	0,55	36,8±4,9	0,87
	ГХН, 20 мг/л	696,7±138,1	0,89	9,5±0,4	**	23,9±3,3	0,66
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	548,6±51,7	**	10,4±0,5	***	21,9±0,9	**
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	955,2±168,9	0,15	10,7±0,9	*	29,5±2,9	0,44
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	868,2±147,3	0,52	10,3±0,6	**	31,4±2,7	0,77
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	1272,7±358,2	0,51	10,9±0,7	**	33,7±4,8	0,72
14 доба	Контроль	982,9±34,7		7,1±0,3		27,1±0,4	
	Гістамін, 1 мкг/кг	667,7±112,2	*	8,3±0,3	*	25,7±2,7	0,36
	Гістамін, 8 мкг/кг	599,8±127,9	*	8,4±0,4	*	25,2±2,8	0,45
	ГХН, 5 мг/л	1143±252,5	0,44	8,5±0,3	*	34,4±4,2	0,84
	ГХН, 20 мг/л	729,4±170,9	0,78	10,8±0,9	*	26,2±2,6	0,25
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	917,8±180,6	0,26	11,5±0,9	**	28,1±2,8	0,26
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	543,9±49,5	***	9,9±0,9	*	23,2±1,001	*
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	720,8±169,5	0,8	8,6±1,04	0,75	26,3±3,7	0,15
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	655,4±62,9	**	11,1±0,5	***	25,2±1,9	0,6
21 доба	Контроль	1063,6±103,9		7,2±0,4		28,9±1,6	
	Гістамін, 1 мкг/кг	449,3±89,9	**	8,7±0,6	0,94	20,9±2,1	*
	Гістамін, 8 мкг/кг	679,1±171,9	0,9	8,8±0,6	*	24,2±3,1	0,78
	ГХН, 5 мг/л	854,5±173,8	0,66	9,7±0,7	*	26,7±1,5	0,65
	ГХН, 20 мг/л	542,4±27,9	**	10,2±0,4	***	25,4±1,7	0,83
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	931,3±94,1	0,63	10,8±1,3	*	23,6±0,8	*
	Гістамін, 1 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	751,4±133,3	0,9	10,2±0,8	*	22,7±0,9	*
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 5 мг/л	663,5±60,3	*	10,9±1,5	0,93	25,3±2,03	0,8
	Гістамін, 8 мкг/кг+ГХН, 20 мг/л	814,9±50,3	0,93	10,5±0,5	***	26,04±1,6	0,77

Випоювання інтактним щурам ГХН у концентрації 5 і 20 мг/л не чинить змін діаметра поперечного перерізу альвеол у легенях, проте зумовлює зниження площі поперечного перерізу альвеол на 29 і 43 %, відповідно, на 1-шу добу, після чого показник повертається

до меж норми. Після реабілітаційного періоду площа поперечного перерізу альвеол зменшується лише після випоювання тваринам ГХН у концентрації 20 мг/л на 49 % (див. таблицю). ГХН у концентрації 20 мг/л у легенях щурів спричиняє зростання товщини міжальвеолярних перегородок упродовж усього часу його введення в організм (1-ша доба – на 21 %, 7-ма – на 32 %, 14-та – на 52 %), а також і після реабілітаційного періоду (на 42 %). ГХН у нижчій досліджуваній концентрації веде до достовірного зростання цього показника лише на 14-ту та 21-шу (реабілітація) доби досліджу на 19 і 35 %, відповідно (див. таблицю). Ступінь негативної дії ГХН залежить від тривалості випоювання ГХН.

Проаналізувавши фотографії гістопрепаратів легень за дії ГХН у концентрації 5 мг/л, ми встановили, що на 1-шу добу досліджу клітини погано сприймають барвник, альвеоли спалі (рис. 1, г), проте вже на 7-му добу досліджу зростає кількість клітин, які мають у ядрах по два ядерця, розширюються альвеолярні ходи, хоча починає збільшуватися кількість сполучної тканини між ними, клітини яскраво зафарбовані, добре помітні ядра великих розмірів із ядерцями. Уже на 14-ту добу досліджу в багатьох клітинах легень є ядра великого розміру з багатьма ядерцями, проте цитоплазма не всіх клітин добре профарбовується по всій площині, що свідчить про її вакуолізацію (рис. 1, д). Хоча в цей час альвеоли мають великі розміри (у нормі), проте міжальвеолярні перегородки є збільшеними, що підтверджується морфометричним аналізом. Такі зміни тканинам легень притаманні і після реабілітаційного періоду.

ГХН у концентрації 20 мг/л, поряд зі змінами, які зафіксовані морфометрично (зменшення площі поперечного перерізу альвеол, зростання товщини міжальвеолярних перегородок) упродовж досліджу, веде до зниження сприйняття клітинами барвника та вакуолізації клітин, проте їхні ядра не містять збільшеної кількості ядерців (рис. 1, е, е). За впливу цього чинника виявлено периваскулярний набряк навколо судин.

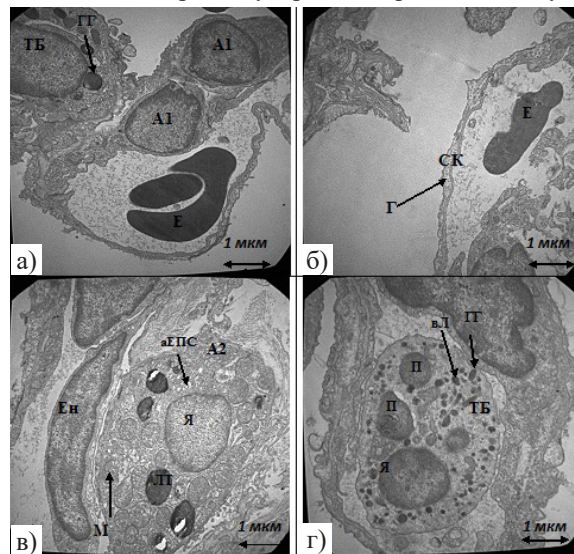


Рис. 2. Електронна мікрофотографія клітин респіраторного відділу легень щура: а – контроль, 7 доба. Зб. 20 000; б – гістамін, 8 мкг/кг, 7 доба. Зб. 20 000; в – гістамін, 8 мкг/кг, 7 доба. Зб. 22 000; г – гістамін, 8 мкг/кг, 14 доба. Зб. 20 000. Тут і далі: А1 – альвеолоцит 1-го типу; А2 – альвеолоцит 2-го типу; Ен – ендотеліоцит; ТБ – тканинний базофіл; ГГ – гранули з гістаміном та іншими біологічно активними речовинами; СК – сурфактантний комплекс; Г – гілофаза; Е – еритроцит; М – мітохондрія; аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка; вЛ – вторинна лізосома; П – пероксисома; Я – ядро; ЛТ – ламелярні тілця

Отже, ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює менш виражені патологічні прояви, які більшою мірою виявляються на 14-ту і 21-шу (реабілітація) доби досліджу. ГХН у концентрації 20 мг/л веде до дистрофічних змін, розростання сполучної тканини впродовж усього часу дії цієї сполуки на організм щурів, патологічні прояви не нівелюються навіть після реабілітаційного періоду.

Відомо, що фармакологічна активність ГХН зумовлена киснем, який вступає в реакцію з токсинами. Аналогічну функцію в організмі виконують ферменти мієлопероксидази цитохрому Р-450. Вони каталізують реакції гідроокислювання, в яких RН гідроокислюється до R-ОН за рахунок одного з атомів кисню, тоді як другий атом кисню відновлюється до H₂O. Ці реакції активно проявляються, коли до організму потрапляють сторонні речовини, які погано розчиняються у воді. В результаті гідроокислювання розчинність таких сполук підвищується, що сприяє їхній дезінтоксикації і виведенню з організму. Виходячи з вищесказаного, механізм дії розчину ГХН полягає в тому, що в організмі він вивільняє активний кисень, окиснюючи наявні там токсичні речовини, причому окиснення ксенобіотиків приводить до утворення кінцевого продукту, аналогічного тому, який отримують з участю цитохрому Р-450 [3]. Ймовірно, що за відсутності в організмі шкідливих сполук ГХН у вищих концентраціях починає взаємодіяти з ненасиченими жирними кислотами, компонентами мембран, що і зумовлює такі негативні явища у легенях щурів. Це підтверджується попередніми нашими дослідженнями, за якими встановлено підвищення вмісту первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (гідропероксидів і малонового діальдегіду) у легенях щурів за дії ГХН [2]. Потрібно зазначити, що легені, зокрема, альвеоли (які містять сурфактант), є багатими на ліпіди, які, власне, піддаються окисненню різними оксидантами. У науковій праці Van Den Broucke показано, що у мишей вдихання подразників, таких як хлор і похідні хлору (гіпохлориту ОСІ⁻), викликає побічні ефекти дихання, включаючи астму [25]. Калпротектин забезпечує харчовий імунітет. Його вміст є високим у легенях пацієнтів із муковісцидозом, проте він не дає змоги запобігти їхньому повторному інфікуванню. Авторами встановлено, що на здатність кальпротектину обмежувати ріст *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* значно впливає гіпохлоритна кислота, яка його окиснює. А відомо, що гіпохлоритна кислота утворюється в мієлопероксидазній реакції для захисту організму від бактерій [19]. Не виключено, що ГХН реагує з водою, в результаті чого утворюється гіпохлоритна кислота, яка разом із гіпохлоритом і активним киснем виявляє окисдазивну дію на компоненти тканин легень щурів.

Нами встановлено, що поєднаний вплив ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг не зумовлює змін діаметра та площі поперечного перерізу альвеол щурів упродовж 14-ти діб, хоча на 7-му добу досліджу за допомогою морфометричного аналізу встановлено зростання товщини міжальвеолярних перегородок на 43 % (див. таблицю). Після семиденної реабілітації знижується лише площа поперечного перерізу альвеол на 38 %. Випоювання тваринам ГХН у концентрації 5 мг/л на фоні дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг зумовлює більш виражені структурні зміни у легенях. Так, відбувається зростання товщини міжальвеолярних перегородок упродовж усього часу експерименту приблизно на 50 %, а також на 7-му добу зниження діаметра і площі поперечного перерізу альвеол легень (рис. 3, б), на 21-шу – зниження діаметра просвіту альвеол. Аналізуючи гістопрепарати під світловим мікроскопом за впливу ГХН у концентрації 5 мг/л і одночасної дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг, ми виявили велику кількість еритроцитів у тканинах легень на 1-шу добу досліджу (рис. 3, а), що свідчить про зростання проникності судин. Клітини добре сприймають барвник. На «соковитій» цитоплазмі добре проглядається ядра переважно з двома ядрцями. Проте вже в цей час у цитоплазмі окремих клітин виявлено гідропічну

дистрофію (рис. 3, а). З 7-ї доби у тканинах легень клітини значно перефарбовуються, що свідчить про порушення проникності мембран. Виявлено значне спазмування бронхіол і накопичення сурфактанту в альвеолах (рис. 3, в). На фоні позитивної динаміки показників морфометричного аналізу за дії ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг ми виявили інтенсивне сприймання барвника клітинами з ознаками вакуолізації вже на 1-шу добу досліду. З 14-ї доби наявна також підвищена кількість еритроцитів у капілярах легень (рис. 3, г). Проте нами не виявлено вираженого спазмування бронхіол у респіраторному відділі легень за дії ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг.

Електронно-мікроскопічні дослідження дали змогу виявити за дії ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг поодинокі розширення цистерн ендоплазматичного ретикулуму, комплексу Гольджі у макрофагах тканин респіраторного відділу легень на 7-му добу досліду (рис. 4, а). Клітини середньої електронної щільності, як і у контролі. Чітко виражені контури клітин, отже, плазматична мембрана не ушкоджена. По периферії ядер розташовується конденсований хроматин. У сурфактантному комплексі розширюється гіпофаза зі зростанням рідкого колоїдного розчину глікопротеїнів (рис. 4, б). У тканинних базофілах, альвеолоцитах 2-го типу легень виявлено значне розширення гранулярної ендоплазматичної сітки із її фрагментацією, внаслідок чого утворюються дрібні вакуолі у цитоплазмі. Мітохондрії цих клітин зазнають змін. Так, матрикс мітохондрій має низьку електронну щільність, подекуди із фрагментацією крист. Наявні піноцитозні пухирці (рис. 4, в) та збільшуються кількість і розміри гранул з гістаміном. Такі зміни притаманні тканинам респіраторного відділу легень і на 14-ту добу досліду.

Вивчаючи вплив ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну (1 та 8 мкг/кг), ми встановили зниження площі поперечного перерізу альвеол на 14-ту добу (приблизно на 40 %) та зниження діаметра просвіту альвеол як на 14-ту, так і на 21-шу доби досліду (на тлі дії нижчої дози гістаміну). Беручи до уваги товщину міжальвеолярних перегородок, треба засвідчити зростання цього показника за впливу ГХН (20 мг/л) і одночасної дії гістаміну обох досліджуваних доз упродовж усього досліду (табл. 1, рис. 3, д, е), що свідчить про розростання сполучної тканини. Встановлено, що клітини легень респіраторного відділу легень шурів, за одночасної дії ГХН (20 мг/л) і гістаміну в дозі 1 і 8 мкг/кг, інтенсивно сприймають барвник, оптично непрозорі, значна кількість ядер пікнотичні, виявлено спазмування бронхіол (рис. 3, д, е).

На ультраструктурному рівні ми встановили, що на 7-му добу дії ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг відбуваються структурні зміни в мітохондріях, які супроводжуються електронно-світлим матриксом, розширенням цистерн ендоплазматичної сітки, а альвеолоцити другого типу містять велику кількість ламелярних тілець (котрі мають фосфоліпиди й інші речовини, з яких у подальшому формується сурфактант). Ядра клітин легень позбавлені ядерця, проте хроматин дифузний. Клітини містять мультивезикулярні тілця (рис. 5, а). Такі зміни залишаються і на 14-ту добу досліду із посиленням розширення цистерн ендоплазматичної сітки. В цей час у клітинах переважає агранулярна ендоплазматична сітка (рис. 5, б).

Відомо, що у функціонуванні легень беруть участь дві основні системи – повітряно-носні та кровеносні шляхи, що структурно поєднуються інтерстиціальною стромою, яка пролягає по всій легені й об'єднує різні її частини. Сполучна тканина, як вже зазначалося, відіграє одну з провідних ролей у легенях. Вона зумовлює передачу рухів повітряного насоса, що характерно для дихального органа, є підтримкою двох інших систем, необхідних для регуляції респіраторної функції: лімфи та нервових зв'язків, слугує бар'єром між відділами легень, забезпечуючи таким чином метаболічний зв'язок між різними клітинами

легеневої паренхіми. Для цих клітин вона є основним мікрооточенням. У легеневій стромі переважають елементи механічного функціонування – колагенові й еластичні волокна. Під час запалення, крім процесів розпаду, що характеризуються розщепленням вуглеводів, жирів, білків, деполімеризацією білково-полісахаридних комплексів і появою недоокиснених продуктів обміну речовин, починають посилюватися і процеси синтезу. В цьому процесі важливого значення набувають фібробласти, клітини сполучної тканини, що мають високу активність синтезу, та гістіоцити, які виконують захисну роль [4]. Тому розростання сполучної тканини у легенях щурів за впливу гістаміну і ГХН є важливим патогенетичним фактором, що свідчить про наявність запальних процесів.

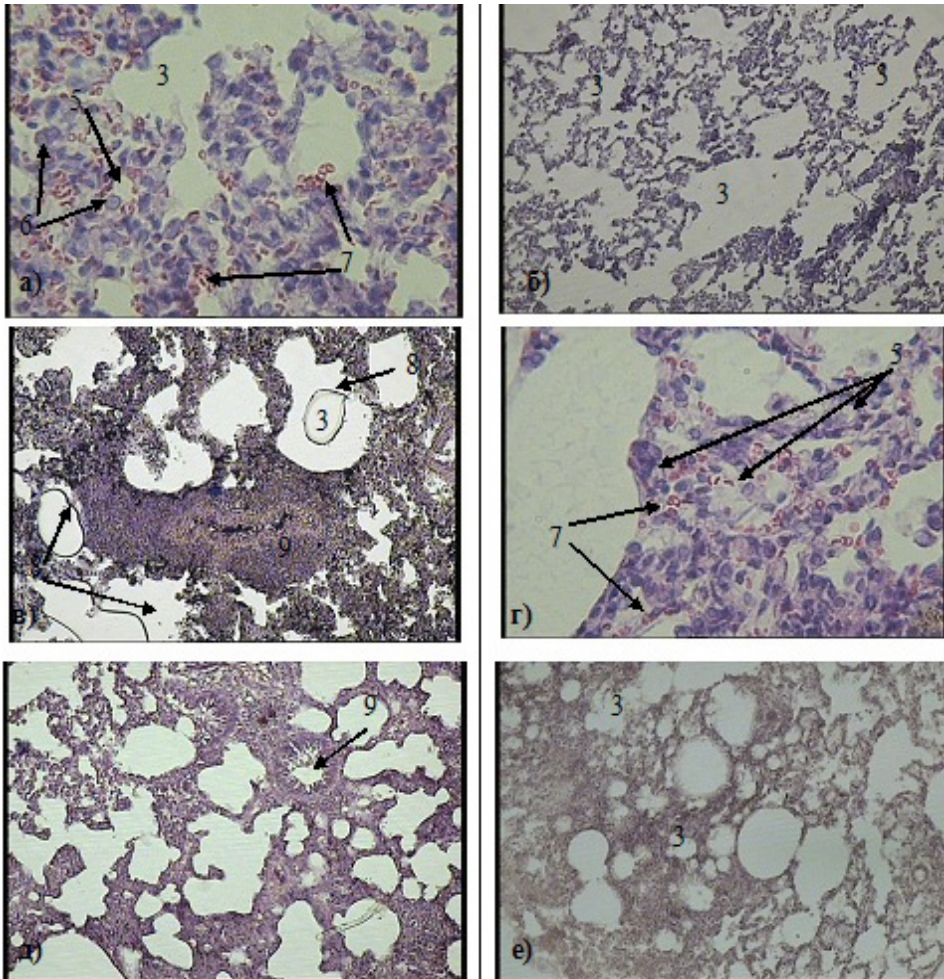


Рис. 3. Респіраторний відділ легень щурів. Фарбування гематоксилін-еозином: а – гіпохлорит натрію, 5 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг. 1 доба. Ок. 10, об. 40; б – гіпохлорит натрію, 5 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг. 7 доба. Ок. 10, об. 10; в – гіпохлорит натрію, 5 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг. 14 доба. Ок. 10, об. 10; г – гіпохлорит натрію, 5 мг/л та гістамін, 8 мкг/кг. 21 доба. Ок. 10, об. 40; д – гіпохлорит натрію, 20 мг/л і гістамін, 8 мкг/кг. 7 доба. Ок. 10, об. 10; е – гіпохлорит натрію, 20 мг/л і гістамін, 8 мкг/кг. 14 доба. Ок. 10, об. 10. Тут і далі: 6 – багатоядерцеві ядра; 7 – еритроцити; 8 – сурфактанти; 9 – спазм бронхіоли

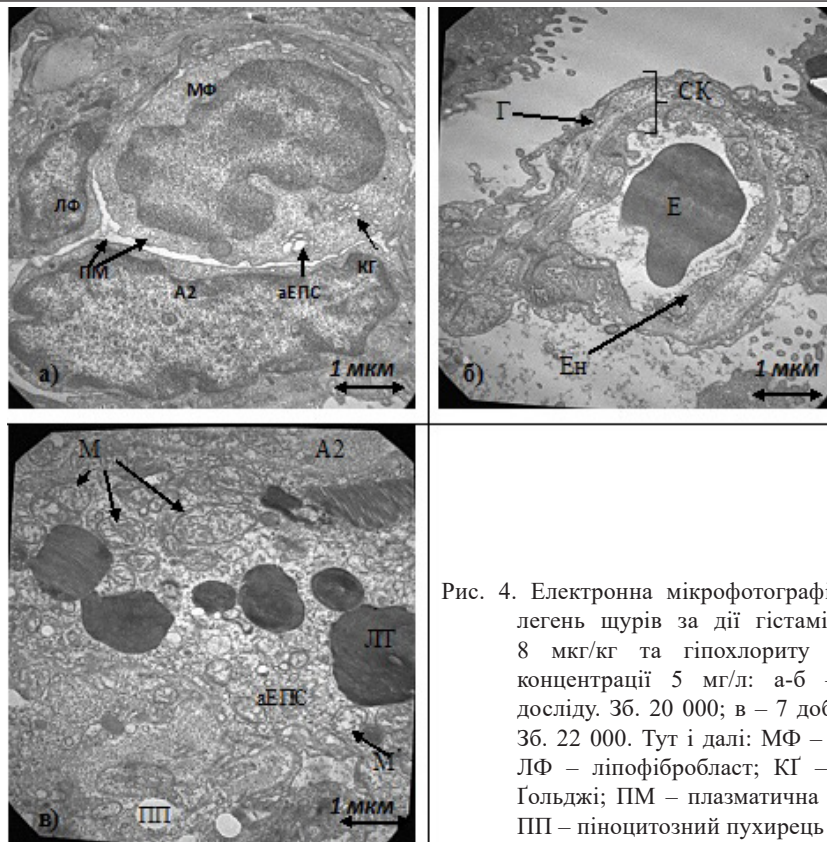


Рис. 4. Електронна мікрофотографія клітини легень щурів за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л: а-б – 7 доба досліду. Зб. 20 000; в – 7 доба досліду. Зб. 22 000. Тут і далі: МФ – макрофаг; ЛФ – ліпофібробласт; КГ – комплекс Гольджі; ПМ – плазматична мембрана; ПП – піноцитозний пухирець

Відомо, що гістамін є медіатором запалення. Екзогенне підшкірне введення гістаміну у низькій досліджуваній дозі в легенях щурів зумовлює стимуляцію утворення ендogenousного гістаміну тканинними базофілами і його викидом в оточуюче середовище, тоді як ГХН у високій концентрації веде до ушкодження клітинних мембран. У результаті цього посилюється процес викиду ендogenousного гістаміну, що узгоджується з попередніми нашими дослідженнями [2]. ГХН у низькій концентрації (5 мг/л), можливо, лише вступає в реакцію зі шкідливими речовинами організму, включаючи гістамін, і не відбувається ушкодження білків, жирів і вуглеводів здорових клітин. Слід зазначити, що гістамін вищої дози, ймовірно, може стимулювати активацію гістамінази, ферменту, який знешкоджує гістамін, у той час, як біогенний амін нижчої дози цього ефекту не дає. Magon зі співавторами встановили, що попереднє введення блокатора H1-рецепторів не впливає на вміст поверхнево-активного лецитину (основної поверхнево-активної речовини сурфактантної системи легень) у бронхо-альвеолярній рідині після введення гістамін-дифосфату, проте його утворення було заблоковане попереднім введенням блокатора H2-рецепторів. Оскільки переважним джерелом внутрішньоклітинних лецитинів є клітини II типу альвеолярного епітелію, то на їхній поверхні мають бути розташовані H2-рецептори, стимуляція яких призводить до зниження внутрішньоальвеолярного лецитину [21]. У літературі також наведено дані, що нижчі концентрації гістаміну стимулюють утворення активних форм кисню нейтрофілами, тоді як вищі – пригнічують [7]. Ймовірно, гістамін у вищій досліджуваній концентрації стимулює H2-рецептори, що веде до пригнічення синтезу лецитину сурфактанта альвеолоци-

тами. Варто відмітити, що за поєданого впливу ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг у легенях щурів морфометричні показники, а також якісні зміни світлової та електронної мікроскопії є менш виражено негативні, порівняно з групою щурів, яким тільки робили підшкірні ін'єкції гістаміну, що свідчить про позитивну дію ГХН у нижчій досліджуваній концентрації. Відомо, що НОСІ (яка може утворюватися за взаємодії ГХН із водою) за низьких концентрацій (від 10^{-7} до 10^{-4} М) не впливає на силу опору в артеріях. НОСІ за концентрації 10^{-4} М знижує гістамін-індуковані релаксації в препаратах ендотелію. Проте за високих концентрацій (10^{-2} до 1 М) НОСІ призводить до звуження в умовах спокою і вазодилатції ендотелію артерій. НОСІ зумовлює також незворотні пошкодження тканин [24]. Загалом ми припускаємо, що ГХН у легенях щурів ушкоджує клітини, включаючи тканинні базофіли, а це спричиняє вивільнення ендогенного гістаміну, а також, реагуючи з гістаміном, веде до утворення NH_3 та інших сполук, які негативно впливають на органи дихання. Отже, нами не рекомендовано використовувати ГХН у медицині як антигістамінний чинник, а також як дезінтоксикант на фоні надмірного вивільнення гістаміну в кровоплин.

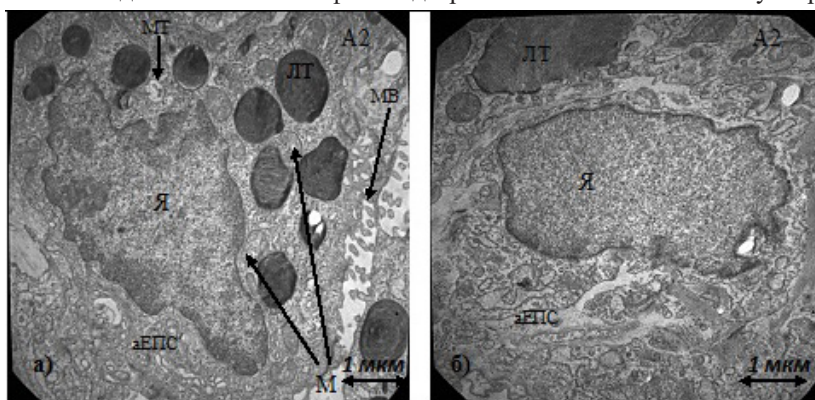


Рис. 5. Електронна мікрофотографія клітини легень щурів за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 20 мг/л: а – 7-ма доба досліджу. Зб. 22 000; б – 14-та доба досліджу. Зб. 22 000. МВ – мікроборсинки; МТ – мультивезикулярне тільце

Враховуючи вищезазначене, можна зробити висновок, що гістамін у легенях дозозалежно зумовлює зменшення просвіту альвеол, підвищення товщини міжальвеолярних перегородок, спазмування бронхіол і периваскулярний набряк навколо судин, набрякання мітохондрій, вакуолізацію ендоплазматичної сітки, підвищення кількості пероксисом та лізосом. ГХН у концентрації 20 мг/л веде до дистрофічних змін унаслідок значного порушення водно-сольового обміну в клітинах, розростання сполучної тканини впродовж усього часу дії цієї сполуки на організм щурів. Водночас ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює менш виражені патологічні прояви, які виявляються на 14-ту і 21-шу (реабілітація) доби досліджу. Одночасна дія гістаміну і ГХН веде до гідропічної дистрофії внаслідок ушкодження структур ендоплазматичної сітки і мітохондрій, спазмування бронхіол, підвищення утворення сурфактанту, розростання сполучної тканини. Ці характерні зміни є значно менше вираженими за одночасної дії ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну в дозі 8 мкг/кг.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Березовский В. Я., Янко Р. В., Чака О. Г., Левашов М. І. Вплив екзогенного мелатоніну на структуру та стан сполучнотканинних елементів респіраторного відділу легень // Укр. пульмонол. журнал. 2015. № 3. С. 61–64.

2. Бішко О. І., Головчак Н. П., Санагурський Д. І. Вплив гістаміну та гіпохлориту натрію на вільнорадикальні процеси у легеневій тканині щура // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. 2013. Т. 7. № 3. С. 97–106.
3. Брезвин О. М. Фізико-хімічні методи підтвердження руйнування Т-2 токсину розчином високочистого натрію гіпохлориту // *Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та Держ. н.-д. контрол. ін-ту ветпрепаратів та корм. добавок*. 2012. Вип. 13. № 3/4. С. 352–355.
4. Вікуліна Г. В., Тимошенко О. П. Гістологічні зміни паренхіми легень поросят, хворих на неспецифічну бронхопневмонію // *Вісн. Полтав. держ. аграр. академії*. 2009. № 1. С. 104–108.
5. Зайковський В. В., Лужников Е. А., Суходолова Г. Н. та ін. Применение гипохлорита натрия в терапии алкогольного абстинентного синдрома при острых отравлениях этанолом // *Токсиколог. вестн.* 2010. № 2. С. 10–16.
6. Заславський Д. В., Абдусалімов А. А., Сьдиков А. А. Профилактика и комплексное лечение атопического дерматита у детей // *Лечащий врач*. 2015. № 6. С. 48–56.
7. Искусных А. Ю., Башарина О. В., Артюхов В. Г., Алабовский В. В. Влияние гистамина на функциональные свойства нейтрофилов и интенсивность процесса пероксидного окисления липидов в крови доноров // *Вестн. ВГУ. Сер. хим., биол., фармация*. 2008. № 1. С. 93–96.
8. Комаренко А., Терехов А., Воробйова А. та ін. Дослідження ролі H1-рецепторів у реакціях ворітних судин печінки щурів на гістамін // *Черкас. нац. ун-т. Сер. біол.* 2008. Т. 128. С. 54–58.
9. Конохов А. Л. Руководство к использованию программного комплекса ImageJ для обработки изображений: учеб. метод. пособие. Томск: ТУСУР, 2012. 105 с.
10. Лесик Д. В., Ханферян Р. А., Андреевна А. Н. Роль гистамина и гистаминовых рецепторов H3/4-типа в регуляции синтеза IgE при атопических заболеваниях // *Кубанский науч. мед. вестн.* 2006. № 2. С. 77–80.
11. Мандзинець С. М., Кулачковський О. Р., Бура М. В. Зміни ультраструктурної організації клітин зародків в'юна за умов впливу авермектину // *Цитология и генетика*. 2011. № 5. С. 58–64.
12. Петров С. И. Применение гипохлорита натрия в клинической токсикологии: дис. ... д-ра мед. наук. М., 2005. 197 с.
13. Ballarin A., Bazzan E., Zenteno R. et al. Mast cell infiltration discriminates between histopathological phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012. Vol. 186. P. 233–239.
14. Bodnarchuk N. O., Kulachkovsky O. R., Mandzynets S. M. et al. Structural changes of loach embryos during embryogenesis under the influence of Flurenizyd // *Annales UMCS, sectio ee zootechnica*. 2016. Vol. XXXIV. N 4. P. 19–30.
15. Estelle F., Simons R. H1-histamine blockers: increasing value in treatment allergic diseases // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003. Vol. 112. N 4. P. 42–52.
16. Ganesh B. P., Hall A., Ayyaswamy S. et al. Diacylglycerol kinase synthesized by commensal *Lactobacillus reuteri* diminishes protein kinase C phosphorylation and histamine-mediated signaling in the mammalian intestinal epithelium // *Mucosal Immunol.* 2017. Vol. 26. P. 726–732.
17. Kovacova-Hanuszkova E., Buday T., Gavliakova S., Plevkova J. Histamine, histamine intoxication and intolerance // *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2015. Vol. 43. N 5. P. 498–506.
18. Lebedev A. T., Shaydullina G. M., Sinikova N. A., Harchevnikova N. V. GC–MS comparison of the behavior of chlorine and sodium hypochlorite towards organic compounds dissolved in water // *Water Research*. 2004. Vol. 38. P. 3713–3718.

19. *Magon N. J., Turner R., Gearry R. B. et al.* Oxidation of calprotectin by hypochlorous acid prevents chelation of essential metal ions and allows bacterial growth: Relevance to infections in cystic fibrosis // *Free Radic. Biol. Med.* 2015. Sep.86. P. 133–144.
20. *Mitsunobu F., Mifune T., Hosaki Y. et al.* Different roles of histamine and leukotriene C4 in the airways between patients with atopic and nonatopic asthma // *J. Asthma.* 1998. Vol. 35(4). P. 367–372.
21. *Rao G. J.* Histamine induced decrease of lecithin levels in broncho-alveolar lavage fluid of rats is mediated by H2 receptor // *Asian Pac J. Allergy Immunol.* 2000. Sep.18(3). P. 169–171.
22. *Reynolds E. S.* The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* 1963. Vol. 17. P. 208–212.
23. *Shreyasi Chakraborty, Kar N., Kumari L. et al.* Inhibitory effect of a new orally active cedrol-loaded nanostructured lipid carrier on compound 48/80-induced mast cell degranulation and anaphylactic shock in mice // *Int. J. Nanomedicine.* 2017. N 12. P. 4849–4868.
24. *Turan N. N., Demiryürek A. T., Kanzik I.* Hypochlorous acid-induced responses in sheep isolated pulmonary artery rings // *Pharmacol Res.* 2000. May. 41(5). P. 589–596.
25. *Van Den Broucke S., Pollaris L., Vande Velde G. et al.* Irritant-induced asthma to hypochlorite in mice due to impairment of the airway barrier // *Arch. Toxicol.* 2018. Jan. 24. P. 2161–2168.

Стаття: надійшла до редакції 06.12.17

доопрацьована 26.02.18

прийнята до друку 28.02.18

STRUCTURAL CHANGES IN RATS LUNG UNDER THE INFLUENCE OF HISTAMINE AND SODIUM HYPOCHLORITE

N. Harasym¹, O. Bishko-Moskaliuk¹, O. Kulachkovsky¹, M. Lutsyk², D. Sanahursky¹

¹*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine*

²*Lviv Expert Center of Scientific Researches Ministry
of Internal Affairs of Ukraine
24, Koniushynna St., Lviv 79040, Ukraine
e-mail: garasymnataly@gmail.com*

Influence of sodium hypochlorite (SH), histamine and their simultaneous action on structural features of respiratory part of rats lungs on 1 st, 7 th, 14 th day of the experiment and after the rehabilitation period (21st day) was investigated. Histamine has been shown to lead to a dose-dependent decrease in the lumen of the alveolus, increase the thickness of interalveolar walls, bronchial spasm, damage to mitochondria, endoplasmic reticulum, increase in the number of peroxisomes and lysosomes. Giving rats SH at a concentration of 20 mg/l causes dystrophic changes in the lung cells, increase of the connective tissue, reducing the area of the cross-section of the alveolus throughout the duration of this compound, whereas SH at a concentration of 5 mg/l leads to less severe pathological changes. At the simultaneous SH and histamine into the body there is a hydropic dystrophy due to damage to the structures of the endoplasmic reticulum and mitochondria, spasmation of bronchioles, increased surfactant production, and the increased of connective tissue. These changes are less pronounced in the simultaneous action of SH at a concentration of 5 mg/l and histamine in a dose of 8 µg/kg.

Keywords: histamine, sodium hypochlorite, lungs, morphometry

БІОХІМІЯ

УДК: 577.151:54-38

**ЕЛЕМЕНТООРГАНІЧНИЙ РІВЕНЬ ЯК ОДИН ІЗ БАЗОВИХ РІВНІВ
БІОХІМІЧНОЇ АДАПТАЦІЇ ДО ВПЛИВУ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

Г. Андрейко*, О. Коновалова

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
пл. Свободи, 4, Харків 61022, Україна
e-mail: h.andreiko@karazin.ua*

Мета дослідження полягала в аналізі перебігу адаптаційних процесів в організмі на рівні елементоорганічних сполук за навантаження сполуками Pb. Завданням роботи було дослідити динаміку розподілу хімічних елементів (ХЕ) в органах і тканинах піддослідних тварин у різні терміни адаптації за умов короткочасної свинцевої інтоксикації. Експеримент проводився на трьох групах тварин (тримісячні білі щури лінії Wistar, по 10 у кожній групі). Перша група – контрольна; другій і третій групам тварин через день внутрішньом'язово вводили розчин PbAc₂ у концентрації, еквівалентній 62,5 мг/кг іонів Pb²⁺. Вплив на другу і третю групи щурів тривав протягом 9 днів. Через 24 години (на 10-ту добу) під легким наркозом проводили декапітацію тварин другої групи. У третій групі щурів декапітація відбувалася на 25-ту добу (через 15 діб після останнього введення PbAc₂). Методом атомно-абсорбційної спектроскопії в печінці, селезінці, серці, стегновій кістці, нирках, скелетному м'язі й головному мозку визначали концентрації ХЕ (Ca, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Ni, Cd, Pb). Виявлено, що протягом двох тижнів майже половина залишкового Pb²⁺ концентрується в кістковій тканині, де відбувається його депонування, і в нирках, де здійснюються процеси подальшої біотрансформації та елімінації з організму. Під дією залишкової дози введеного Pb²⁺ відбувається повторний перерозподіл досліджуваних елементів в органах і тканинах. Абсолютний або відносний дефіцит більшості досліджуваних елементів на фоні впливу залишкового пулу Pb²⁺ може зумовлюватися змінами інтенсивності їх всмоктування та трансформації транспортних систем і метаболізму, а також змінами активності специфічних лігандів і клітинних рецепторів у результаті виникнення дисбалансу елементів. У результаті взаємодії та перерозподілу ХЕ в організмі, викликаних короткочасним надходженням Pb²⁺, запускаються процеси адаптації на молекулярному, функціональному рівнях та рівні мікросередовища. Таким чином, вивчення динаміки розподілу досліджуваних ХЕ в різні терміни пристосування дає змогу запропонувати елементоорганічний рівень як необхідну ланку в оцінці процесів біохімічної адаптації.

Ключові слова: Плюмбум, адаптація, розподіл, макроелементи, мікроелементи

Пристосування організму до умов оточуючого середовища викликає напруження його адаптаційних систем і біохімічних механізмів трансформації ксенобіотиків. Це підтверджується прогресивним зростанням екологічно залежних захворювань, зумовлених неспроможністю захисних систем організму встигати за темпами модифікації довкілля [20, 22]. Глобальне забруднення навколишнього середовища важкими металами викликає необхідність давати інтегральну оцінку його впливу та досліджувати адаптаційні відповіді на різних рівнях структурної організації організму [11, 23].

Біохімічні адаптації – складні багатоетапні процеси, що включають у себе пристосування метаболізму до різноманітних змін зовнішнього та внутрішнього середовища. Вони

визначають якісну та кількісну своєрідність метаболічних процесів і доступність джерел енергії, необхідних для підтримання функціональної активності молекул [15]. Їхньою провідною ланкою є трансформація клітинного метаболізму завдяки різноспрямованим перебудовам обмінних процесів. В умовах антропогенного навантаження середовища реакції біохімічної адаптації включають такі стадії: часткова утилізація токсиканта системами детоксикації, зміни спрямованості й інтенсивності низки метаболічних процесів, процеси елімінації токсиканта [5, 11, 23]. Ці кроки супроводжуються як швидкими, так і розрахованими на тривалу дію трансформаціями складу біомолекул, транспортних білків, змінами специфічної активності низки ферментів. Традиційно перебіг механізмів біохімічної адаптації досліджують на трьох рівнях: макромолекулярному, функціональному та мікросередовища [13, 15]. Проте різноманітні порушення балансу хімічних елементів (ХЕ) як екзогенної, так і ендогенної етіології, можуть суттєво вплинути на мінеральний гомеостаз [1, 3, 19]. Динаміка постійного перерозподілу ХЕ між тканинами й органами зумовлена їхньою участю як постійних структурних компонентів різноманітних органічних сполук (ензимів, вітамінів, гормонів тощо) або тимчасовими зв'язками з даними сполуками під час обмінних процесів в організмі. Унаслідок лабільності та здатності до утворення зв'язків з біолігандами ймовірність різноспрямованої міжелементної взаємодії (синергетичної, антагоністичної або конкурентної) досить значна порівняно із взаємовпливами інших речовин. Зміни елементного складу органів і тканин відображаються на обміні речовин, що обумовлюватиме трансформації більшості пластичних і енергетичних процесів в організмі. Тому рівень елементоорганічних сполук (далі – «елементоорганічний рівень») можна вважати інформативним показником загального стану адаптаційних можливостей організму.

Мета роботи полягала в аналізі перебігу адаптаційних процесів в організмі на елементоорганічному рівні у процесі навантаження сполуками Плюмбуму. Завдання роботи полягало в дослідженні динаміки розподілу ХЕ в органах і тканинах піддослідних тварин у різні періоди адаптації за умов короткочасної свинцевої інтоксикації.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Wistar, віком 3 місяці, масою 180–210 г, яких утримували в умовах віварію Інституту біології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Тварин забезпечували стандартним раціоном харчування і вільним доступом до води [4]. За даними ветеринарного обстеження, піддослідні щури були здорові. Усі процедури проводили з дотриманням принципів роботи з лабораторними тваринами, згідно з умовами загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Дослідження є частиною експерименту, проведеного у зимово-весняний період (лютий–квітень). Відібраних щурів розподілили на три групи (по 10 особин у кожній): щурам першої групи – контрольної – вводили фізіологічний розчин; щурам другої і третьої груп тварин внутрішньом'язово через день о 9–10 год ранку вводили розчин PbAc ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$). Введена концентрація еквівалентна 62,5 мг/кг іонів Pb^{2+} . Об'єм рідини становив 0,2 мл. За нашими даними, ця доза, наближена до впливу на людину в реальних умовах, відповідає надходженню сполук Плюмбуму в організм населення Харківської обл. з водою та продуктами щоденного раціону харчування [6, 10].

Вплив на другу і третю групи щурів тривав протягом 9 днів. Декапітацію тварин другої групи провели через 24 год (на 10 добу) під легким наркозом. У третій групі щурів декапітація відбувалася на 25-ту добу (через 15 дів після останнього введення PbAc).

Елементний склад у різні терміни адаптації після введення токсиканта досліджували в серці, печінці, нирках, селезінці, м'язах, лівій і правій половині мозку, стегновій кістці. Виділені зразки зважували та заморожували за температури $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Попередню пробопідготовку відібраних зразків здійснювали методом сухого озолення з подальшим розчиненням залишку в суміші нітратної та трихлороцтової кислот [14]. Аналіз елементного складу фільтрату проводили методом атомно-абсорбційної спектроскопії на спектрометрі С-115М1 («Selmi», Суми). У пробах визначали концентрації таких хімічних елементів: Ca, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Ni, Cd, Pb. Статистичну обробку отриманих результатів за t-критерієм Стьюдента й U-критерієм Манна-Вітні здійснювали за допомогою програми SPSS 15.0 «for Windows» і Microsoft Office Excel 2003.

Результати і їхнє обговорення

Нашими попередніми дослідженнями [18, 23] було доведено, що групи з різними термінами адаптації за обраними загально визначеними показниками адаптації на традиційних рівнях дослідження (макромолекулярному, функціональному та мікросередовища) перебувають на різних етапах пристосувального процесу. За одночасного визначення концентрацій ХЕ у відібраних зразках було виявлено зміни характеру розподілу введеного токсиканта у групах експериментальних щурів із різною тривалістю періоду адаптації [3, 19]. На основі отриманих результатів висунуто гіпотезу про включення елементоорганічного рівня до загального перебігу процесу біохімічної адаптації. Для доведення відповідності показників елементоорганічного рівня стадіям цього процесу було проаналізовано динаміку розподілу ХЕ для досліджуваних термінів адаптації.

Описані нами зміни максимального депонування іонів Pb^{2+} в органах і тканинах протягом адаптаційного періоду супроводжуються змінами органів депонування токсиканта, в яких можуть виникати порушення функціональної діяльності клітин. У другій групі тварин розподіл введеної дози Pb^{2+} здійснювали у відповідності зі швидкістю надходження крові до органів і систем. Повторний перерозподіл залишкового пулу Pb^{2+} у третій групі тварин відбувався згідно з властивою тканинам спорідненістю до іонів Pb^{2+} . Падіння концентрації Pb у селезінці, печінці та м'язах, можливо, пов'язано з невисокою здатністю до утримання його іонів цими тканинами (табл. 1) та підвищенням активності захисних і адаптаційних систем організму.

Таблиця 1

Концентрації токсичних елементів у органах і тканинах щурів із навантаженням іонами Плюмбуму в умовах різного терміну адаптації (мкг/г, $M \pm m$)

Орган/тканина	Плюмбум (Pb)			Кадмій (Cd)		
	перша група	друга група	третья група	перша група	друга група	третья група
Печінка	1,73±0,13	20,5±2,4 [#]	6,44±0,67 ⁺⁺	0,47±0,11	0,33±0,017 [#]	0,76±0,08 [*]
Нирки	1,64±0,11	56,5±6,8 ⁺⁺⁺	266±35 ^{**}	0,41±0,09	0,35±0,01	1,01±0,11 [*]
Серце	3,98±0,41	9,52±1,7 [#]	8,27±0,86 [*]	1,16±0,11	0,30±0,011 [*]	2,13±0,21 ⁺⁺⁺
Селезінка	2,95±0,30	134±27 [*]	11,2±0,59 ⁺⁺	0,93±0,10	0,81±0,19	1,13±0,12
М'язи	2,35±0,32	12,9±2,7 [*]	4,28±0,43 ⁺⁺	0,66±0,078	0,530±0,024	0,78±0,095 ⁺
Кістка	4,40±0,33	55,8±8,3 ^{**}	231±23 ⁺⁺⁺	2,02±0,22	1,77±0,25	2,75±0,28 ⁺
Мозок лів. половина	2,53±0,32	3,9±0,51 [*]	5,67±0,88 ⁺⁺	↓ рівня визначення	0,040±0,002	0,98±0,11 ⁺
Мозок пр. половина	3,11±0,31	3,97±0,89	4,06±0,23 [*]	↓ рівня визначення	0,23±0,01	0,31±0,12

Примітки: * – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента з інтактною групою, $p \leq 0,05$;

** – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента з інтактною групою, $p \leq 0,01$; + – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента між експериментальними групами, $p \leq 0,05$; # – статистично значима розбіжність з інтактною групою за критерієм Манна-Вітні, $p \leq 0,05$

Достовірне накопичення Pb у нирках і кістці ($p \leq 0,01$) в цьому періоді вказує на другу фазу перерозподілу його залишкового пулу. Рівень депонування Pb у кістковій тканині пов'язаний із глибиною проникнення в міжклітинну речовину, а кумуляція введеного металу в нирках пояснюється вираженою специфічною спорідненістю мембран ниркових каналців [16, 21]. Підвищене утримання залишкового пулу Плюмбуму спостерігається в обох половинах мозку, особливо у лівій. Динаміка розподілу введеного Pb^{2+} в різні терміни пристосування визначатиме характер і ефективність перебігу процесів біохімічної адаптації та розподіл і взаємодію інших життєво необхідних металів: Ca, Mg, Zn, Cu, Ni, Co, Fe [3, 5, 17, 19].

Підвищення концентрації Cd на 25-ту добу підтверджує вплив залишкового пулу Pb^{2+} на посилення здатності тканин до утримання іонів Cd^{2+} в досліджуваних органах, особливо в печінці, серці, м'язах і лівій половині мозку (табл. 1).

Динаміка зміни концентрацій досліджуваних макроелементів (Ca і Mg) є одним із визначальних параметрів для векторів спрямування біохімічної адаптації. Протягом двох тижнів відбувається паралельне статистично значиме ($p \leq 0,05$) зниження концентрацій Ca і Mg у печінці, нирках і обох половинах мозку; в селезінці – недостовірно для Ca, а в м'язах – для Mg (табл. 2). Протягом даного періоду в серці концентрація Ca коливається в межах показників інтактної групи, а концентрація Mg не відновлюється і залишається достовірно низькою в обох термінах дослідження. Дефіцит Ca і Mg зумовлюватиме адаптивні перебудови на інших рівнях пристосування, оскільки ці елементи широко включені в різноманітні фундаментальні біологічні процеси.

На наявність адаптивних трансформацій в організмі вказує динаміка концентрацій мікроелементів із низькою буферною ємністю (Cu, Fe, Zn). В основному депо лабільного Купруму – печінці – концентрація Cu може слугувати індикатором засвоєння і забезпеченості організму цим елементом. На 25-ту добу в усіх досліджуваних зразках, за винятком селезінки, спостерігається падіння концентрації цього елемента (табл. 3), найбільш виражене в м'язах (у 13,1 разу) та печінці (у 8,7 разу).

Таблиця 2

Концентрації макроелементів у органах і тканинах щурів із навантаженням іонами Плюмбуму в умовах різного терміну адаптації (мкг/г, $M \pm m$)

Орган/тканина	Кальцій (Ca)			Магній (Mg)		
	перша група	друга група	третья група	перша група	друга група	третья група
Печінка	2,83±0,22	5,42±0,39 #	2,52±0,25	71,3±3,6	155±21*	47,6±3,6*
Нирки	3,93±0,29	2,61±0,29*	1,48±0,10*	59,0±4,7	166±14*	47,3±3,3*+
Серце	5,30±0,69	6,41±0,54	5,84±0,63	288±23	91,5±6,3*	95,5±5,9*+
Селезінка	4,91±0,56	4,31±0,61	3,61±0,39*+	130,0±7,9	92,5±11,8*	75,8±8,3*
М'язи	3,28±0,39	7,16±1,44*	1,77±0,25*+	61,6±5,8	48,6±2,7*	52,5±3,8*
Кістка	1907±247	3288±447*	1344±162*	739±98	638±24*	914±123*+
Мозок лів. половина	6,54±0,56	9,24±1,21*	2,47±0,38*+	52,1±1,9	95,2±10,9*	40,2±3,9*+
Мозок пр. половина	4,85±0,37	5,39±0,44	2,06±0,19*	65,1±4,1	82,7±5,6*	49,9±2,6*+

Примітки: * – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента з інтактною групою, $p \leq 0,05$; ** – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента з інтактною групою, $p \leq 0,01$; + – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента між експериментальними групами, $p \leq 0,05$; # – статистично значима розбіжність з інтактною групою за критерієм Манна-Вітні, $p \leq 0,05$

Низька концентрація Cu в цей термін є одним із чинників, який спричиняє адаптаційні перебудови в пластичному й енергетичному обмінах [12]. Одночасно такі перебудови можуть бути зумовлені підвищенням концентрації Fe в органах і тканинах на тлі

повторного перерозподілу введеного пулу Pb^{2+} (табл. 3). Відомо, що безпечний діапазон Fe в організмі достатньо вузький і строго контролюється для запобігання його коливанням [9]. Підвищення концентрації Fe за досліджуваний термін адаптації вказує на часткове відновлення дистанційно віддалених процесів регуляції його гомеостазу. З іншого боку, ці процеси можуть бути чинниками значимого підвищення активності каталази, сприяючи таким чином пристосуванню біоенергетичного потенціалу відновних синтезів на 25-ту добу адаптації [18]. Протягом досліджуваного періоду лише Zn зберігає підвищену концентрацію в метаболічно активних тканинах печінки, нирок і м'язів щурів обох груп (табл. 3). Ймовірно, мобілізація Zn відбувається за рахунок перерозподілу в печінці та селезінці, де концентрація його достовірно падає, проте залишається вищою за показники в інтактній групі [3]. Можна припустити, що на 10-ту добу адаптації Zn відіграє ключову роль одного з основних ендогенних представників антиоксидантного захисту організму.

Таблиця 3

Концентрація мікроелементів із низькою гомеостатичною ємністю в органах і тканинах щурів з навантаженням іонами Плюмбуму в умовах різного терміну адаптації (мкг/г, $M \pm m$)

Орган/ тканина	Ферум (Fe)			Купрум (Cu)			Цинк (Zn)		
	перша група	друга група	третя група	перша група	друга група	третя група	перша група	друга група	третя група
Печінка	14,41±0,38	16,5±2,0	21,7±1,7*	0,89±0,051	3,77±0,23*	0,45±0,053**	17,3±0,77	120±6,5**	22,6±1,1***
Нирки	13,84±0,56	8,15±0,54*	19,5±0,98***	2,11±0,34	1,99±0,10	0,52±0,053**	14,4±1,3	13,3±0,69	26,8±2,1**
Серце	17,7±0,89	13,0±0,70*	26,9±3,81**	4,55±0,46	2,46±0,23*	1,40±0,17**	14,3±1,1	11,6±1,5	15,0±0,71*
Селезінка	161±15,2	128±20,3	149±7,38	1,21±0,13	1,32±0,13	1,32±0,12	15,5±0,70	56,3±7,01*	14,8±0,73
М'язи	5,45±0,29	5,23±0,23	8,19±0,72*	2,98±0,59	5,25±0,33*	0,40±0,027**	9,51±0,69	10,3±0,88	20,5±1,4**
Кістка	9,29±0,33	7,15±0,35*	24,6±3,2***	1,24±0,098	3,86±0,16*	0,99±0,10	81,8±4,3	88,4±3,0	79,5±10,1
Мозок лів. половина	8,81±0,75	10,24±0,64	12,4±1,36*	1,31±0,096	1,78±0,16*	0,60±0,080**	12,1±0,14	11,5±1,24	12,4±1,3
Мозок пр. половина	8,58±0,32	7,95±0,49	13,1±1,6**	2,33±0,21	1,96±0,14	0,42±0,43**	11,8±0,93	12,6±0,92	13,2±2,1

Примітки: * – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента з інтактною групою при $p \leq 0,05$; ** – з статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента інтактною при $p \leq 0,01$; + – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента між експериментальними групами при $p \leq 0,05$; # – статистично значима розбіжність з інтактною групою за критерієм Манна–Уїтні, $p \leq 0,05$

Збереження високої концентрації Zn під впливом залишкового пулу Pb^{2+} вказує на необхідність інтенсивного функціонування Zn-вмісних сполук, зокрема, металотіонеїнів у метаболічно активних органах [2, 5].

Важливу роль у процесах адаптації до короткочасного навантаження PbAc буде відігравати варіабельність концентрації перехідних d-елементів (Mn, Co та Ni), виходячи з різноманітності їхньої біологічної ролі в організмі. Протягом двох тижнів спостерігається статистично значиме ($p \leq 0,05$) зниження концентрації цих елементів у переважній більшості органів і тканин, за винятком Mn у селезінці та серці (табл. 4). Відновлення концентрації Mn у цих органах на 25-ту добу, ймовірно, вказує на адаптивні перебудови метаболічних процесів, що відбуваються за його участі [7, 8].

Встановлена нами акумуляція вказаних елементів у кістковій тканині пов'язана дією токсиканта на її металоутримувальні властивості. Зниження протягом досліджуваного періоду концентрації Co може бути наслідком зростання концентрації Cd, оскільки відома антагоністична взаємодія цих елементів [1]. Одночасно спостерігається зниження концентрації Ni в усіх органах і тканинах, за винятком серцевого м'яза і кістки (табл. 4).

Таблиця 4

Концентрації деяких есенціальних d-елементів у органах і тканинах щурів з навантаженням іонами Плюмбуму в умовах різного терміну адаптації (мкг/г; M±m)

Орган/ тканина	Манган (Mn)			Кобальт (Co)			Нікол (Ni)		
	перша група	друга група	третя група	перша група	друга група	третя група	перша група	друга група	третя група
Печінка	1,24±0,13	1,34±0,091	1,01±0,11	1,71±0,16	2,13±0,12*	0,77±0,060*	1,34±0,11	2,05±0,11*	0,70±0,055**
Нирки	0,66±0,019	2,05±0,89#	0,50±0,041**	1,37±0,098	1,18±0,14	0,89±0,079*	1,66±0,21	0,10±0,11**	0,76±0,12***
Серце	0,92±0,052	0,80±0,057	0,91±0,090	1,84±0,16	2,99±0,61#	1,35±0,11	1,62±0,18	1,32±0,17	1,52±0,16
Селезінка	0,93±0,091	0,87±0,14	1,12±0,12	1,72±0,20	1,62±0,18	1,30±0,13	2,93±0,32	1,85±0,21*	1,15±0,13*
М'язи	0,42±0,043	0,86±0,18#	0,15±0,020**	1,61±0,19	2,00±0,14	0,90±0,048*	1,07±0,088	1,22±0,14	0,71±0,063*
Кістка	0,94±0,054	2,36±0,95#	1,13±0,11*	3,42±0,14	3,10±0,17	3,46±0,37	2,98±0,18	2,33±0,11*	3,31±0,18*
Мозок лів. половина	0,82±0,085	1,32±0,18*	0,25±0,027**	2,26±0,27	3,08±0,23*	1,13±0,11*	1,48±0,28	2,47±0,28*	1,07±0,13
Мозок пр. половина	1,08±0,13	0,89±0,23	0,42±0,042*	2,49±0,29	2,25±0,14	0,93±0,051**	2,05±0,13	2,25±0,14	0,51±0,047*

Примітки: * – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента з інтактною групою при $p \leq 0,05$; ** – з статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента інтактною при $p \leq 0,01$; + – статистично значима розбіжність t-критерію Стьюдента між експериментальними групами при $p \leq 0,05$; # – статистично значима розбіжність з інтактною групою за критерієм Манна–Вітні, $p \leq 0,05$

Депонування в кістковій тканині досліджуваних елементів зі змінною валентністю (Fe, Mn, Co, Ni) та їхня нестача в органах і тканинах, що безпосередньо беруть участь у процесах кровотворення, може бути однією з причин збереження низької концентрації гемоглобіну та наявності внутрішньоклітинного гемолізу на 25-ту добу експерименту [18]. Іншою причиною може стати обумовлений падінням концентрації Mn дефіцит Cu в органах і тканинах, що також послаблює гемопоетичну дію Co [7].

Отже, під дією введеної дози Pb^{2+} протягом двох тижнів виявлено повторний перерозподіл XE в органах і тканинах. Абсолютний або відносний дефіцит більшості досліджуваних XE на тлі залишкового пулу Pb^{2+} може обумовлюватися низкою причин, у тому числі змінами активності специфічних лігандів і клітинних рецепторів унаслідок виникнення мінерального дисбалансу.

У результаті взаємодії та перерозподілу хімічних елементів в організмі, викликаних короткочасним надходженням Pb^{2+} , запускаються процеси біохімічної адаптації на молекулярному, функціональному рівнях та рівні мікросередовища. Це дає змогу говорити про елементоорганічний рівень як необхідну ланку в оцінці процесів біохімічної адаптації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Авцын А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина, 1991. 496 с.
2. Андрейко Г. П., Баранов Р. О. Деякі механізми захисту від свинцевої інтоксикації [Електрон. ресурс] // Електрон. архів публ. ЦНБ ХНУ ім. В.Н. Каразіна // URL: <http://dspace.univer.kharkov.ua/handle/123456789/10583> (дата звернення: 26.01.2017).
3. Андрейко Г. П., Коновалова О. О., Гончаренко М. С. Концентрація хімічних елементів в органах і тканинах білих щурів після навантаження плюмбум ацетатом в умовах 15-добового періоду адаптації // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2016. Вип. 72. С. 50–57.
4. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторные животные. К.: Вища школа, 1988. 388 с.
5. Калетина Н. И., Калетин Г. П. Микроэлементы биологические регуляторы // Наука в России. 2007. № 1. С. 15–22.

6. Коновалова О. О., Андрейко Г. П. Забруднення харчових продуктів сполуками металів // Навколишнє середовище і здоров'я людини: матер. V Всеукр. наук.-практ. семінару. (Полтава, 2012). Полтава: Скайтек, 2012. С. 85–88.
7. Коновалова Е. О., Андрейко Г. П., Михайлова Е. А. Некоторые метаболические ответы организма животных при нагрузке хлоридом марганца // Вісн. ХНУ ім. В.Н. Каразіна. Сер. біол. 2014. Т. 1112. Вип. 21. С. 13–19.
8. Коновалова Е. О., Андрейко Г. П., Михайлова Е. А. Перестройки концентрационных рядов металлов в различных органах экспериментальных животных после нагрузки ацетатом свинца // Ukr. Biochem. J. 2014. Vol. 86. N 5 (Suppl. 2). P. 194–195.
9. Левина А. А., Казюкова Т. В., Цветаева Н. В. и др. Гепсидин как регулятор гомеостаза железа // Педиатрия. 2008. Т. 87. С. 68–74.
10. Михайлова О. О., Андрейко Г. П., Строилова Д. В. Дослідження дії екологічних чинників на деякі показники біохімічного складу слини // Фундамент. та приклад. дослідження в біології: матер. III Міжнар. конф. студ., асп. та мол. учених (Донецьк, 2014). Донецьк, 2014. С. 166–167.
11. Немова Н. Н., Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 216 с.
12. Овсянникова Н. М. Особенности адаптационных реакций человека в связи с содержанием тяжелых металлов в организме // Вчен. зап. Таврій. нац. ун-ту ім. В.І. Вернадського. Сер. біол., хім. 2010. Т. 23 (62). № 2. С. 142–151.
13. Оценка состояния водных организмов по биохимическому статусу / Н.Н. Немова, О.В. Мещерякова, Л.А. Лысенко [и др.] // Тр. Карел. науч. центра РАН. 2014. № 5. С. 18–29.
14. Спосіб визначення вмісту важких металів в біологічному матеріалі, переважно в органах тварин. Пат. України на корисну модель № 73527, заявл. 22.03.2012. Заявка U 201203421 G01N 33/48 (2006.01), G01N 33/483 Опубл. Бюл. № 18, 25.09.2012 р. Авт.: Гончаренко М. С., Коновалова О. О., Андрейко Г. П., Гладка О. О.
15. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. М.: Мир, 1988. 568 с.
16. Ab Latif Wani, Anjum Ara, Jawed Ahmad Usmani. Lead toxicity: a review // Interdiscip Toxicol. 2015. Vol. 8(2). P. 55–64.
17. Aggett P. Physiologi and metabolism of essential trace elements: An outline // Clin. Endocrinol. Metlab. 1985. Vol. 14. N 3. P. 513–543.
18. Andreiko H., Konovalova O. Biochemical mechanisms of adaptation in the simulation of lead intoxication // Perspective trends in scientific research – 2015 // Mater. of Sci. and Practical Conf. Bratislava, 2015. Vol. 2. P. 93–94.
19. Andreyko H., Konovalova O., Gladka O. Study of body adaptation reactions in rats organs and tissues in terms of chromic lead intoxication // Europ. Researcher. 2013. Vol. 45. N 4–1. P. 739–745.
20. Flores-Montoya M. G., Sobin C. Early chronic lead exposure reduces exploratory activity in young C57BL/6J mice // J. Appl. Toxicol. 2014. Vol. 35 (7). P. 759–765.
21. Goyer R. A., Krall K. Ultrastructural transformation in mitochondria isolated from kidneys of normal and lead-intoxicated rats // J. Cell. Biol. 1969. N 41. P. 393–400.
22. Jurdziak M., Gać P., Martynowicz H., Poręba R. Function of respiratory system evaluated using selected spirometry parameters in persons occupationally exposed to lead without evident health problems // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2015. Vol. 39(3). P. 1034–1040.
23. Konovalova O., Andreyko H. Developpment in time of biochemical adaptation to ecological factors // Cas ve výchově umění a sportu (Filosofická reflexe). Praha, 2014. P. 295–301.

ELEMENT-ORGANICAL LEVEL AS ONE OF THE BASIC LEVELS OF BIOCHEMICAL ADAPTATION TO THE IMPACT OF HEAVY METALS

H. Andreiko, O. Konovalova

*V.N. Karazin Kharkiv National University
4, Svobody Sq., Kharkiv 61022, Ukraine
e-mail: h.andreiko@karazin.ua*

The aim of the study was to analyze the course of adaptive processes in the body at the element-organical level when Pb^{2+} compounds were loaded. The task of the work was to study the dynamics of the distribution of elements in the organs and tissues of experimental animals in different periods of adaptation in the conditions of short-term lead intoxication. The experiment was conducted on three groups of animals (three month white rats of the Wistar line, with 10 in each group). The first group was kontrol; the second and third groups of animals were injected intramuscularly with a solution of PbAc in equivalent dose of 62.5 mg/kg of metal every other day. The effect on the group of rats with a daily adaptation period lasted for 9 days. After 24 hours (the 10th day), underwent anesthesia with decapitation. In the third group of rats decapitation took place on the twenty-fifth day (the 15th day after the last injection PbAc). The concentrations of Ca, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Ni, Cd, Pb in liver, spleen, heart, femurs bone, kidney, skeletal muscle and brain were determined by the method of atomic absorption spectrometry. It is founded, that during two weeks of adaptation nearly half of the residual Pb^{2+} is concentrated in the bone tissue where it is deposited, and in the kidneys, where the processes of further biotransformation and elimination from the body are carried out. Under the action of the residual dose administered Pb^{2+} there is a repeated redistribution of the investigated elements in organs and tissues. The absolute or relative deficiency most of researched elements on the background of remaining pool of Pb^{2+} may be caused by the intensity of the absorption, transformation of transport systems and metabolic changes in the activity of specific cellular receptors and ligands, and it resulted to imbalance of elements. As a result of the interaction and redistribution of chemical elements in the body caused by the short-term intake of Pb^{2+} , processes of adaptation on the molecular, functional levels and levels of the microenvironment are launched. Thus, the study of the distribution dynamics of investigated elements at different recovery times allows us to propose the element-organical level as the necessary link in the evaluation of the biochemical adaptation process.

Keywords: lead, adaptation, distribution, macroelements, microelements

**ПОШИРЕННЯ *KOCHIA PROSTRATA* (*CHENOPODIACEAE*) НА РІВНИННІЙ
ЧАСТИНІ УКРАЇНИ ВПРОДОВЖ ПІЗЬНОГО ДРІАСУ–ГОЛОЦЕНУ:
ПАЛЕОФЛОРИСТИЧНИЙ І ПАЛІНОМОРФОЛОГІЧНИЙ АСПЕКТИ**

Л. Безусько, З. Цимбалюк, С. Мосякін

*Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ 01601, Україна
e-mail: allagbez25@gmail.com, palynology@ukr.net*

Представлені результати аналізу палеофлористичних даних, які свідчать про участь пилоквих зерен *Kochia prostrata* (= *Bassia prostrata*) у колективних палінофлорах відкладів пізнього дріасу–голоцену Лісової (7), Лісостепової (7) та Степової (3) зон України. Уперше реконструйовано просторово-часову диференціацію поширення *K. prostrata* впродовж пізнього дріасу–голоцену на рівнинній частині України. Встановлено, що наявність у складі викопних палінофлор пилоквих зерен *K. prostrata* дає змогу обґрунтувати поширення перигляціального типу рослинності на рівнинній частині України у пізньому дріасі. Отримані палеофлористичні матеріали перспективно використовувати під час внесення коректив до реконструкції багатоаспектної картини розпаду перигляціального комплексу впродовж голоцену. На прикладі модельного таксону *K. prostrata* доведено, що засолені ґрунти впродовж голоцену найбільше були поширені на території лівобережної частини Лісостепової зони України. Наведено діагностичні ознаки пилку *K. prostrata*, які перспективно використовувати у практиці палеопалінологічних досліджень: розміри зерен, кількість пор і відстань між їхніми краями, текстура й товщина екзینی.

Ключові слова: палеофлористика, паліноморфологія, *Kochia prostrata*, пізній дріас, голоцен

Віниччя сланке (*Kochia prostrata* (L.) Schrad. = *Bassia prostrata* (L.) A.J. Scott) належить до триби *Camphorosmieae* Moq. родини *Chenopodiaceae* Vent. порядку *Caryophyllales* Juss. ex Bercht. & J. Presl [46]. Зазначимо, що в деяких сучасних системах [44] цю родину, без достатніх на те підстав, включають до складу родини *Amaranthaceae* Juss. [27]. Рід *Kochia* Roth (а також цілу низку інших родів) у сучасних таксономічних обробках часто включають до складу роду *Bassia* All. [46, 47], проте, на нашу думку, доцільнішим є вужче розуміння та визнання родів у цій групі, а саме: *Bassia* s. str., *Kochia* s. str., *Londesia* Fisch. & C.A. Mey., *Pandertia* Fisch. & C.A. Mey., *Kirilowia* Bunge, *Chenoleioides* Botsch., а також новий рід *Semibassia* nom. provis. [Mosyakin, unpublished data]. На території України вид природно росте на степових кам'янистих і крейдяних схилах, солонцюватих степах, засолених пісках переважно на території Степової зони та в Криму. Трапляється він подекуди також і в південних районах Лісостепової зони. Зрідка участь *K. prostrata* фіксується у складі рослинного покриву Закарпаття [30]. Формація *Kochieta prostratae* належить до різнотравно-солонцевої рослинності [17].

Kochia prostrata була одним із типових представників перигляціальних трав'яних фітоценозів, які не мають аналогів у сучасному рослинному покриві України [12, 18, 19, 21, 22]. Зазначимо, що результати палеофлористичних досліджень є досить надійною основою для розширення видової складової викопних палінофлор відкладів пізнього дріасу–голо-

цену України [7, 9, 12, 29]. Значною мірою поступове розширення видової складової визначень компонентів викопних палинофлор відбувається за рахунок використання у практиці спорово-пилкового аналізу новітніх палиноморфологічних розробок [37–42]. Отримані палеофлористичні матеріали дають змогу суттєво деталізувати історію поширення окремих представників флори у просторі та часі [9, 11, 13, 14, 28, 29].

Мета статті – проаналізувати списки видового складу *Chenopodiaceae* у палинофлорах відкладів пізнього дріасу–голоцену рівнинної частини України, визначити в їхньому складі участь *Kochia prostrata*, яка формує екологічну групу степових ксерогалофітів; реконструювати поширення модельного виду в просторі та часі; визначити основні діагностичні ознаки пилку *K. prostrata*, які перспективно використовувати у практиці палеопалинологічних досліджень.

Матеріали та методи

Основні методи досліджень – спорово-пилковий і порівняльно-морфологічний, світлова та сканувальна електронна мікроскопія.

Матеріалом для аналізу й узагальнення відомостей про участь пилку *Kochia prostrata* були викопні палинофлори відкладів пізнього дріасу–голоцену рівнинної частини України. Результати аналітичної обробки палинологічних характеристик відкладів пізнього дріасу–голоцену рівнинної частини України [1–5, 12, 18, 20, 21, 23, 24, 31–33] свідчать, що в контексті наших досліджень на цей час найбільш репрезентативними є палинофлори досліджуваних відкладів 17 розрізів. На правобережжі сучасної лісової зони розташовані розрізи Дорошів (Львівська обл.), Іква–І (Тернопільська обл.) [12], Старники (Рівненська обл.) [15] та Стоянів–II (Львівська обл.) [4, 5]; на лівобережжі – розрізи Кукаринське (Чернігівська обл.), Романьково (Сумська обл.) [12] та Араповичі (Чернігівська обл.) [18]. На території правобережжя сучасної Лісостепової зони розташований розріз Клопотівське (Київська обл.) [12], на лівобережжі – розрізи Лопаньське (Харківська обл.), Оржиця (Полтавська обл.), Чугмак (Черкаська обл.) [12] та досліджені нами нові розрізи Перевал (Дніпропетровська обл.), Комарівка (Харківська обл.) та Перевод (Полтавська обл.). Для правобережжя Степової зони отримано палеофлористичні характеристики відкладів голоцену розрізів Єланець–II (Миколаївська обл.) [10] та Троїцьке–II (Миколаївська обл.) [6], на лівобережжі – розріз Власиха (Херсонська обл.) [8].

Для палиноморфологічних досліджень було використано матеріал із Національного гербарію Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (КН). Для дослідження пилкових зерен під світловим мікроскопом (Biolar) матеріал обробляли за загальноприйнятим ацетолізним методом [45]. Для вивчення пилку під сканувальним електронним мікроскопом (JSM-6060 LA) матеріал фіксували у 96 %-ному етанолі та напилували шаром золота за стандартною методикою [37]. Описували пилкові зерна з використанням загальноприйнятої термінології [25, 34, 48], з певними модифікаціями.

Результати і їхнє обговорення

Отримані нами матеріали палеофлористичних досліджень свідчать про участь пилкових зерен *Kochia prostrata* у складі палинофлор відкладів завершального етапу пізньольодовиків'я (стадія пізній дріас) і голоцену (незавершене міжльодовиків'я). Видова ідентифікація пилку *K. prostrata* дає змогу реконструювати історію поширення цього модельного таксону в просторі й часі на території сучасних Лісової, Лісостепової та Степової зон України (див. таблицю).

Наведені в таблиці узагальнені результати палеофлористичних досліджень дають змогу на рівні окремого модельного таксону видового рівня деталізувати і вносити корек-

Участь пилку *Kochia prostrata* в колективних палінофлорах відкладів пізнього дріасу–голоцену рівнинної частини України

Палінофлори відкладів пізнього дріасу–голоцену					
SA*	SB	AT	BO	PB	DR-3
		Лісова зона, Правобережжя			
—***	—	—	+**	+	+
		Лісова зона, Лівобережжя			
—	+	—	+	+	+
		Лісостепова зона, Правобережжя			
—	—	—	+	+	+
		Лісостепова зона, Лівобережжя			
+	+	+	+	+	+
		Степова зона, Правобережжя			
+	+	+	—	—	—
		Степова зона, Лівобережжя			
+	—	—	—	—	—

Примітки: * Палінофлори відкладів: SA – субатлантичного, SB – суббореального, AT – атлантичного, BO – бореального, PB – пребореального часів голоцену, DR-3 – пізнього дріасу; ** «+» – участь пилкових зерен у викопних палінофлорах; *** «–» – відсутність пилкових зерен у викопних палінофлорах

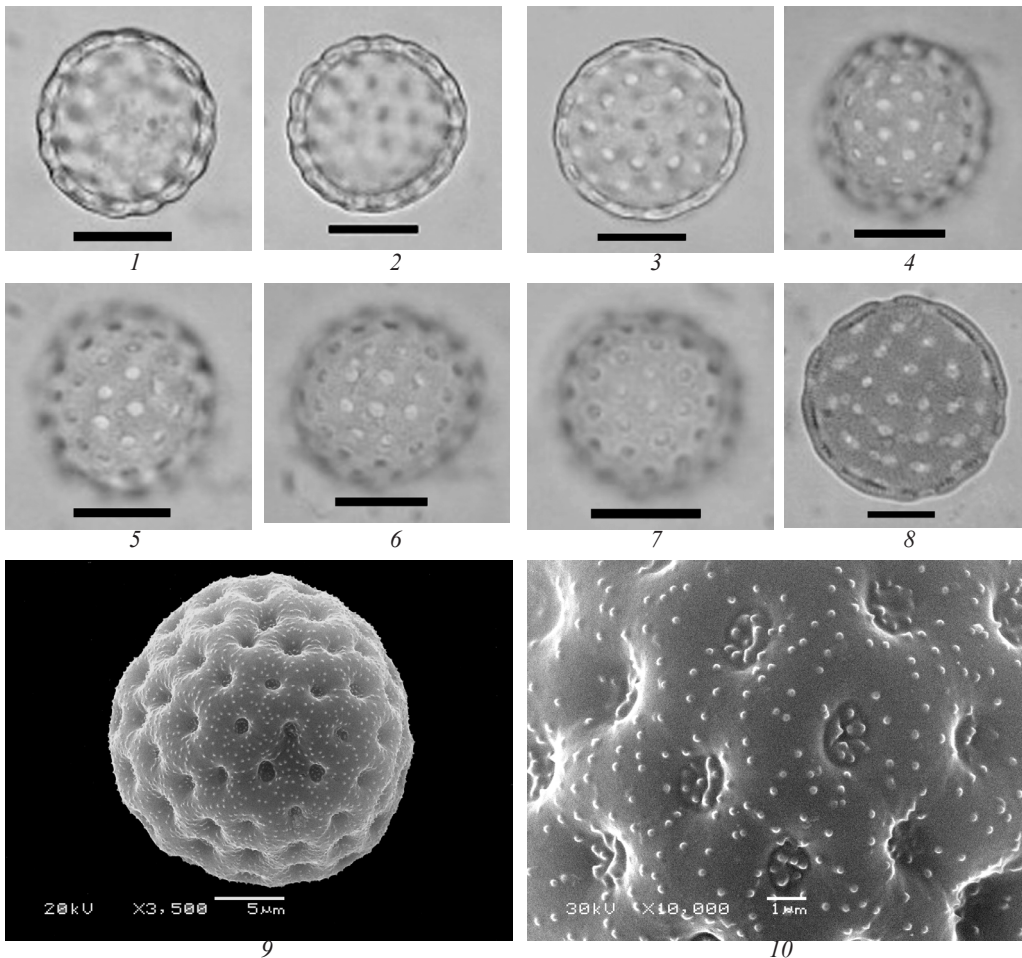
тиви в загальну картину змін рослинного покриву та палеоекологічних умов на рівнинній частині України впродовж пізнього дріасу–голоцену. Важливо, що ці дані обґрунтовують поширення ксерогалофітних рослинних угруповань, у складі яких брав участь цей вид. Встановлено, що *K. prostrata* в пізньому дріасі та впродовж пребореального й бореального часів раннього голоцену був поширений на правобережжі та лівобережжі сучасної Лісової зони і на правобережжі Лісостепової зони. Зазначимо, що на лівобережжі Лісової зони його локальні місцезнаходження фіксуються впродовж суббореального часу голоцену. Отримані палеофлористичні дані дають змогу дійти висновку, що під час розчленування відкладів голоцену наявність або відсутність пилкових зерен *K. prostrata* у складі викопних палінофлор вже сьогодні можна використовувати як додатковий критерій для обґрунтування межі раннього (бореальний час) та середнього (атлантичний час) голоцену в розрізах правобережжя Лісової та Лісостепової зон. На прикладі *K. prostrata* маємо нове підтвердження існування перигляціального типу рослинності в пізньому дріасі та відносно швидкого розпаду цих рослинних комплексів впродовж раннього голоцену [9]. Порівняно зі сучасним ареалом *K. prostrata*, нові палеофлористичні матеріали обґрунтовують суттєве просування цього виду в північному напрямку на правобережжя Лісової та Лісостепової зон впродовж пізнього дріасу та в ранньому голоцені. Встановлено, що найбільшого поширення *K. prostrata* набуває у складі ксерофітної галофільної рослинності на території лівобережжя Лісостепової зони. Можна констатувати, що на прикладі *K. prostrata* досить надійно обґрунтовується поширення в просторі та часі засоленних ґрунтів (солонці, солонцюваті степи, засолені піски тощо) на території рівнинної частини України. Упродовж голоцену найбільшого розвитку ці процеси набули на території лівобережної частини Лісостепової зони. Слід наголосити, що саме для лівобережжя Лісостепової зони характерним є поширення в аллереді–голоцені *Salicornia perennans* Willd. (= *S. prostrata* Pall., nom. illeg.; *S. herbacea* auct. non L.). Цей вид входить до складу рослинних угруповань мокрих солончаків і є індикатором сильно мінералізованого хлоридного засолення ґрунтових вод [26, 28].

Реконструйована нами історія поширення *K. prostrata* на рівнинній Україні в пізньому дріасі–голоцені добре узгоджується з палеопалінологічними матеріалами [3, 16,

28], які обґрунтовують найбільше поширення ділянок засолених ґрунтів різного генезису саме на Лівобережжі сучасної Лісостепової зони.

Наводимо детальну характеристику пилоквих зерен *Kochia prostrata*.

Світловий мікроскоп (див. рисунок, 1–4). Пилкові зерна сфероїдальні за формою, по краю слабо хвилясті, зрідка хвилясті або округлі. Діаметр пилку 25,3–53,2 мкм. Пори в кількості 70–120, округлі, з чіткими або нечіткими краями, облямівка тонка, чітка або нечітка. Скульптурні елементи порової мембрани розташовані по центру або взагалі не проглядаються. Діаметр пор 1,3–2,7 мкм. Відстань між краями пор 1,9–2,7 мкм, між центрами – 3,3–6,0 мкм. Екзина 2,4–3,3 мкм завтовшки. Покрив утричі тонший за стовпчиківий шар. Стовпчики чіткі, короткі, розташовані нерівномірно або нечіткі. Ендекзина дуже тонка, нерівномірно потовщена. Скульптура екзини непомітна. Текстура екзини чітка або нечітка, середньокрапчаста, крапки розташовані густо.



Пилкові зерна *Kochia prostrata*. Світловий мікроскоп: 1–3 – форма та край; 4, 5 – скульптура екзини; 6 – текстура екзини; 7 – окантовка пор; 8 – стовпчиківий шар; сканувальний електронний мікроскоп: 9 – загальний вигляд; 10 – скульптура екзини та порових мембран. Масштабна лінійка: 1–8 – 10 мкм

Сканувальний електронний мікроскоп (див. рис. 5, 6). Скульптура екзини ультрадрібношипикувата. Шипики округлі, з гострою верхівкою, розташовані зі середньою щільністю, більш-менш рівномірно. Скульптура порових мембран ультрадрібношипикувата. Шипиків 4–16, вони трохи відокремлені один від одного, майже однакові за розмірами, розташовані нерівномірно.

Досліджені зразки: 1. Україна. Одеська обл., Белгород-Дністровський р-н. Окрестности пос. Сергеевка. Крутой остепненный склон к Шаболатскому лиману. Много. 27.07.1991, В.Д. Бочкин (KW). 2. Харківська обл., Куп'янський р-н, Сенькове. На степових схилах, рідко. 26.07.2006, Гончаренко, 073645 (KW). 3. Moravia centr. – merid., distr. Brno: locus stepposis ad margines viarum vinearumque in declive merid. – occident. collis Špidlák prope pagum Ůjezd u Brna, cca 200 m s. m., solo loessaceo, una cum: *Festuca sulcata* (Hack.) Nym., *Elytrigia intermedia* (Host.) Nevski, *Stipa capillata* L., *Botriochloa ischaemum* (L.) Keng, *Festuca vallesiaca* Schleich., *Thymus marschallianus* Willd., *Euphorbia virgata* Waldst. et Kit., *Seseli varium* Trev., *Astragalus austriacus* Jacq., *A. onobrychis* L., *Rapistrum perenne* (L.) Crantz, *Eryngium campestre* L. etc. 29 VIII 1962. J. Vicherek (KW).

Нами встановлено, що текстуру екзини, яка раніше не була означена як діагностична, можна використовувати під час визначення пилкових зерен [35, 36, 38]. Для пилкових зерен *K. prostrata* характерна середньокрапчаста текстура екзини. За цією ознакою пилкові зерна *K. prostrata* подібні до пилку *K. laniflora* (S.G. Gmel.) Borbás та *Chenoleoides arabica* (Boiss.) Botsch. (= *Chenolea arabica* Boiss., *Bassia arabica* (Boiss.) Maire & Weiller), але відрізняються за іншими ознаками: більшими розмірами, більшою кількістю пор, меншою відстанню між краями пор і товстішою екзиною.

Використання у практиці спорово-пилкових досліджень відкладів квартеру України комплексу встановлених діагностичних ознак пилкових зерен *K. prostrata* та їхні оригінальні мікрофотографії сприятимуть деталізації палеофлористичних і палеоекологічних реконструкцій, відновленню історії поширення окремих видів у просторі та часі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева О. О. Голоценовая палинофлора северной части Подолья (Украина) // Проблемы современной палинологии: материалы XIII Российской палинол. конф. с междунар. участием (Сыктывкар, Республика Коми, 5–8 сентября 2011 г.). Сыктывкар: ИГ Коми НЦ УрО РАН. 2011. Т. 2. С. 13–18.
2. Артюшенко О. Т. Історія розвитку рослинності Західноукраїнського Полісся в пізньолєодовиковий та післялєодовиковий час на основі спорово-пилкових досліджень // Укр. ботан. журнал. 1957. Т. 14. № 1. С. 12–29.
3. Артюшенко А. Т. Растительность Лесостепи и Степи Украины в четвертичном периоде (по данным спорово-пыльцевого анализа). К.: Наук. думка, 1970. 176 с.
4. Артюшенко А. Т., Арап Р. Я., Безусько Л. Г. История растительности западных областей Украины в четвертичном периоде. К.: Наук. думка, 1982. 136 с.
5. Артюшенко А. Т., Арап Р. Я., Безусько Л. Г. и др. Новые данные о растительности Украины в голоцене // Развитие природы территории СССР в позднем плейстоцене и голоцене. М.: Наука, 1982. С. 173–179.
6. Безусько Л. Г. Нові палинологічні характеристики відкладів голоцену болота Троїцьке–II (Миколаївська область, Україна) // Укр. ботан. журнал. 2010. Т. 67. № 4. С. 560–576.
7. Безусько Л. Г. Палинологічні дослідження відкладів аллереду–голоцену лісостепової зони України: палиностратиграфічні та палеоботанічні аспекти // Зб. наук. праць Ін-ту геолог. наук НАН України. 2013. Т. 6. Вип. 1. С. 216–222.

8. *Безусько Л. Г., Костильов О. В.* Фітоценогічна інтерпретація палинологічних даних на прикладі Чорноморського біосферного заповідника // Укр. ботан. журнал. 1997. Т. 54. № 1. С. 80–86.
9. *Безусько Л. Г., Мосякін С. Л.* Просторово-часова диференціація поширення деяких модельних таксонів перигляціального типу рослинного покриву лісової зони України протягом пізнього дріасу–голоцену // Проблеми обґрунтування регіональних стратонів фанерозою України: матеріали XXXVII сесії Палеонтолог. тов-ва НАН України (Київ, 7–9 вересня 2016 р.). К., 2016. С. 113–115.
10. *Безусько Л. Г., Безусько Т. В., Єсилевський С. О., Ковалюх М. М.* До питання про зміни клімату та рослинності степової зони України в голоцені // Наукові записки НаУКМА. Спец. вип. 2000. Т. 18. Ч. 2. С. 284–287.
11. *Безусько Л. Г., Карпюк Т. С., Безусько А. Г.* Палеохорологія *Alnus fruticosa* Rupr., *Betula pana* L. та *Botrychium boreale* Milde. на рівнинній Україні в пізньому дріасі // Укр. ботан. журнал. 2015. Т. 72. № 1. С. 3–7.
12. *Безусько Л. Г., Мосякін С. Л., Безусько А. Г.* Закономірності та тенденції розвитку рослинного покриву України у пізньому плейстоцені та голоцені. К.: Альтерпрес, 2011. 450 с.
13. *Безусько Л. Г., Карпюк Т. С., Мосякін С. Л., Безусько А. Г.* Палинофлори відкладів аллелереду та пізнього дріасу лівобережжя лісостепової зони України // Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія. 2012. Т. 132. С. 9–14.
14. *Безусько Л. Г., Карпюк Т. С., Мосякін С. Л.* та ін. Палеохорологія деяких рідкісних видів вищих спорових рослин на території Овруцького кряжу в 13 ст. н. е. // Укр. ботан. журнал. 2013. Т. 70. № 6. С. 762–768.
15. *Безусько Л. Г., Каюткіна Т. М., Ковалюх М. М., Артюшенко О. Т.* Палеоботанічні та радіохронологічні дослідження відкладів б. Старники (Мале Полісся) // Укр. ботан. журнал. 1985. Т. 42. № 3. С. 27–30.
16. *Безусько Т. В., Тихоненко Ю. Я.* Реконструкція флори та рослинності за матеріалами розкопок скіфського могильника (урочище Перещепино, Полтавська область) // Укр. ботан. журнал. 1999. Т. 56. № 6. С. 600–605.
17. *Білик Г. І.* Рослинність засоленних ґрунтів України. К.: Вид-во АН УРСР, 1963. 297 с.
18. *Болховская Н. С.* Эволюция лессово-почвенной формации Северной Евразии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1995. 270 с.
19. *Борисова О. К.* Ландшафтно-климатические изменения в умеренных широтах Северного и Южного полушарий за последние 130 000 лет. М.: ГЕОС, 2008. 264 с.
20. *Герасименко Н. П.* Природная среда обитания человека на юго-востоке Украины в позднеледниковье и голоцене (по материалам палеогеографического изучения археологических памятников) // Археологический альманах. Донецк, 1997. № 6. С. 3–64.
21. *Еловичева Я. К.* Опорные разрезы плейстоцена Украины и их корреляция с территорией Беларуси / ИГАН Украины. Мн. БГУ. 2003. 109 с. / Монография депонирована в БелИСА, Минск, 16.06.2003, № Д 2346.
22. *Зеликсон Э. М., Исаева-Петрова Л. С.* Палинологические индикаторы степей (к палеофитоценологической интерпретации спорово-пыльцевых данных) // Палинологические таксоны в биостратиграфии. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1989. Ч. 2. С. 61–67.
23. *Калинович Н., Хармата К.* Реконструкція історії рослинності Верхньодністровської рівнини в голоцені на основі палинологічного аналізу торфових відкладів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2001. Вип. 27. С. 78–99.
24. *Куприянова Л. А., Алешина Л. А.* Пыльца и споры растений флоры европейской части СССР. Л.: Наука, 1972. Т. 1. 170 с.

25. *Кременецкий К. В.* Палеоэкология древнейших земледельцев и скотоводов Русской равнины. М.: Наука, 1991. 193 с.
26. *Моносзон М. Х.* Методические предпосылки индикационной палеофлористики и ее значение для палеогеографических реконструкций // Методические вопросы палинологии. М.: Наука, 1973. С. 20–26.
27. *Мосякін С. Л.* Родини і порядки квіткових рослин флори України: прагматична класифікація та положення у філогенетичній системі // Укр. ботан. журнал. 2013. Т. 70. № 3. С. 289–307.
28. *Мосякін С. Л., Безусько Л. Г., Цимбалюк З. М.* Просторово-часова диференціація поширення *Salicornia perennans* Willd. на рівнинній Україні впродовж аллереду–голоцену // 40 років Палеонтологічному товариству України: матеріали XXXVIII сесії Палеонтолог. т-ва НАН України (Канів, 23–26 травня 2017 р.). К., 2017. С. 167–168.
29. *Мосякін С. Л., Безусько Л. Г., Цимбалюк З. Н.* Степные виды в палинофлорах отложений позднего дриаса–голоцена равнинной части Украины // Актуальные проблемы современной палинологии: материалы XIV Всероссийской палинологической конференции / отв. редакторы Н.С. Болиховская, Т.С. Ключиткина. М.: Географ. ф-т МГУ, 2017. С. 202–205.
30. *Скрипник Н. П.* *Chenopodiaceae* // Определитель высших растений Украины. К.: Наук. думка, 1987. С. 84–93.
31. *Пашкевич Г. А.* Палинологическое исследование разреза стоянки Кормань IV // Многослойная палеолитическая стоянка Кормань IV. М.: Наука, 1977. С. 105–111.
32. *Пашкевич Г. А.* Динамика растительного покрова Северо-Западного Причерноморья в голоцене, его изменения под влиянием человека // Антропогенные факторы в истории развития современных экосистем. М.: Наука, 1981. С. 74–86.
33. *Реслер І., Калинович Н., Хармата К.* Вільшини Верхньодністровської рівнини та історія їх походження // Ю.Д. Клеопов та сучасна ботанічна наука. К., 2002. С. 279–186.
34. *Токарев П. И.* Морфология и ультраструктура пыльцевых зерен. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2002. 51 с.
35. *Цимбалюк З. М.* Палиноморфологія представників родини *Chenopodiaceae* Vent. (для цілей систематики й спорово-пилкового аналізу): автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.05. К., 2005. 22 с.
36. *Цимбалюк З. Н.* Палиноморфологические особенности представителей семейства *Chenopodiaceae* // Ботан. журнал. 2008. Т. 93. № 3. С. 430–438.
37. *Цимбалюк З. М., Мосякін С. Л.* Атлас пилкових зерен представників родин *Plantaginaceae* та *Scrophulariaceae*. К.: ТОВ “Наш формат”, 2013. 276 с.
38. *Цимбалюк З. М., Мосякін С. Л., Безусько Л. Г.* Нові підходи у розробці визначника пилку лободових для цілей пилкового аналізу (таксони флори України) // Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія. 2005. Т. 43. С. 19–25.
39. *Цимбалюк З. М., Мосякін С. Л., Безусько Л. Г.* Морфологія пилку роду *Plantago* L. s.l. (*Plantaginaceae* Juss. s. str.) флори України для цілей спорово-пилкового аналізу // Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія. 2006. Т. 54. С. 24–30.
40. *Цимбалюк З. Н., Безусько Л. Г.* Новые возможности использования пыльцы *Linum usitatissimum* L. в палинологии отложений голоцена // Современная экология – наука XXI века / отв. ред. и сост. проф. Е.С. Иванов: материалы междунар. науч.-практ. конф. (17–18 октября 2008 г.). Рязань: РГУ, 2008. С. 619–622.
41. *Цимбалюк З. М., Безусько Л. Г.* Палиноморфологічні особливості представників роду *Sambucus* L. флори України для цілей спорово-пилкового аналізу // Укр. ботан. журнал. 2017а. Т. 74. № 2. С. 147–155.

42. Цимбалюк З. М., Безусько Л. Г. Паліноморфологія роду *Viburnum* L. (*Viburnaceae* / *Adoxaceae*) флори України для цілей спорово-пилкового аналізу // Укр. ботан. журнал. 20176. Т. 74. № 3. С. 275–283.
43. Angiosperm Phylogeny Group III (APG III). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III // Bot. J. Linnean Soc. 2009. Vol. 161. P. 105–121.
44. Angiosperm Phylogeny Group IV (APG IV). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV // Bot. J. Linnean Soc. 2016. Vol. 181. P. 1–20.
45. Erdtman G. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Stockholm: Almqvist & Wiksell, 1952. 539 pp.
46. Hernández-Ledesma P., Berendsohn W.G., Borsch T. et al. A taxonomic backbone for the global synthesis of species diversity in the angiosperm order *Caryophyllales* // Willdenowia. 2015. Vol. 45. P. 281–383.
47. Kadereit G., Freitag H. Molecular phylogeny of *Camphorosmeae* (*Camphorosmoideae*, *Chenopodiaceae*): Implications for biogeography, evolution of C₄-photosynthesis and taxonomy // Taxon. 2011. Vol. 60(1). P. 51–78.
48. Punt W., Blackmore S., Nilsson S. et al. Glossary of pollen and spore terminology. Utrecht: LPP Found., 1994. 71 pp.

Стаття: надійшла до редакції 21.11.17

прийнята до друку 22.01.18

**DISTRIBUTION OF *KOCHIA PROSTRATA* (*CHENOPODIACEAE*)
IN THE PLAIN PART OF UKRAINE DURING THE LATE DRYAS – HOLOCENE:
PALEOFLORESTIC AND PALINOMORPHOLOGICAL ASPECTS**

L. Bezusko, Z. Tsymbalyuk, S. Mosyakin

*M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine
2, Tereshchenkivska St., Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: allagbez25@gmail.com, palynology@ukr.net*

Results of analysis of paleofloristic data on participation of pollen grains of *Kochia prostrata* (= *Bassia prostrata*) in collective palynofloras of the Late Dryas – Holocene of the Forest (7), Forest-Steppe (7) and Steppe (3) zones of Ukraine. The spatiotemporal differentiation of distribution patterns of *Kochia prostrata* in the plain part of Ukraine is revealed for the first time. The presence of pollen grains of *K. prostrata* in fossil palynofloras allows justifying the distribution of the periglacial type of vegetation in the plain part of Ukraine in the Late Dryas. These paleofloristic results should be used in correcting and refining the reconstruction of the complex pattern of disintegration of the periglacial biota during the Holocene. The case study of *K. prostrata* testifies that saline soils during the Holocene were most widespread in the Left-Bank part (east of the Dnipro) of the Forest-Steppe zone of Ukraine. Diagnostic characters of pollen of *Kochia prostrata* are reported. The following characters are recommended for using in practical paleopalynology: dimensions of pollen grains, number of pores, distance between pore margins, exine texture and thickness.

Keywords: paleofloristics, pollen morphology, *Kochia prostrata*, Late Dryas, Holocene

SYSTEMATIC RELATIONSHIPS AMONG SIX TAXA OF GENUS *ELYMUS*
AS REVEALED BY ELECTROPHORESIS OF SEED PROTEINS

G. Angelov¹, I. Bednarska²

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

e-mail: gbangv@bio.bas.bg

²*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine*

4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine

e-mail: ibednarska@ukr.net

Systematic affinities among *Elymus dahuricus*, *E. repens*, *E. hispidus*, their hybrid *E. x mucronatus*, *E. elongatus*, *E. pycnanthus* were studied by polyacryamide electrophoresis (PAGE) and sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of seed proteins. Affinities among the taxa were assessed by coefficient of taxonomic similarity S. An index of group affinity (GA) was also calculated for each taxon as a sum of its S values. The results indicated that most of studied taxa are nearly equidistantly positioned within the examined group of genus *Elymus*. The species *E. pycnanthus* proved to be most distantly positioned within the group as its index GA (1.08) was the lowest one. The species *E. dahuricus* (GA=1.21) was also comparatively distant within the studied group of genus *Elymus*. It should be noted that the hybrid *E. x mucronatus* is more close positioned to *E. repens* than to the other parent *E. hispidus* as judged by the composition of its seed proteins. The results of the present study clearly showed that within mixed populations of *E. repens*, *E. hispidus* and *E. x mucronatus* well developed hybrid swarms can be observed.

Keywords: Elymus, seed proteins, electrophoresis, systematic affinities

Introduction. *Elymus* (L.) L. is the widest distributed genus of Triticeae tribe and comprises some 150 species worldwide [6]. The main problem in delimitation of *Elymus* arises from the lack of clean-cut morphological traits at generic level and the presence of numerous intergeneric hybrids [9].

Six taxa of genus *Elymus*, namely, *Elymus dahuricus* Turcz. ex Griseb., *E. repens* (L.) Gould, *E. hispidus* (Opiz) Melderis, their hybrid *E. x mucronatus* (Opiz) Konert, *E. elongatus* (Host) Runemark, *E. pycnanthus* (Godron) Melderis were included in the present study. *Elymus repens* is a common, widespread perennial grass, native to Europe and Asia. This species is characterized by wide phenotypic plasticity allowing it to occupy different habitats. *Elymus hispidus* is distributed from Central Asia to C. France in Europe. It occurs in dry, usually sandy or stony habitats. *Elymus hispidus* and *E. repens* can easily crossbreed in nature giving rise to relatively common hybrid *E. x mucronatus* [14]. The genetic variation of *Elymus hispidus* and *E. repens* and its implications for the intraspecific taxonomy were studied by DNA markers [13].

Electrophoretic analysis of seed proteins is widely used for evaluation of systematic relationships, genetic variation of natural populations and cultivars of different plant taxa (10, 3, 12). SDS-PAGE technique is also widely used for seed protein characterization and genotype sample classification [1, 2, 15].

The purpose of the present study was to assess systematic and genetic relationships among the above listed *Elymus* taxa by electrophoresis of seed proteins.

Material and methods

Seeds from natural populations of *E. repens*, *E. hispidus* and their hybrid *E. x mucronatus* were collected in Southern Poland (Niecka Nidziańska Basin) by Dr. M. Szczepaniak. Seed accessions of *Elymus dahuricus*, *E. elongatus* and *E. pycnanthus* were provided by USDA, ARS, WRPIS, Washington State University, Regional Plant Introduction Station.

Proteins of seeds were extracted by 0.01M tris, 0.08M glycine, 20 % sucrose, pH 8.3, ratio seeds: buffer = 1:6. Anodal seeds proteins were electrophoretically resolved in vertical polyacrylamide slab gels (7.5 % separating, 3 % stacking gels) using slightly modified tris-glycine discontinuous system [4]. Acidic vertical polyacrylamide slab electrophoretic system [11] was employed to resolve the cathodal forms with spacer of 3 % and 7.5 separating gel. The length of separating gel was 7 cm (anodal forms), 5 cm (cathodal forms) while spacer was 1 cm long.

Gels were stained with Coomassie Brilliant Blue R-250 (0.1 %) in 10 % acetic acid, 45 % methanol for 2 hours and destained in 10 % acetic acid, 10 % methanol for a night.

Discontinuous sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was performed as described by Gardiner et al. [5]. The stacking gel contained 5 % acrylamide and 12 % acrylamide separating gels were used. The length of stacking and separating gel was 2 cm and 9 cm, respectively.

Affinities among the taxa within the studied group were assessed by coefficient of taxonomic similarity *S* [7]. Values of coefficient *S* for each pair-wise comparison among the taxa were calculated separately for each set of seed proteins (anodal, cathodal, SDS-PAGE). Then, mean values of coefficient *S* as an average on the three data sets were calculated in order to assess affinities among taxa within the studied group of *Elymus*. An index of group affinity (GA) was calculated for each taxon as a sum of its *S* values.

All calculations were done with the STATISTICA 7.0 package (Stat Soft Inc.). The data were analyzed by using Cluster Analysis (Ward's method and Euclidean distances) as well as some univariate statistical methods.

Results and Discussion

Anodal seed proteins. Totally eighteen migrating to the anode electrophoretic bands were detected in the studied taxa of genus *Elymus* (Table 1). Band 53 was shared by all taxa. Excepting *E. pycnanthus*, bands 29 and 32 were common for the studied group. Bands 44, 47 and 50 occurred in all but one taxon. Band 34 was observed in the studied populations of *E. pycnanthus* and *E. hispidus* only. Band 12 proved to be species specific for *E. pycnanthus* while electrophoretic band 45 was characteristic of *E. hispidus*. The values of coefficient of taxonomic similarity *S* varied from 0.13 (*E. x mucronatus* vs *E. hispidus*) to 0.63 in the comparison between *E. dahuricus* and *E. elongatus*. It should be noted that the hybrid *E. x mucronatus* was more close to *E. repens* (*S*=0.53) than to the other parent *E. hispidus* (*S*=0.38) as judged by the composition of their anodal seed proteins. The species *E. pycnanthus* was the most distant taxon within the whole studied group of genus *Elymus*.

Cathodal seed proteins. In total, seventeen cathodally migrating bands were electrophoretically resolved in the studied taxa of genus *Elymus* (Table 2). Bands 30 and 52 were common for all taxa. Bands 32 and 58 were shared by all taxa but one. Excepting *E. elongatus* and *E. pycnanthus*, electrophoretic band 26 was detected throughout the whole studied group of genus *Elymus*. Species pair *E. elongatus* and *E. pycnanthus* shared rare electrophoretic band 60. The species *E. elongatus* possessed unique bands 14 and 64, while electrophoretic bands 12 and 19 were found in the studied populations of *E. pycnanthus* only. Band 46 was characteristic of *E. dahuricus*. Most values of coefficient of taxonomic similarity *S* varied in wide range – from 0.16 (*E. repens* vs *E. pycnanthus*) to 0.58 in the comparison between *E. repens* and *E. dahuricus*. It could be noticed that the hybrid *E. x mucronatus* was more close to *E. repens* (*S*=0.73) than to

the other parent *E. hispidus* ($S=0.17$) as revealed by the profiles of their cathodal seed proteins. The values of coefficient of taxonomic similarity S as well the existence of species specific bands evidenced that the species *E. elongatus* and *E. pycnanthus* were most distantly positioned taxa within the whole studied group of genus *Elymus*.

SDS-PAGE seed proteins. Totally twenty three protein bands were resolved by SDS-PAGE in the examined group of genus *Elymus* (Table 3). Six electrophoretic bands, namely 29, 34, 39, 60, 71, 74 were observed in all studied taxa. Bands 47, 55 and 64 were shared by all but one taxon. Band 26 was rare as it was found in *E. dahuricus* and *E. repens* only. Similarly, electrophoretic bands 36 and 58 were common for species pairs *E. x mucronatus* – *E. hispidus* and *E. repens* – *E. x mucronatus*, respectively. Bands 16 and 21 were species-specific for *E. elongatus* while electrophoretic band 66 was unique for *E. dahuricus*. The values of coefficient of taxonomic similarity S varied from 0.09 (*E. dahuricus* vs *E. repens*) to 0.75 in the comparison between *E. pycnanthus* and *E. elongatus*. It should be noted that the hybrid *E. x mucronatus* is more close positioned to *E. repens* ($S=0.45$) than to the other parent *E. hispidus* ($S=0.32$) as judged by the composition of their SDS-PAGE seed proteins.

Table 1

Banding profiles of anodal seed proteins in the studied taxa of *Elymus*.

1 – band present, 0 – band absent. Each band was designated by a number reflecting its migration (in mm) from the origin

Taxon	Electrophoretic band																	
	5	11	12	17	20	22	24	26	29	32	34	35	40	44	45	47	50	53
<i>E. dahuricus</i>	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1
<i>E. repens</i>	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1
<i>E. x mucronatus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1
<i>E. hispidus</i>	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1
<i>E. elongatus</i>	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1
<i>E. pycnanthus</i>	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1

Table 2

Banding profiles of cathodal seed proteins in the studied taxa of *Elymus*.

1 – band present, 0 – band absent. Each band was designated by a number reflecting its migration (in mm) from the origin

Taxon	Electrophoretic band																
	12	14	19	26	30	32	35	40	42	44	46	48	52	55	58	60	64
<i>E. dahuricus</i>	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
<i>E. repens</i>	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>E. x mucronatus</i>	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>E. hispidus</i>	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
<i>E. elongatus</i>	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
<i>E. pycnanthus</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0

Table 3

Banding profiles of SDS-PAGE seed proteins in the studied taxa of *Elymus*.

1 – band present, 0 – band absent. Each band was designated by a number reflecting its migration (in mm) from the origin

Taxon	Electrophoretic band																						
	16	21	24	26	29	32	34	36	39	41	43	45	47	49	51	55	58	60	64	66	71	74	80
<i>E. dahuricus</i>	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
<i>E. repens</i>	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1
<i>E. x mucronatus</i>	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
<i>E. hispidus</i>	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1
<i>E. elongatus</i>	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0
<i>E. pycnanthus</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0

Table 4

Mean values of coefficient of taxonomic similarity S for each pair-wise comparison among the studied taxa of *Elymus*

Taxon	Coefficient of taxonomic similarity S					
	1	2	3	4	5	6
<i>E. dahuricus</i>	1.00					
<i>E. repens</i>	0.36	1.00				
<i>E. x mucronatus</i>	0.29	0.58	1.00			
<i>E. hispidus</i>	0.12	0.35	0.23	1.00		
<i>E. elongatus</i>	0.27	0.15	0.24	0.24	1.00	
<i>E. pycnanthus</i>	0.17	0.16	0.16	0.23	0.39	1.00

Mean values of coefficient S for all pair-wise comparisons among the studied taxa calculated as an average on the three S data sets (anodal, cathodal, SDS-PAGE seed proteins) are presented in Table 4. The dendrogram of Cluster analysis based on this coefficient is shown on Fig. 1.

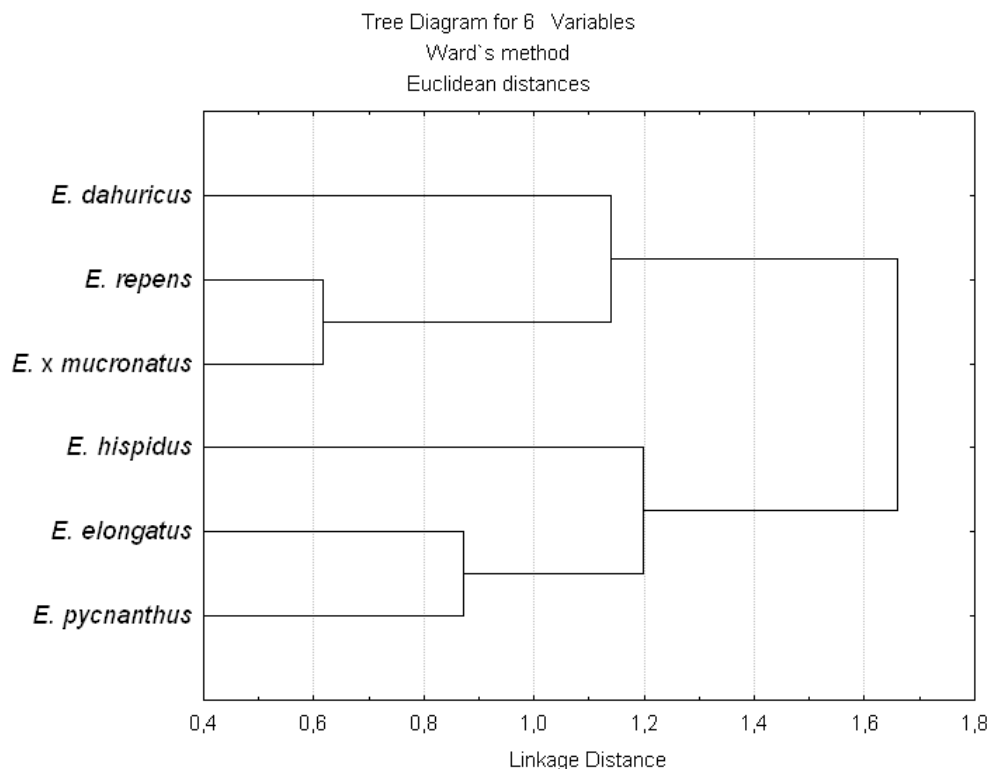


Fig. 1. The dendrogram of Cluster analysis for six *Elymus* species on the base S coefficient

As it could be seen, values ranged from 0.13 in the comparison between *E. pycnanthus* and *E. x mucronatus* to 0.58 when the latter taxon was contrasted to *E. repens*. Most of coefficient S values were within the range of 0.23 – 0.39 which is an indication for nearly equidistant position for the most of studied *Elymus* taxa. Index of group similarity contributed to revealing systematic relationships within the examined group of genus *Elymus*. Lower values of index GA mean greater distance for given taxon, and vice versa, higher values indicate a closer affinity within the group. The species *E. pycnanthus* proved to be most distantly positioned within the group as its index GA (1.08) was the lowest one. The species *E. dahuricus* (GA=1.21) was also comparatively

distant within the studied group of genus *Elymus* (Fig. 1.). Values of GA for the rest of taxa were varying from 1.25 (*E. elongatus*) to 1.60 for *E. repens*. As a whole, index GA also indicated that most of studied taxa are nearly equidistantly positioned within the examined group of genus *Elymus*. It should be emphasized that the hybrid *E. x mucronatus* is more close positioned to *E. repens* (Fig. 1.) than to the other parent *E. hispidus* as judged by the composition of its seed proteins. Analysis of polyphenol compounds and isoenzymes led to similar conclusions (unpubl. res.). These inferences are different from previous cpDNA [8] and AFLP [14] studies that suggested more close affinity of *E. x mucronatus* to *E. hispidus* and unidirectional introgression. However, it cannot be excluded that F1 or later-generation hybrids may also backcross with *E. repens*, which suggests possibility of bidirectional introgression towards both parental species. The previous and present studies clearly showed that within mixed populations of *E. repens*, *E. hispidus* and *E. x mucronatus* well developed hybrid swarms can be observed.

Acknowledgements. I cordially thank Dr. M. Szczepaniak who kindly provided Polish seed materials. Thanks are also due to the staff of USDA, ARS, WRPIS, Washington State University, Regional Plant Introduction Station for providing seed accessions.

REFERENCES

1. Aiken S., Gardiner E., Basset K. et al. Implications from SDS-PAGE analyses in the classification of taxa of *Festuca* and *Lolium* (Poaceae) // Biochem. Syst. Ecol. 1998. Vol. 26. P. 51–533.
2. Aiken S., Gardiner E., Forde M. Taxonomic implications of SDS-PAGE analyses of seed proteins in North American taxa of *Festuca* subgenus *Festuca* (Poaceae) // Biochem. Syst. Ecol. 1992. Vol. 20. P. 615–629.
3. Carreras M., Fuentes E., Merina M. Seed proteins patterns of nine species of *Cactaceae* // Biochem. Syst. Ecol. 1997. Vol. 25. P. 43–49.
4. Davis B. Disc electrophoresis. I. Method and application to human serum proteins // Ann. New York Acad. Sci. 1964. Vol. 12. P. 404–427.
5. Gardiner S., Forde M., Slack C. Grass cultivar identification by sodium dodecylsulphate polyacrylamide electrophoresis // New Zeland J. Agricult. Res. 1986. Vol. 29. P. 193–206.
6. Jensen K., Chen S. Systematic relationships of *Elymus* and *Roegneria* (Poaceae) // Hereditas. 1992. Vol. 116. P. 127–132.
7. Krzakova M., Melosik I. Taxonomic value of electrophoretically detected peroxidase patterns in four *Sphagnum* species // Plant Peroxidase Newsletters. 2000. Vol. 14. P. 21–27.
8. Mahelka V., Fehrer J., Krahulec F., Jarolimová V. Recent natural hybridization between two allopolyploid wheatgrasses (*Elytrigia*, Poaceae): ecological and evolutionary implications // Ann. Bot. 2007. Vol. 100. P. 249–260.
9. Melderis A. J. Taxonomic notes on the tribe Triticeae, with special referenceto the genera *Elymus* L. sensu lato, and *Agropyron* Gaertner sensu lato // Bot. J. Linn. Soc. 1978. Vol. 76. P. 316–320.
10. Raymond J., Inquello V., Azanza I. The seed proteins of sunflower: comparative study of cultivars // Phytochem. 1991. Vol. 30. P. 2849–2856.
11. Reisfeld R., Lewis U., Williams D. Disc electrophoresis of basic proteins and peptides on polyacrylamide gels // Nature. 1962. Vol. 195. P. 281–283.
12. Savoy C. Peanut (*Arachis hypogea*) seed protein characterization and genotype sample classification using PAGE // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1976. Vol. 68. P. 886–895.

13. Szczepaniak M., Cieślak E. Assessment of genetic variation in *Elymus repens* and *E. hispidus* using AFLP markers and its implications for intraspecific taxonomy: in Frey L. (ed.), "Problems of grass biology", W. Szafer Institute of Botany, Kraków, 2003. P. 271–286.
14. Szczepaniak M., Cieślak E., Bednarek P. Natural hybridization between *Elymus repens* and *E. hispidus* assessed by AFLP analysis // Acta Soc. Bot. Pol. 2007. Vol. 76. N 3. P. 225–234.
15. Turi N., Farhatullah M., Rabani A. et al. Study of total seed storage protein in indigenous brassica species based on SDS-PAGE electrophoresis // Afr. J. Biotechnol. 2010. Vol. 9. P. 7595–7602.

Стаття: надійшла до редакції 13.12.16

прийнята до друку 13.10.17

СИСТЕМАТИЧНІ ЗВ'ЯЗКИ МІЖ ШІСТЬОМА ТАКСОНАМИ РОДУ *ELYMUS* ЗА ДАНИМИ ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ БІЛКІВ НАСІННЯ

Г. Ангелов¹, І. Беднарська²

¹Інститут Біорізноманіття та Вивчення Екосистем
Болгарської академії наук

вул. акад. Г. Бончева, 23, Софія, Болгарія
e-mail: jorkata_1953@mail.bg

²Інститут екології Карпат НАН України
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна
e-mail: ibednarska@ukr.net

Систематична спорідненість між *Elymus dahuricus*, *E. repens*, *E. hispidus*, їхнім гібридом *E. x micronatus*, *E. elongatus* та *E. rusanthus* була вивчена за допомогою поліакриламідного електрофорезу (PAGE) та електрофорезу в додецилсульфатному поліакриламідному гелі (SDS-PAGE) білків насіння. Ступінь спорідненості між таксонами оцінювали за коефіцієнтом таксономічної подібності S. Індекс групової спорідненості (GA) також був розрахований для кожного таксона як сума його значень S. Результати показали, що більшість досліджених таксонів є майже рівнодистанційно віддалені один від одного в межах дослідженої групи роду *Elymus*. З-поміж усіх видів *E. rusanthus* виявився найбільш відмежованим, оскільки його індекс GA (1.08) був найменшим. Інший вид – *E. dahuricus* (GA = 1.21) також показав істотні відмінності у досліджуваній групі роду *Elymus*. Поряд із цим, виходячи зі складу білків насіння, гібридний нототаксон *E. x micronatus* перебуває ближче до *E. repens*, ніж до іншого батьківського виду, яким є *E. hepusus*. Результати проведеного дослідження чітко показали, що у змішаних популяціях *E. repens*, *E. hepusus* та *E. x micronatus* можна спостерігати добре розвинені численні скупчення гібридів.

Ключові слова: *Elymus*, білки насіння, електрофорез, систематична спорідненість

ГЕНЕТИКА

УДК:634.8:581.167:631.532

**ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ ВИНОГРАДУ (*VITIS VINIFERA* L.)
З ВИКОРИСТАННЯМ МІКРОСАТЕЛІТНИХ МАРКЕРІВ**

О. Карастан, Н. Мулюкіна, О. Папіна, Г. Плачинда

*Національний науковий центр
«Інститут виноградарства і виноробства імені В.Є. Таїрова»
вул. 40-річчя Перемоги, 55/8, смт Таїрове, Овідіопільський р-н
Одеська обл. 65496, Україна
e-mail: olga.karastan@gmail.com*

Алельні характеристики мікросателітних локусів ДНК (VVS2, ZAG62, VVMD7, VVMD27, VVMD5, VVMD25, VVMD28, ZAG79, VVMD32) 80 сортів і форм винограду використано для обчислення основних показників генетичного різноманіття. Значення цих показників коливались у межах: кількість алелів N_a – від 8 (VVMD25) до 18 (VVMD28); ефективна кількість алелів N_e – від 4,90 (VVMD32) до 8,57 (ZAG79); очікувана гетерозиготність H_e – від 0,744 (VVMD25) до 0,883 (ZAG79); наявна гетерозиготність H_o – від 0,3823 (VVMD25) до 0,925 (ZAG79), ймовірність виникнення нульових алелів r від -0,009 (VVMD32) до -0,051 (VVMD27), вірогідність ідентичності PI від 0,024 (VVMD32) до 0,109 (VVMD25), індекс фіксації Райта F від -0,026 (VVMD5) до -0,115. Виявлено 720 генотипів мікросателітних локусів, серед яких 91 – гомозиготний, 629 – гетерозиготні. Для високополіморфного локусу VVMD32 визначена найбільша гомозиготність серед усіх досліджених локусів, що може вказувати на домінування певних алелів цього локусу в даному регіоні. Визначені нами параметри генетичного різноманіття загалом виявилися подібними до аналогічних досліджень інших авторів.

Ключові слова: генетичні ресурси, генетичне різноманіття, мікросателітні маркери, виноград, *V. vinifera* L.

Генетична мінливість живих організмів, зокрема, винограду, існує в природі у вигляді генетичних ресурсів. Конвенція ООН «Про охорону біологічного різноманіття» від 1992 р. (ратифіковано державою Україна у Законі «Про ратифікацію Конвенції про охорону біологічного різноманіття» N 257/94-ВР від 29.11.94) визначає «генетичні ресурси» як «будь-який матеріал, що містить функціональні одиниці спадковості та становить фактичну або потенційну цінність» [13].

Генетичними ресурсами рослин вважаються [3] гермоплазма (живі рослини та життєздатний насінневий (посадковий) матеріал) і органи вегетативного розмноження.

Генетичні ресурси винограду включають усіх представників сімейства *Vitaceae* (Lindl.) Juss., серед яких найбільше господарське значення має рід *Vitis* (Tournef.) L. [4]. До підвиду *V. vinifera* L. ssp. *sativa* (далі *V. sativa*) входять стародавні та сучасні сорти, а також клони сортів винограду; підвид *V. vinifera* L. ssp. *silvestris* Gmel. (*V. silvestris*) включає представників винограду лісового.

З усього різноманіття сортів винограду *V. sativa*, що оцінюється приблизно у 5–6 тисяч сортів, менш ніж 400 мають комерційне значення [23, 35, 42]. Таким чином, більша частина генетичних ресурсів *V. sativa* представлена лише у колекціях зародкової плазми

[11], базовою концепцією яких є підтримка максимального рівня генетичного різноманіття за мінімальної кількості зразків [6].

Через культивування обмеженої кількості сортів сільськогосподарських культур, у тому числі винограду, спостерігається генетична ерозія зародкової плазми та є небезпека втратити значну кількість генетичного матеріалу, що формувався протягом багатьох століть у вигляді регіональних і місцевих сортів.

У винограду більшість важливих ознак має складний тип успадкування та є результатом взаємодії великого числа генів, через це кожен сорт винограду являє собою унікальний і складний генний комплекс, який формує неповторні особливості сорту, в тому числі смакові характеристики вина, яке виробляється з нього [7].

Усі ці фактори обумовлюють зростання інтересу до інвентаризації, дослідження походження та генетичного різноманіття зародкової плазми [40].

Проблеми, що виникнуть у майбутньому через довгострокові наслідки «генетичної ерозії» винограду досі ретельно не аналізувалися, але вже було анонсовано вплив кліматичних змін і глобального потепління на географічний розподіл виноградників і стійкість якості вина [22], а також на зміну взаємодій «хазяїн-патоген» [29].

У штучних популяціях не працює більшість факторів популяційної динаміки, тому сьогоденні колекції сортів винограду майже не демонструють характеристик популяцій, що еволюціонують природним шляхом [25].

Оцінка різноманіття наявних генетичних ресурсів дуже важлива для визначення основних стратегій їхнього збереження та використання, наприклад, у генетичній трансформації або селекції рослин [8]. Можливість прогнозування кількісних генетичних параметрів, таких як гетерозис або варіабельність нащадків, збільшить ефективність селекційних програм шляхом створення найбільш перспективних гібридизаційних комбінацій [5].

На сьогоднішній день більшість виноробних країн світу приєдналася до ініціативи інвентаризації наявних і створення нових колекцій винограду з метою збору, оцінки та збереження генетичних ресурсів винограду [7, 37].

Генетичні ресурси винограду в Україні в основному зосереджені в ампелографічних колекціях ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова» (далі ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова») та Інституту винограду й вина «Магарач» і потребують ретельної інвентаризації, насамперед для збереження цінних генотипів і оцінки генетичного різноманіття з метою його подальшого ефективного використання.

Тому **метою** даної роботи було визначити основні показники генетичного різноманіття вибірки сортів і форм винограду.

Матеріали та методи

Для оцінки генетичного різноманіття вибірки сортів і форм винограду ампелографічної колекції Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства ім. В. Є. Таїрова» в даній роботі було використано алельні характеристики 9 мікросателітних локусів (VVS2, ZAG62, VVMD7, VVMD27, VVMD5, VVMD25, VVMD28, ZAG79, VVMD32).

Основні показники генетичного різноманіття, такі як кількість алелів N_a , очікувана гетерозиготність H_e [8], наявна гетерозиготність H_o , ймовірність виникнення нульових алелів r , вірогідність ідентичності PI [36] та відношення правдоподібності (likelyhood ratio) обчислено за допомогою комп'ютерної програми Identity 4.0 [41] (відкритий доступ). Дана програма також використовується для виявлення ідентичних генотипів і можливих родинних зв'язків між особинами у вибірці.

Ефективна кількість алелів N_e , індекс фіксації Райта F [42], кількість гомо- та гетерозигот обчислені ручним способом.

Результати і їхнє обговорення

У роботі проаналізовано генетичне різноманіття вибірки 80 сортів і форм винограду на рівні алелів, локусів та популяції загалом.

Генотипи локусів, у складі яких виявлено нульовий алель, розглядались як гетерозиготні, замість гомозиготних.

Загалом виявлено 108 алелів у дев'яти досліджуваних мікросателітних локусах.

Серед проаналізованих сортів і форм винограду подібно до інших досліджень [27, 34] найбільшу кількість алелів спостерігали в локусі VVMD28 (18 алелів), найменшу – в локусі VVMD25 (8 алелів) (табл. 1).

Таблиця 1

Параметри оцінки генетичного різноманіття досліджуваної вибірки зразків винограду за дев'ятьма мікросателітними локусами

Локус	N_a	N_e	H_e	H_o	R	PI	Число гомозигот	Число гетерозигот	F
VVS2	13	6,17	0,838	0,900	-0,034	0,045	8	72	-0.074
ZAG62	10	5,13	0,805	0,838	-0,018	0,063	12	68	-0.040
VVMD7	11	5,40	0,815	0,863	-0,026	0,058	11	69	-0.058
VVMD27	9	5,19	0,808	0,900	-0,051	0,065	7	73	-0.115
VVMD5	12	6,29	0,841	0,863	-0,012	0,042	11	69	-0.026
VVMD25	8	3,90	0,744	0,823	-0,040	0,109	14	66	-0.106
VVMD28	18	6,75	0,852	0,900	-0,013	0,038	8	72	-0.056
ZAG79	14	8,57	0,883	0,925	-0,016	0,024	6	74	-0.047
VVMD32	13	4,90	0,796	0,828	-0,009	0,065	14	66	-0.040
Загальна:	108					$2,94 \times 10^{-12}$	91	629	
Середня:	12	5,81	0,820	0,871	-0,024	0,057			-0.063
Загалом 720 генотипів									

Примітка: N_a – кількість алелів; N_e – ефективна кількість алелів; H_e – очікувана гетерозиготність; H_o – ймовірність нульового алеля; H_e – наявна гетерозиготність; PI – ймовірність ідентичності; F_{IS} – індекс фіксації Райта

Середнє число алелів у дев'яти досліджених локусах становило 12, що виявилось значно більшим, ніж у роботі З. Гальбакс зі співавт. [33] (8,6 у 116 сортів). Величина цього показника залежить від розміру вибірки, тому для аналізу генетичного різноманіття окремої популяції або порівняння генетичного варіювання між різними популяціями більш інформативним є показник ефективної кількості алелів на локус [16].

Ефективна кількість алелів (N_e) – це число алелів, за однакової частоти яких у популяції очікувана гетерозиготність буде дорівнювати наявній [1]. У дослідженій нами вибірці сортів середнє значення даного показника становило 5,81. М.А. Кадиров зі співавт. [2] відзначають, що практично в усіх досліджених популяціях тварин і рослин значення N_e нижче, ніж абсолютне число алелів (N_a) на локус. І справді, на підтвердження даної тези, у більшості проаналізованих нами опублікованих досліджень винограду, які включали оцінку популяційно-генетичних параметрів, середнє значення N_e завжди становило приблизно половину від середнього значення N_a [28, 33, 40]. Проте в оцінці Т. Джамбазовою зі співавт. [17] генетичного різноманіття 26 болгарських сортів винограду, серед яких 11 – стародавні рідкісні місцеві сорти, середнє значення N_e (5,45) становило більш ніж 50 % від середнього значення N_a (8,85). Аналогічне явище спостерігалось у роботі словацьких дослідників [10] під час аналізу 51 традиційного європейського сорту.

На цьому фоні викликає інтерес робота дослідників [26], які проаналізували за допомогою 10 мікросателітних маркерів 2275 зразків винограду (серед яких виявлено 1085 окремих генотипів) і обчислили середнє значення ефективної кількості алелів у 6,19 за середньої абсолютної кількості алелів – 22,68. Даний факт, на думку авторів, можна пояснити «зависокими та занижкими частотами алелів», що обумовили таке «помірне значення ефективної кількості алелів».

Проте, на нашу думку, причиною може бути близька генетична спорідненість значної частини досліджених зразків, оскільки обчислений у роботі авторами індекс фіксації Райта, що оцінює наслідки інбридингу, виявив надлишок гомозигот у кількості від 10,4 до 12,4 % серед зразків підщеп і дикого винограду (які становили чверть від обсягу вибірки). На відміну від цього, у зразків *V. vinifera* L. та міжвидових гібридів значення індексу фіксації коливалося від 1 до 2 %.

У нашому дослідженні очікувана гетерозиготність H_e за дев'ятьма мікросателітними локусами варіювала від 0,744 (у локусі VVMD25) до 0,883 (у локусі ZAG79), що становило трохи більші значення, порівняно з даними аналізу К. Сефк зі співавт. (0,667-0,819) європейських сортів винограду [25] та З. Гальбакс зі співавт. [20] (0,696-0,888) угорських сортів винограду.

Даний факт можна пояснити гетерогенністю досліджуваної вибірки, яка включає значну кількість прямих нащадків азійських сортів Чауш рожевий, Катта курган, Султаніна, Кишмиш чорний, Афуз Алі тощо та зразки винограду міжвидового походження з *V. amurensis* у складі геному.

З іншого боку, отримані нами значення наявної гетерозиготності H_e досліджуваних зразків винограду можуть бути трохи заниженими через наявність у складі вибірки кількох груп близькоспоріднених сортів.

Одну з таких груп становить гібридна сім'я (англ. kingroup) сорту Дат'є де Сен Вальє. Сорти Ланка, Огоньок таїровський, Етюд і Смена є сибсами гібридизаційної комбінації Дат'є де Сен Вальє та Декоративний. П'ять сортів винограду (Загадка, Оригінал, Оригінал білий, Стійкий Докучаєвої, Таїр) – це прямі нащадки сорту Дат'є де Сен Вальє. Для зразків Кобзар, Одісей, Рум'яний і Таїрян сорт Дат'є де Сен Вальє є прабацьківським.

Іншу групу спорідненості формує сорт Чауш рожевий і його прямі нащадки – сорти Кишмиш ОСГІ, Мечта, Мускат жемчужний, Оригінал, Український 85. Для зразків Шкода, Оригінал білий і Опаловий сорт Чауш рожевий є прабацьківським.

Ще одна група пов'язаних родинними зв'язками сортів – це сорт Жемчуг Саба та його прямі (Мускат жемчужний, Іршаї Олівер, Королева виноградників) і непрямі (Український 85, Шкода, Опаловий, Кардинал) нащадки.

У трьох локусах (VVMD25, VVMD28 та ZAG79) п'яти зразків у рамках вибірки виявлено нульові алелі, тобто алелі, що не ампліфікуються через ймовірну мутацію в сайті праймування [15]. У локусі VVMD25 сорт Аркадія успадкував нульовий алель від сорту Молдова, а в локусі VVMD28 сорт Подарунок селекціонера отримав нульовий алель від сорту Кобзар (рис. 1).

Нульовий алель у генотипі локусу ZAG79 сорту Одеський сувенір, можливо, є мутацією саме цього сорту, оскільки його батьківські сорти Соагна неагра та Мускат гамбурзький гетерозиготні в даному локусі.

При цьому визначений у рамках дослідження показник ймовірності нульового алеля r у всіх локусах демонстрував негативні значення, що є свідченням низької вірогідності існування нульових алелів.

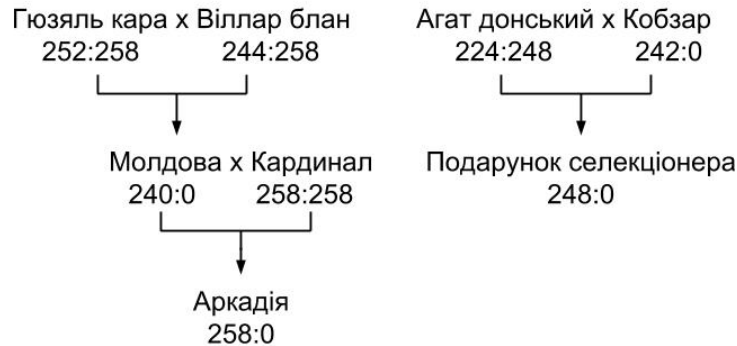


Рис. 1. Успадкування сортами Аркадія та Подарунок селекціонера нульових алелів від їхніх батьківських сортів; цифрами позначено розміри алелів у п. н.; 0 – нульовий алель

Як зазначають автори [20, 31], навіть локуси із позитивним показником r не обов'язково містять нульовий алель, оскільки даний показник ϵ , скоріш за все, індикатором надлишку гомозигот.

Сорти колекції ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова», в генотипах яких було виявлено нульовий алель, за відсутності мутації, що могла призвести до його виникнення, все одно мали би гетерозиготний генотип, оскільки їхні батьківські форми є гетерозиготними у даних локусах. Тому урахування локусів із нульовими алелями гетерозиготними замість гомозиготних, на нашу думку, не вплинуло суттєво на показники різноманітності, які були обчислені на основі алельних характеристик досліджуваних зразків винограду.

Середнє значення очікуваної гетерозиготності становило 0,820, що трохи нижче, ніж отримані в дослідженнях П. К. Д. С. Ляо зі співавт. [39] (0,848), проте перевищує аналогічний показник, обчислений в інших роботах – 0,749 [34]; 0,76 [24]; 0,78 [14]; 0,785 [27]; 0,786 [16]; 0,795 [19].

Наявна гетерозиготність H_o варіювала між величинами 0,823 (локус VVMD25) та 0,925 (локус ZAG79) зі середнім значенням 0,871, що виявилось значно вище, ніж (0,743) у Н. Стайнер зі співавт. [34] під час генотипування 59 сортів 14 маркерами SSR; (0,796) у Ф. Емануеллі зі співавт. [12] під час аналізу 116 сортів 12 маркерами; (0,74) у Т. Джамбазової зі співавт. [10] під час дослідження 1085 зразків винограду 10 маркерами; (0,773) у Ф. І. Пелероне зі співавт. [27] під час генотипування 489 зразків винограду 9 маркерами; (0,77) у Т. Лакомба зі співавт. [14] під час аналізу 74 сортів 9 маркерами.

У всіх досліджених локусах розрахункова величина наявної гетерозиготності виявилася вищою за очікувану гетерозиготність.

Параметр ймовірності ідентичності (англ. probability of identical genotypes, PI) [32] становить середню ймовірність виявлення у двох неспоріднених особин однієї популяції однакового мультилокусного генотипу та використовується для оцінки придатності вибраного ряду маркерів дискримінувати сорти у рамках досліджуваного генетичного пулу [30].

Найбільш інформативним за цим показником виявився локус ZAG79 із $PI = 0,024 \times 10^{-12}$, аналогічно даним [39] та [14] ($PI = 0,06 \times 10^{-12}$), в той час як найменш інформативним був локус VVMD25 ($PI = 0,109 \times 10^{-12}$).

Сумарне значення вірогідності ідентичності становило $2,95 \times 10^{-12}$, подібно до [12] ($1,67 \times 10^{-12}$) та [27] ($6,93 \times 10^{-12}$), що, з одного боку, свідчить про високий рівень поліморфізму використаних у дослідженні мікросателітних локусів, а з іншого, як відмічають автори [18], є наслідком завідомого обрання високополіморфних маркерів для роботи.

Найбільш гомозиготними виявилися локуси VVMD32 та VVMD25, у яких виявлено по 14 гомозиготних генотипів. При цьому локус VVMD32 є високополіморфним, який у рамках досліджуваної вибірки виявив 13 алелів, а локус VVMD25 показав лише 8 алелів.

Істотна кількість гомозигот у локусі VVMD32, попри значну поліморфність, може бути наслідком домінування певних алелів у різних регіонах культивування, як було відмічено [11, 25, 41]. Найменша гомозиготність спостерігалась у локусі ZAG79 (шість генотипів). Відповідно, максимальну кількість гетерозигот виявлено у локусі ZAG79 (74 генотипи), мінімальну – VVMD32 та VVMD25 (66 генотипів). Загалом, серед 720 виявлених генотипів мікросателітних локусів 91 був гомозиготний, 629 – гетерозиготні.

Для оцінки міри генетичних наслідків інбридингу особини щодо досліджуваної вибірки сортів було визначено показник інбридингу F_{is} , який показує ймовірність того, що особина є гомозиготною та обидва (однакових) алелі ідентичні за походженням, тобто успадковані від однієї прабатьківської форми деякого попереднього покоління.

Величина F_{is} у нашому дослідженні варіювала в межах від -0,115 (в локусі VVMD27) до -0,026 (в локусі VVMD5) зі середнім значенням -0,063. Від'ємне значення показника інбридингу свідчить про 6,3 % надлишок гетерозигот у даній вибірці сортів і, відповідно, відсутність суттєвого впливу інбридингу на генетичну структуру особин у складі вибірки.

Таким чином, показники генетичного різноманіття зразків досліджуваної вибірки, незважаючи на наявність кількох груп близькоспоріднених зразків винограду, загалом відповідали параметрам, обчисленим в аналогічних дослідженнях.

Дану роботу проведено в лабораторіях молекулярної генетики ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова» й АгроБіоінституту (м. Софія, Болгарія) у рамках виконання двостороннього українсько-болгарського проекту «Оцінка генетичного різноманіття винограду України та Болгарії за допомогою молекулярних маркерів».

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика: в 3-х т. / пер. с англ. М.: Мир, 1988. Т. 3. 335 с.
2. Кадьоров М. А., Горелик В. В. Организационные основы работы с генетическими ресурсами растений в Европе и Беларуси // Генетические основы селекции растений: в 4 т. Минск: Беларус. навука, 2012. С. 455.
3. Носульчак В. А., Трошин Л. П. Краткий анализ мирового генофонда винограда и принципы формирования ампелографической коллекции России // Виноград и вино России. 1998. Спец. вып. С. 11–14.
4. Bohn M., Utz H. F., Melchinger A. E. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs and SSRs and their use for predicting progeny variance // Crop Science. 1999. Vol. 39. P. 228–237.
5. Bouquet A., Adam-Blondon A. F., Martinez-Zapater J. M., Kole C. Grapevines and Viticulture: Genetics, Genomics, and Breeding of Grapes. CRC Press, 2011.
6. Cipriani G., Spadotto A., Jurman I. et al. The SSR-based molecular profile of 1005 grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions uncovers new synonymy and parentages, and reveals a large admixture amongst varieties of different geographic origin // Theor. Appl. Genet. 2010. Vol. 121. N 8. P. 1569–1585.
7. Convention on Biological Diversity [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.cbd.int/convention/text/default.shtml>.
8. Dangl G. S., Mendum M. L., Prins B. H. et al. Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: a tool for managing a grape germplasm collection // Genome. 2001. Vol. 44. N 3. P. 432–438.

9. Doulati-Baneh H., Mohammadi S. A., Labra M. Genetic structure and diversity analysis in *Vitis vinifera* L. cultivars from Iran using SSR markers // *Sci. Hortic.* 2013. Vol. 160. P. 29–36.
10. Dzhambazova T., Tsvetkov I., Atanassov I. et al. Genetic diversity in native Bulgarian grapevine germplasm (*Vitis vinifera* L.) based on nuclear and chloroplast microsatellite polymorphisms // *Vitis.* 2009. Vol. 48. N 3. P. 115–121.
11. Dzhambazova T., Tsvetkov I., Simeonov I. et al. Genetic diversity and relationships of indigenous and newly bred Bulgarian grape cultivars assessed by nuclear and chloroplast markers // *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin.* 2012. Vol. 46. N 2. P. 113–121.
12. Emanuelli F., Lorenzi S., Grzeskowiak L. et al. Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape [Електронний ресурс] // *BMC Plant Biol.* 2013. Vol. 13. №39. Режим доступу: <https://bmcplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2229-13-39>
13. Fatahi R., Ebadi A., Bassil N. et al. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers // *Vitis.* 2003. Vol. 42. N 4. P. 185–192.
14. Galbacs Z., Molnar S., Halasz G. et al. Identification of grapevine cultivars using microsatellite-based DNA barcodes // *Vitis.* 2009. Vol. 48. N 1. P. 17–24.
15. Galet P. Dictionnaire encyclopedique des cepages. Paris: Hachette, 2000. 936 p.
16. Hadadinejad M., Ebadi A., Naghavi M. R., Nikkhah R. Genealogy and molecular diversity of Iranian grapevine progenies // *J. Agric. Sci. Technol.* 2011. Vol. 13. P. 1147–1161.
17. Hvarleva T., Rusanov K., Lefort F. et al. Genotyping of Bulgarian *Vitis vinifera* L. cultivars by microsatellite analysis // *Vitis.* 2004. Vol. 43. N 1. P. 27–34.
18. Ibanez J., Velez M. D., de Andrés M. T. et al. Molecular markers for establishing distinctness in vegetatively propagated crops: a case study in grapevine // *Theor. Appl. Genet.* 2009. Vol. 119. N 7. P. 1213–1222.
19. Imazio S., Maghradze D., De Lorenzis G. et al. From the cradle of grapevine domestication: molecular overview and description of Georgian grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm // *Tree Genet. Genomes.* 2013. Vol. 9. P. 641–658.
20. Jones G. V., White M. A., Cooper O. R., Storchmann K. Climate change and global wine quality // *Climat Change.* 2005. Vol. 73. P. 319–343.
21. Lacombe T., Michel J., Laucou B. V. et al. Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2013. Vol. 126. N 2. P. 401–414.
22. Leao P. C. D. S., Cruz C. D., Motoike S. Y. Diversity and genetic relatedness among genotypes of *Vitis* spp. using microsatellite molecular markers // *Rev. Bras. Frutic.* 2013. Vol. 35. N 3. P. 799–808.
23. Lopes M. S., dos Santos M. R., Dias J. E. et al. Discrimination of Portuguese grapevines based on microsatellite markers // *J. Biotechnol.* 2006. Vol. 127. N 1. P. 34–44.
24. Lopes M. S., Sefc K. M., Dias E. E. et al. The use of microsatellites for germplasm management in a Portuguese grapevine collection // *Theor. Appl. Genet.* 1999. Vol. 99. N 3–4. P. 733–739.
25. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // *Genetics.* 1978. Vol. 89. N 3. P. 583–590.
26. Paetkau D., Calvert W., Stirling I., Strobeck C. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears // *Mol. Ecol.* 1995. Vol. 4. N 3. P. 347–354.
27. Pellerone F. I., Edwards K. J., Thomas M. R. Grapevine microsatellite repeats: isolation, characterisation and use for genotyping of grape germplasm from Southern Italy // *Vitis.* 2001. Vol. 40. N 4. P. 179–186.

28. Ramezani A., Haddad R., Dorostkar M. et al. Evaluation of genetic diversity of Iranian grapevine accessions using microsatellite markers // *Vitis*. 2009. Vol. 48. N 3. P. 151–152.
29. Regner F., Wiedeck E., Stadlbauer A. Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers // *Vitis*. 2000. Vol. 39. N 3. P. 103–107.
30. Salinari F., Giosue S., Tubiello F. N. et al. Downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on grapevine under climate change // *Global Change Biol.* 2006. Vol. 12. P. 1299–1307.
31. Schuck M. R., Biasi L. A., Moreira F. M. et al. Use of microsatellite markers to assess the identity and genetic diversity of *Vitis labrusca* and *Vitis rotundifolia* cultivars // *Acta Sci.-Agron.* 2014. Vol. 36. N 3. P. 301–308.
32. Sefc K. M., Lopes M. S., Lefort F. et al. Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars // *Theor. Appl. Genet.* 2000. Vol. 100. P. 498–505.
33. Sefc K. M., Regner F., Glössl J., Steinkellner H. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers // *Vitis*. 1998. Vol. 37. N 1. P. 15–20.
34. Stajner N., Rusjan D., Korosec-Koruza Z., Javornik B. Genetic characterization of old slovenian grapevine varieties of *Vitis vinifera* L. by microsatellite genotyping // *Am. J. Enol. Viticult.* 2011. Vol. 62. N 2. P. 250–255.
35. Tangolar S. G., Soydam S., Bakir M. et al. Genetic analysis of grapevine cultivars from the eastern Mediterranean region of Turkey, based on SSR markers // *Tarim Bilim Derg.* 2009. Vol. 15. N 1. P. 1–8.
36. Tassie L. Vine identification – knowing what you have [Електронний ресурс] // Editor G.a.W.R.a.D. Corporation, 2010. Режим доступу: <http://research.wineaustralia.com/wp-content/uploads/2012/09/2010-08-FS-Vine-Identification.pdf>
37. This P., Jung A., Boccacci P. et al. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars // *Theor. Appl. Genet.* 2004. Vol. 109. N 7. P. 1448–1458.
38. This P., Lacombe T., Thomas M. R. Historical origins and genetic diversity of wine grapes // *Trends in Genet.* 2006. Vol. 22. N 9. P. 511–519.
39. Upadhyay A., Aher L. B., Shinde M. P. et al. Microsatellite analysis to rationalize grape germplasm in India and development of a molecular database // *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization.* 2013. Vol. 11. N 3. P. 225–233.
40. Vouillamoz J. F., McGovern P. E., Ergul A. et al. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia // *Plant Genetic Resources: characterization and utilization.* 2006. Vol. 4. N 2. P. 144–158.
41. Wagner H. W., Sefc K. M. Identity 4.0. Centre for applied genetics. Vienna: University of Agricultural Sciences, 1999.
42. Wright S. Evolution and the genetics of population. Variability within and among natural populations. Chicago, Illinois: University Chicago Press, 1978. 580 с.

Стаття: надійшла до редакції 31.08.17

доопрацьована 27.11.17

прийнята до друку 12.12.17

EVALUATION OF GRAPEVINES (*VITIS VINIFERA* L.) GENETIC DIVERSITY BY USING MICROSATELLITE MARKERS

O. Karastan, N. Mulyukina, O. Papina, G. Plachinda

National Scientific Centre

*“Institute of Viticulture and Wine-making named after V.Ye. Tairov”
27, 40 let Pobeda St., Tairovo, Odessa 65496, Ukraine*

The allelic characteristics of the DNA microsatellite loci (VVS2, ZAG62, VVMD7, VVMD27, VVMD5, VVMD25, VVMD28, ZAG79, VVMD32) of 80 grapes varieties and forms were used to deduct the main indicators of genetic diversity. The values of these indicators fluctuated within: the number of alleles N_a – from 8 (VVMD25) to 18 (VVMD28); the effective number of alleles N_e – from 4.90 (VVMD32) to 8.57 (ZAG79); expected heterozygosity H_e – 0.744 (VVMD25) to 0.883 (ZAG79); the observed heterozygosity H_o from 0,3823 (VVMD25) to 0,925 (ZAG79), the probability of occurrence of null alleles r – from -0,009 (VVMD32) to -0,051 (VVMD27), probability of identity PI – from 0,024 (VVMD32) to 0,109 (VVMD25), Wrights index F – from -0,026 (VVMD5) to -0.115. 720 genotypes of microsatellite loci were identified, among them 91 are homozygous, 629 are heterozygous. The highest homozygosity among all studied loci has been determined for highly polymorphic locus VVMD32, that may indicate the domination of certain alleles in the region. Comparison of the parameters of genetic diversity determined by us with the results of other authors showed a general similarity, and in some cases – excess of values.

Keywords: genetic resources, genetic diversity, microsatellite markers, grapes, *V. vinifera* L.

КАРДИОСПЕЦИФІЧНА ЕМБРІОНАЛЬНА ДЕЛЕЦІЯ ГЕНА α -КАТЕНІНУ ПРИЗВОДИТЬ ДО ГІПЕРТРОФІЇ СЕРЦЯ У ДОРΟΣЛИХ МИШЕЙ

В. Балацький, Л. Мацевич, О. Півень*

*Інститут молекулярної біології та генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ 03680, Україна
e-mail: o.o.piven@imbg.org.ua*

Альфа-Е-катенін – важливий компонент адгеринових з'єднань у міокарді. Раніше було показано, що генетичний нокаут цього гена в ембріональному серці не спричиняє летальності чи порушень розвитку ембріонального серця. Однак роль цього гена в розвитку та функціонуванні серця дорослих мишей, а саме в розвитку гіпертрофії не до кінця з'ясована. Метою нашої роботи було дослідити роль гена α -Е-катеніну в гіпертрофії міокарда. Дослідження проводили з використанням мишей із умовним нокаутом α -Е-катеніну і трансгенних α МНС-Cre тварин. Застосовували гістологічні методи дослідження, а саме забарвлення гематоксилін-еозином і піркофуксином за ван Гізеном. Зміни рівня експресії генів-маркерів гіпертрофії аналізували за допомогою зворотно-полімеразної ПЛР у реальному часі. Було показано, що як повна, так і часткова делеція гена α -Е-катеніну в ембріональному серці спричиняє розвиток гіпертрофії у тварин віком 10 місяців. Це супроводжується масивними гістопатологічними перебудовами тканини міокарда: фіброз, інфільтрація лімфоцитами, вакуоляризація ядер, кардіоміоцити із хвилястою деформацією, розриви стінок судин. Також спостерігали підвищення рівня експресії гіпертрофічних генів (ANP та β -МНС) у тварин із гомо- та гетерозиготним нокаутом α -Е-катеніну. Як повна, так і часткова втрата гена α -Е-катеніну призводить до порушень структури міокарда і розвитку гіпертрофії серця дорослих мишей.

Ключові слова: α -Е-катенін, експресія генів, гіпертрофія, міокард, фіброз

Серцево-судинні захворювання вважаються головною медичною проблемою ХХІ століття. Згідно зі статистикою ВООЗ, щороку у світі через серцево-судинні хвороби помирають близько 17,5 млн людей. За прогнозами лікарів, смертність від захворювань серцево-судинної системи до 2020 р. зросте до 20 млн, а до 2030 р. – до 24 млн осіб [19]. Одне із найпоширеніших захворювань серцево-судинної системи – гіпертрофія міокарда, і вона є одним із ключових факторів ризику розвитку серцевої недостатності. Варто зауважити, що низка сигнально-регуляторних каскадів залучена до регулювання постнатального міокарда та розвитку гіпертрофії. До таких належать GPCR, кальцінеурин/NFAT, MAPK, PI3K/AKT/mTOR сигнальні шляхи [10] та канонічний Wnt сигналінг [8]. Проте не можна погодитися з тим, що механізми розвитку гіпертрофії міокарда є до кінця з'ясованими. Тому вивчення цих процесів і пошук нових гравців – медіаторів гіпертрофії міокарда – є надзвичайно актуальним завданням.

У своїй роботі ми зосередилися на дослідженні ролі гена α -Е-катеніну в гіпертрофії серця дорослих мишей. Раніше було показано, що α -Е-катенін є необхідним компонентом адгеринового комплексу, який забезпечує міжклітинну адгезію, а втрата гена α -Е-катеніну дає летальні наслідки ще у ранньому ембріогенезі [12]. Цікаво, що кардіоспецифічна делеція α -Е-катеніну не спричиняла порушень розвитку ембріона чи ембріонального серця та не призводила до летальності новонароджених тварин [14]. Із застосуванням генетичного нокауту було показано, що делеція гена α -Е-катеніну в серці дорослих тварин спричиняє

розвиток кардіоміопатії та супроводжується порушеннями структури інтеркалярних дисків (ІД), але тільки у мишей із гомозиготною делецією останнього [17]. Участь α -Е-катеніну в патологічних перебудовах дорослого серця була показана і в іншій роботі, де автори спостерігали зниження експресії α -Е-катеніну в зоні ураження інфарктного міокарда [4]. Втрата не лише α -Е-катеніну, а й α -Т-катеніну призводила до розвитку гіпертрофії та підвищеної проліферації кардіоміоцитів у тварин віком три місяці [11]. Підсумовуючи короткий огляд експериментальних робіт, можемо зауважити, що α -Е-катенін є не лише важливим структурним компонентом міжклітинної адгезії, а й вочевидь бере участь у патологічних перебудовах міокарда. Однак значення цього гена в розвитку гіпертрофії серця у дорослих мишей потребує детального аналізу.

Тож у своїй роботі, із застосуванням технології умовного нокауту гена виключно в ембріональному серці, ми зосередилися на вивченні впливу α -Е-катеніну на розвиток гіпертрофії серця у дорослих тварин. Використання Cre-рекомбінази під контролем α -МНС промотора дає можливість досліджувати вплив втрати функції гена, починаючи з ембріогенезу. Також варто зауважити, що саме ця модель є високоефективною і дає змогу повністю видалити досліджуваний ген (у гомозиготному нокауті) в серці мишей. Такий методичний підхід є більш близьким до оцінки впливу можливої мутації гена α -Е-катеніну у людей.

Матеріали та методи

Генерація тварин із делецією гена α -Е-катеніну в ембріональному серці. Для генерації дослідної групи тварин із кардіоспецифічною делецією гена α -Е-катеніну схрещували мишей, що експресують Cre-рекомбіназу під контролем промотора важкого ланцюга α -міозину ((α МНС)-Cre) та з умовним нокаутом гена α -Е-катеніну ((α МНС)-Cre; α -cat^{lox/lox}) із тваринами, гомозиготними за умовним нокаутом α -Е-катеніну (α -cat^{lox/lox}). У застосованій нами моделі Cre-рекомбіназа експресується, починаючи із 10,5 дня ембріонального розвитку і видалляє фланкований loxP сайтами фрагмент геному з високою ефективністю [14]. Новонароджених тварин генотипували у віці 5–6 діб згідно зі стандартними протоколами. Мутантні алелі й алелі дикого типу визначали за допомогою таких праймерів: прямий: CATTTCTGTACCCCCAAAGAC і зворотний GCAAAATGATCCAGCGTCCTGGG, α МНС-Cre трансген – прямий: CAGAACCTGAAGATGTTCCGC і зворотний TACACCTCGGTGСТААССAG. Генотипування, виділення ДНК проводили згідно зі стандартними протоколами [13]. Під час дослідження використовували самців мишей віком 10 місяців.

Трансгенні тварини були отримані доктором Міхаелем Шнайдером (Медичний коледж, Байлор, США). Тварини, гомозиготні за умовним нокаутом α -Е-катеніну (α -catenin^{lox/lox}), були отримані із Джексон лабораторії (Jackson Laboratories, USA).

Гістологічний і морфологічний аналіз. Для оцінки стану серця використовували індекс співвідношення маси серця до маси тіла (HW/BW, мг/г) та маси серця до довжини гомілки (HW/TL мг/мм). Гістологічний аналіз тканини серця проводили з використанням парафінових зрізів, які готували, як описано раніше [14]. Архітектуру міокарда аналізували із застосуванням забарвлення гематоксиліном та еозином (ГЕ), наявність фіброзного заміщення кардіоміоцитів у тканині серця виявляли за допомогою забарвлення пікрофуксином за ван Гізеном [15]. Інтенсивність фіброзу аналізували за допомогою програмного забезпечення NIH ImageJ. [16].

Дослідження рівня експресії генів-маркерів гіпертрофії. Тотальну РНК виділяли із тканини лівого шлуночка серця миші за допомогою innuSOLV RNA Reagent (Analytikjena)

згідно з рекомендаціями виробника. Отриману РНК обробляли ДНК-азою I та використовували для синтезу кДНК. Синтез кДНК здійснювали за допомогою First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific) згідно з рекомендаціями виробника. Реакцію ПЛР у реальному часі проводили з використанням суміші Maxima SYBR Green/Fluorescein qPCR MasterMix (Thermo Scientific) на приладі iCycler single-color real-timePCR detection system (IQ5, BioRad). Аналізували зміну рівня експресії генів *ANP*, *BNP*, α -*MHC* та β -*MHC*. Як референтний ген використовували *Gapdh*. Праймери, які застосовували для ПЛР у реальному: 1) *ANP*: прямий – 5'-CATCACCTGGGCTTCTTCT-3' і зворотний – 5'-TGG-GCTCCAATCCTGTC AATC-3'; 2) *BNP*: прямий – 5'-GCGGCATGGATCTCCTGAAGG-3' і зворотний – 5'-CCCAGGCAGAGTCAGAACTG-3'; 3) β -*MHC*: прямий – 5'-ATGTGC-CGGACCTTGGA-3' і зворотний – 5'-CCTCGGGTTAGCTGAGAGATCA-3'; 4) α -*MHC*: прямий – 5'-GGCACAGAAACACCTGAAGA-3' і зворотний – 5'-CATTGGCATGGACAG-CATCATC-3'; 5) *Gapdh*: прямий – 5'-CCACTCTTCCACCTTCGATG-3' і зворотний – 5'-TC-CACCACCTGTTGCTGTA-3'.

Дані зміни рівня експресії розраховували за допомогою формули $2^{-\Delta\Delta Ct}$, де Ct – граничне значення циклу, $\Delta Ct = Ct_{\text{(досліджуваного гена)}} - Ct_{\text{(Gapdh)}}$, а $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{(експеримент)}} - \Delta Ct_{\text{(контроль)}}$.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету GraphPad Prism7 (GraphPad Software Inc., США). Дані представлено у вигляді середнього арифметичного \pm стандартне відхилення. Перевірку розподілу на нормальність здійснювали за допомогою тесту Д'Агостіно-Пірсона. Подальший статистичний аналіз проводили з використанням Крассела-Уолліса із посттестом Дана. $P < 0,05$ вважали статистично достовірним.

Результати і їхнє обговорення

Як уже зазначалося вище, α -Е-катенін є необхідним компонентом адгезивних з'єднань, і ціла низка робіт переконливо свідчить про його виняткову роль у підтримці клітинної адгезії під час розвитку організму. У серці експресуються дві ізоформи α -катеніну: α -Е-катенін і α -Т-катенін [17]. Як відомо, α -Т-катенін постійно взаємодіє із кадєрин-катєніновим комплексом [20], забезпечуючи міцну адгезію, в той час як α -Е-катенін діє як механосенсор і забезпечує підтримання адгезії під час зростання навантаження [21]. У своїй роботі, застосовуючи тварин із умовним нокаутом гена α -Е-катеніну, ми генерували мишей із гетеро- та гомозиготною делецією цього гена виключно в ембріональних кардіоміоцитах. Для дослідження ролі гена α -Е-катеніну в серці дорослих тварин ми провели морфологічний і молекулярно-генетичний аналіз сердець дослідних та контрольних мишей віком 10 місяців.

У результаті досліджень, перш за все, ми виявили гістопатологічні аномалії тканини міокарда мутантних мишей, що є типовими ознаками гіпертрофії дорослого серця та свідчать про порушення його функції. Так під час аналізу парафінових зрізів сердець із фарбуванням за ван Гізеном ми виявили розвиток замісного та периваскулярного фіброзу в серцях тварин із делецією гена α -Е-катеніну (рис. 1). Як відомо, останній асоційований із порушеннями коронарного кровообігу [6], тоді як замісний фіброз є ознакою втрати функціональних кардіоміоцитів [7]. Проте поява фіброзу як такого є однією з ознак патологічних перебудов міокарда за розвитку гіпертрофії серця. Варто також зауважити, що у тварин із гетерозиготною делецією α -Е-катеніну фіброз був менш вираженим порівняно з тваринами із повною делецією цього гена (рис. 1). Так, аналіз зрізів тканини серця мишей із гетерозиготним нокаутом гена α -Е-катеніну показав відсоток фіброзу $1,8\% \pm 0,14$, тоді як у тварин із гомозиготною делецією – $2,4\% \pm 0,8$.

Аналіз гістологічних зрізів зафарбованих ГЕ показав також інші гістопатологічні порушення тканини міокарда у тварин як із гетеро-, так і з гомозиготною делецією гена

α -Е-катеніну (рис. 2). Нами були зареєстровані типові ознаки ішемічного ушкодження кардіоміоцитів, а саме кардіоміоцити із хвилястою деформацією та кардіоміоцити із гіпереозинофільною цитоплазмою (рис. 2) [9, 3]. Про ішемічне ураження кардіоміоцитів у серцях із делецією досліджуваного нами гена свідчить і наявність вакуолізованих ядер (рис. 2). Окрім того, в обох групах мутантних тварин реєстрували дифузну інфільтрацію тканини міокарда лімфоцитами (рис. 2), що свідчить про запальні процеси [13]. Також мікроскопічний аналіз парафінових зрізів показав порушення цілісності судин (рис. 2). Усе разом вказує на масивні патологічні перебудови міокарда за умови генетичного нокауту гена α -Е-катеніну.

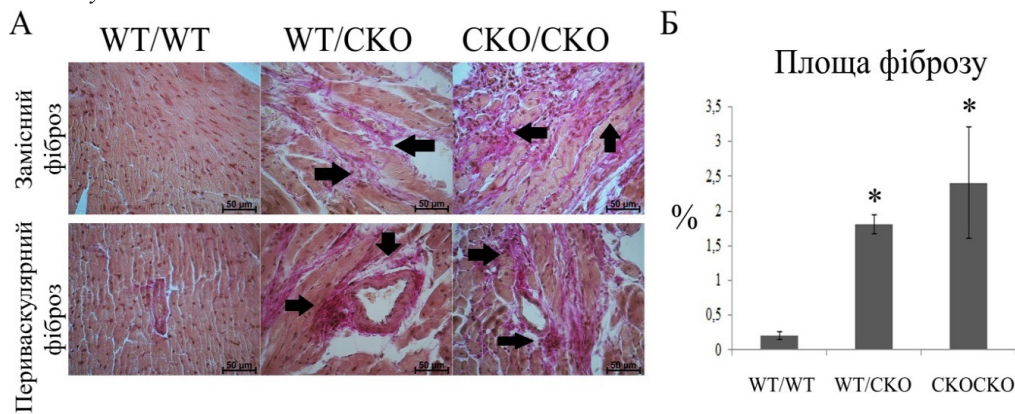


Рис. 1. Нокаут гена α -Е-катеніну в ембріональному серці спричиняє розвиток фіброзу міокарда дорослих мишей: А – морфологічні зрізи серця пофарбовані пікрофуксином за ван Гізеном, замісний і периваскулярний фіброз пофарбовано у рожевий і позначено стрілочками; Б – аналіз інтенсивності фіброзу в препаратах сердець контрольних і дослідних тварин віком 10 місяців. Примітки: WT/WT – тварини контрольної групи; WT/CKO – тварини із гетерозиготною делецією α -Е-катеніну, CKO/CKO – тварини із гомозиготною делецією гена α -Е-катеніну. Кількість тварин у досліді: 5. * – $P < 0,05$ щодо WT/WT

Підвищення індексу співвідношення маси серця до маси тіла (HW/BW) і маси серця до довжини гомілки (HW/TL) у тварин як із повною, так і з частковою втратою гена α -Е-катеніну, порівняно з контрольними мишами того ж віку (рис. 3, А, Б) також свідчить про розвиток гіпертрофії серця у мутантних мишей. Варто також зауважити, що аналіз індексів: HW/BW і HW/TL не виявив достовірної різниці між двома застосованими індексами під час оцінки стану міокарда.

Аналіз змін експресії генів гіпертрофічної відповіді: *ANP*, *BNP* та β -*MHC* узгоджується з нашими попередніми даними і свідчить про розвиток гіпертрофії у мутантних тварин віком 10 місяців. Так, із застосуванням ПЛР у реальному часі ми виявили достовірне підвищення експресії генів *ANP* та β -*MHC* у тварин із гомо- та гетерозиготним нокаутом α -Е-катеніну (рис. 3, С). Варто також зауважити, що рівень експресії міозину дорослого серця (α -*MHC*) у серцях дослідних тварин був нижчим порівняно з контрольними тваринами того ж віку (рис. 3, С). Такі зміни експресії генів дорослого (α -*MHC*) та ембріонального (β -*MHC*) міозинів і гена натрійуретичного пептиду А (*ANP*) є типовими для гіпертрофії міокарда [18] й узгоджуються з результатами морфометричних і гістологічних досліджень. Активація експресії фетальних генів є типовою ознакою розвитку серцевої недостатності й регулюється різними транскрипційними факторами, серед яких, зокрема: *Gata*, *NFAT* та *Mef* [9]. Також було показано, що натрійуретичні пептиди А та В є мішенями β -катеніну

[22], а у своїй попередній роботі ми показали активацію канонічного WNT/ β -катенінового сигнального шляху в серці тварин із гетеро- та гомозиготною делецією α -Е-катеніну [1]. Тож активація експресії фетальних генів у міокарді мишей із гетеро- та гомозиготним нокаутом α -Е-катеніну може бути як наслідком порушення активності сигнальних каскадів у серці дослідних тварин (активація канонічного Wnt-сигналіну), так і результатом патології, що розвивається.

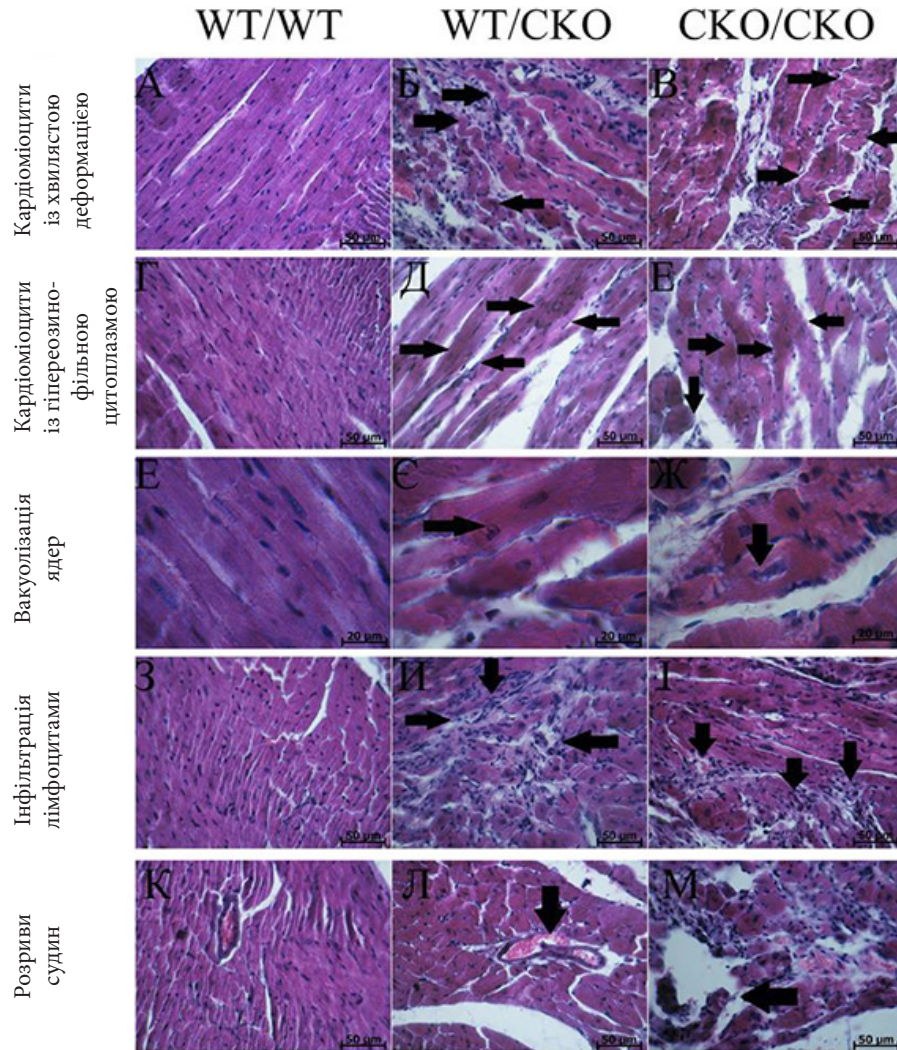


Рис. 2. Делеція гена α -Е-катеніну в ембріональному серці спричиняє масивні гістопатологічні порушення тканини міокарда мишей віком 10 місяців. Забарвлення парафінових зрізів тканини міокарда гематоксилін еозинном (ГЕ), на мікрофотографії наведено типові аномалії: Б, В – кардіоміоцити із хвилястою деформацією; Д, Е – кардіоміоцити із гіперезионофільною цитоплазмою; Є, Ж – вакуолізація ядер; И, І – інфільтрація лімфоцитами; Л, М – повні та часткові розриви судин (усі вказані зміни зазначено стрілочками). Примітки: WT/WT – тварини контрольної групи; WT/CKO – тварини із гетерозиготною делецією α -Е-катеніну, CKO/CKO – тварини із гомозиготною делецією гена α -Е-катеніну. Кількість тварин у дослідженні: 5

Загалом наші дані свідчать, що втрата гена α -E-катеніну в ембріональному серці спричиняє розвиток гіпертрофії міокарда у дорослих тварин, яка супроводжується численними гістопатологічними перебудовами тканини міокарда. Вочевидь, α -E-катенін має принципове значення для функціонування серця дорослих тварин і його адаптацій до фізіологічних і вікових факторів. Така думка узгоджується з результатами досліджень Sheikh і співавторів, де було показано, що делеція гена α -E-катеніну в дорослому серці спричиняє розвиток кардіоміопатії, однак, на відміну від нашої роботи, автори не спостерігали фіброзу міокарда й інших гістопатологічних змін, описаних вище [17]. На нашу думку, такі суперечності можна пояснити різною ефективністю Cre-систем, застосованих авторами та в нашій роботі. Так, Sheikh і колеги використовували Cre-рекомбіназу, експресія якої контролюється промотором легкого ланцюга 2v і характеризується меншою ефективністю, приблизно до 80 % [5]. Тоді як застосована нами система характеризується вищою ефективністю і, на відміну від попередньої роботи, ми не спостерігали залишкової експресії білка [2, 14].

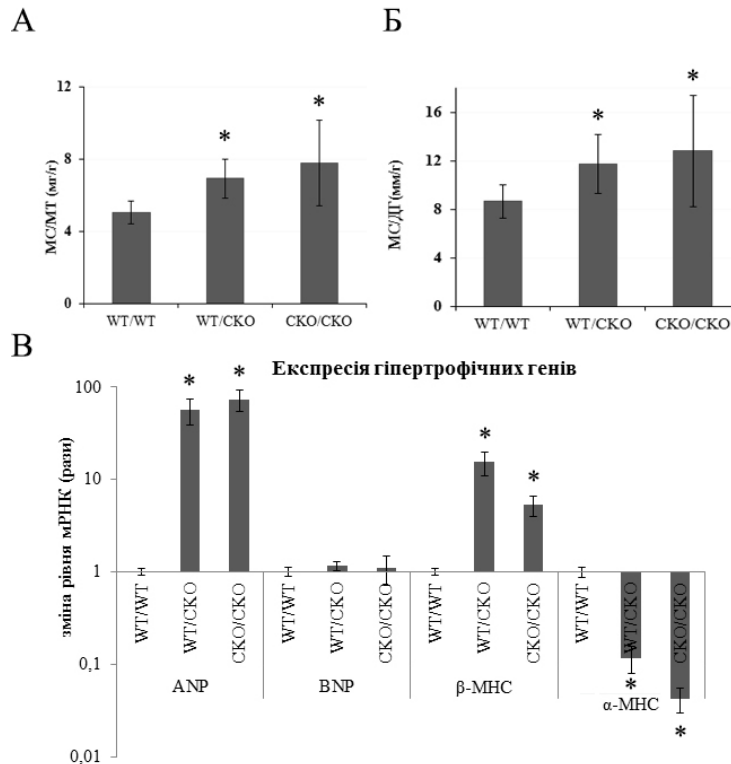


Рис. 3. Повна та часткова делеція гена α -E-катеніну спричиняє розвиток гіпертрофії серця у дорослих мишей: А – аналіз індексу відношення маси серця до маси тіла (HW/BW, мг/г); Б – аналіз індексу відношення маси серця до довжини голілки (HW/TL, мг/мм) (* – $p < 0,05$); В – аналіз зміни рівня експресії генів-гіпертрофічної відповіді. Примітки: WT/WT – тварини контрольної групи; WT/CKO – тварини з гетерозиготною делецією α -E-катеніну; CKO/CKO – тварини з гомозиготною делецією гена α -E-катеніну. Рівень експресії в контролі: 1. Кількість тварин у дослідженні: 3 (* – $P < 0,05$ відносно WT/WT)

На користь нашої думки свідчить і робота Li та співавторів, де генетичний нокаут не лише α -E-катеніну, а й α -T-катеніну в ембріональному серці призводив до розвитку гіпертрофії та підвищеної проліферації кардіоміоцитів у тварин віком три місяці [11]. Однак нами було показано, що навіть делеція тільки α -E-катеніну спричиняє патологічні зміни

серця і, вочевидь, компенсаторної ролі α -Т-катеніну недостатньо для підтримки нормальної морфології післянатального серця. Загалом, можемо припустити, що α -Е-катенін має супресорну функцію в серці, а саме запобігає патологічним перебудовам у процесі старіння, за гемодинамічних навантажень та інших стресів.

Подяки

Автори вдячні д-ру Гленну Редісу за нокаутних і трансгенних тварин, які він люб'язно надав у наше розпорядження.

Робота виконується в рамках цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України „Молекулярні та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства” (грант N40/2015-2020).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Балацький В. В., Пальчевська О. Л., Мацевич Л. Л., Півень О. О. α -Е-катенін потенційний регулятор канонічного Wnt та HIPPO-сигналінгів у міокарді // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. 2016. Vol. 14. № 2. P. 168–73.
2. Agah R., Frenkel P. A., French B. A. et al. Gene recombination in postmitotic cells. Targeted expression of Cre recombinase provokes cardiac-restricted, site-specific rearrangement in adult ventricular muscle *in vivo* // J. Clin. Invest. 1997. Vol. 100. N 1. P. 169–79.
3. Armstrong S., Ganote C. E. Preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: effects of glycolytic blockade, phorbol esters, and ischaemia // Cardiovasc. Res. 1994. Vol. 28. N 11. P. 1700–1706.
4. van den Borne S. W. M., Narula J., Voncken J. W. et al. Defective Intercellular Adhesion Complex in Myocardium Predisposes to Infarct Rupture in Humans // J. Am. Coll. Cardiol. 2008. Vol. 51. N 22. P. 2184–2192.
5. Chen J., Kubalak S. W., Chien K. R. Ventricular muscle-restricted targeting of the RXR α gene reveals a non-cell-autonomous requirement in cardiac chamber morphogenesis // Development. 1998. Vol. 10. N 125. P. 1943–1949.
6. Dai Z., Aoki T., Fukumoto Y., Shimokawa H. Coronary perivascular fibrosis is associated with impairment of coronary blood flow in patients with non-ischemic heart failure // J. Cardiol. 2012. Vol. 60. N 5. P. 416–421.
7. Gandhi M. S., Kamalov G., Shahbaz A. U. et al. Cellular and molecular pathways to myocardial necrosis and replacement fibrosis // Heart Fail. Rev. 2011. Vol. 16. N 1. P. 23–34.
8. Grigoryan T., Wend P., Klaus A., Birchmeier W. Deciphering the function of canonical Wnt signals in development and disease: conditional loss- and gain-of-function mutations of beta-catenin in mice // Genes Dev. 2008. Vol. 22. N 17. P. 2308–2341.
9. Hasham M. G., Baxan N., Stuckey D. J. et al. Systemic autoimmunity induced by the TLR7/8 agonist Resiquimod causes myocarditis and dilated cardiomyopathy in a new mouse model of autoimmune heart disease // Dis. Model Mech. 2017. Vol. 10. N 3. P. 259–270.
10. Kontaridis M. I., Geladari E. V., Geladari C. V. Pathways to myocardial hypertrophy. In: Introduction to Translational Cardiovascular Research. 2015. P. 167–186.
11. Li J., Gao E., Vite A. et al. Alpha-catenins control cardiomyocyte proliferation by regulating yap activity // Circ. Res. 2015. Vol. 116. N 1. P. 70–79.
12. Ohsugi M., Hwang S.-Y., Butz S. et al. Expression and cell membrane localization of catenins during mouse preimplantation development // Dev Dyn. 1996. Vol. 206. N 4. P. 391–402.
13. Olinde M. D. K. D., O'Connell M. D. J. B. Inflammatory heart disease: Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment of Myocarditis // Annu. Rev. Med. 1994. Vol. 45. N 1. P. 481–490.
14. Piven O. O., Kostetskii I. E., Macewicz L. L. et al. Requirement for N-cadherin-catenin complex in heart development // Exp. Biol. Med. 2011. Vol. 236. N 7. P. 816–822.

15. Puchtler H., Sweat F. Histochemical specificity of staining methods for connective tissue fibers: Resorcin-fuchsin and van Gieson's picro-fuchsin // *Histochemie*. 1964. Vol. 4. N 1. P. 24–34.
16. Schneider C. A., Rasband W. S., Eliceiri K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis // *Nat. Methods*. 2012. Vol. 9. N 7. P. 671–675.
17. Sheikh F., Chen Y., Liang X. et al. α -E-catenin inactivation disrupts the cardiomyocyte adherens junction, resulting in cardiomyopathy and susceptibility to wall rupture // *Circulation*. 2006. Vol. 114. N 10. P. 1046–1055.
18. Taegtmeyer H., Sen S., Vela D. Return to the fetal gene program // *Ann. N Y Acad Sci*. 2010. Vol. 1188. N 1. P. 191–198.
19. Townsend N., Wilson L., Bhatnagar P. et al. Cardiovascular disease in Europe: Epidemiological update 2016. *European Heart Journal*. 2016.
20. Wickline E. D., Dale I. W., Merkel C. D. et al. α T-Catenin Is a Constitutive Actin-binding α -Catenin That Directly Couples the Cadherin-Catenin Complex to Actin Filaments // *J. Biol. Chem*. 2016. Vol. 291. N 30. P. 15687–15699.
21. Yao M., Qiu W., Liu R. et al. Force-dependent conformational switch of α -catenin controls vinculin binding. Vol. 5. *Nature communications*. 2014.
22. Zhang C.-G., Jia Z.-Q., Li B.-H. et al. β -Catenin/TCF/LEF1 can directly regulate phenylephrine-induced cell hypertrophy and Anf transcription in cardiomyocytes // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2009. Vol. 390. N 2. P. 258–262.

Стаття: надійшла до редакції 31.08.17

доопрацьована 28.11.17

прийнята до друку 04.12.17

EMBRYONIC CARDIOSPECIFIC KNOCKOUT OF α -E-CATENIN GENE LEADS TO ADULT HEART HYPERTROPHY

V. Balatskyy, L. Macewicz, O. Piven

*Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine
150, Akad. Zabolotnyi St., Kyiv 03680, Ukraine
e-mail: o.o.piven@imbg.org.ua*

Alpha-E-catenin is important component of adherent junction in adult myocardium. Early was shown that genetic knockout of this gene during cardiogenesis doesn't leads to lethality or embryonic heart development violation. However, α E-catenin role in adult heart development and function is far from understood. Aim of our work is recovering of α E-catenin function in heart hypertrophy. In our experiment we have used α E-catenin conditional knockout and α MHC-Cre transgenic mice. We have utilized histological methods of analysis: hematoxylin and eosin (H&E), van Gieson staining. The level of hypertrophic genes expression was studied with qPCR. We found that hetero- and homozygous knockout of α E-catenin in embryonic heart occur heart hypertrophy in adult mice at 10 months of age, which accompanied by massive histopathological remodelling of heart tissue: fibrosis, infiltration by lymphocytes, nuclear vacuolation, waived cardiomyocytes, vessel walls rapture. Also, the higher levels of hypertrophic genes (*ANP* and β -MHC) expression were observed in mice with hetero- and homozygous knockout of α E-catenin. Thus, hetero- and homozygous deletion of α E-catenin is leads to violation of heart tissue structure and hypertrophy in adult heart.

Keywords: α E-catenin, hypertrophy, gene expression, myocardium, fibrosis

A GENETIC ASSAY SYSTEM TO STUDY MISTRANSLATION OF LEUCYL CODON UUA IN *STREPTOMYCES*

O. Koshla, B. Ostash

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

Among all codons, TTA is the rarest one in GC-rich *Streptomyces* genomes. This codon is located exclusively in dispensable genes, involved in not essential processes, like morphological differentiation or secondary metabolism. Delayed (for reasons yet not fully known) translation of TTA codons limits antibiotic production and spore formation to a certain period of streptomycete life cycle, most often to stationary phase of culture development. During protein synthesis, UUA codon is decoded by the only tRNA^{Leu}_{UAA}, also known as *bldA* gene product. Together, TTA codon and its cognate tRNA form specific regulatory switch, coordinated functionality of which is needed for normal life cycle processing and biosynthesis of number of antibiotics. Intriguingly, some TTA-containing genes are still expressed (phenotypically) in *bldA* null mutants, even in absence of tRNA^{Leu}_{UAA}. Mistranslation of UUA codons is usually suggested in such cases, although evidence for the former is scant. Here we took advantage of recently generated *bldA* mutant of *Streptomyces albus* J1074 and β -galactosidase reporter to develop a genetic system for observation and study mistranslation. We describe pilot experiments that demonstrate function of the developed assay system.

Keywords: *Streptomyces*, *bldA*, mistranslation, reporter gene

Deficiency in *Streptomyces coelicolor* gene *bldA* for tRNA^{Leu}_{UAA} leads to significant phenotypic changes, such as conditional arrest of sporulation and blocked production of some antibiotics [5, 9, 11, 13]. It has to be noted that TTA is the rarest codon in GC-rich actinobacterial genomes [20] which is absent in essential genes. In the model strain *S. coelicolor* A(3)2, whose genome harbors 142 TTA-containing (TTA⁺) genes, *bldA* deficiency (the so called “bald” phenotype) causes major-to-infinite delay of the onset of secondary metabolism presumably because of inability to translate the UUA-containing mRNAs [19]. These effects are mediated by a few TTA⁺ genes encoding pleiotropic regulators and regulators dedicated to antibiotic production, most notably those of *adpA* and *ram* genes [17]. Functions of the majority of TTA⁺ genes in *S. coelicolor* and other species are not understood.

While *bldA* regulation is a well-documented phenomenon [2, 4, 14], there is evidence that certain TTA⁺ genes escape translational arrest in *bldA* mutants and express at significant levels [10, 18]. Mistranslation of UUA is usually invoked as the most plausible explanation of such observation. Our recent *in silico* study provided some support in favor of mistranslation hypothesis [15]. However, there is no model system for *Streptomyces* which would provide simple experimental framework to observe and probe mistranslation. We decided to fill this gap, taking advantage of recently developed in our laboratory *bldA* knockout strain *S. albus* OK3 and a *sco3479* (*lacZ*) gene-based β -galactosidase reporter system [8]. Here we provide genetic evidence that *sco3479* expression is blocked at the level of translation and describe the conditions where presumable mistranslation of *sco3479* is reproducibly observed. Our work sets the working ground to understand the extent, molecular mechanisms and functional consequences of protein mistranslation in *Streptomyces*.

Materials and Methods

Strains and plasmids used and constructed in this work are listed in Table 1. Tryptic soy broth (Merck) and soy-mannitol agars [7] were used to grow *Streptomyces* and plate matings. *E. coli* strains were grown in liquid or agar LB medium supplemented with appropriate antibiotic (if needed) at either 30 or 37 °C, respectively. For visual and microscopic lawn examination, strains were grown on soy-flour and TSB media. Genomic DNA from *Streptomyces* and plasmid DNA from *E. coli* were isolated using standard protocols [16]. Restriction enzymes and molecular biology reagents were used according to recommendation of suppliers (NEB, MBI Fermentas).

The β -glucuronidase activity (GusA) was measured in cell-free extracts from 48-h TSB cultures of *S. albus* (beginning of stationary phase) as described in [10] and referred back to the same amount of dry biomass. The β -galactosidase activity (LacZ) of *S. albus* strains was measured both in liquid and solid media, in presence of inducer (cumate) and chromogenic substrate 5-Br-4-Cl-3-indolyl- β -D-galactopyranoside (X-Gal) under conditions specified in the main text for each experiment separately. Following classes of compounds were used in disc diffusion assay as potential *sco3479* mistranslation inducers: antibiotics (penicillin, cefalotin, imipenem, teicoplanin, kanamycin, gentamycin, streptomycin, neomycin, kasugamycin, erythromycin, lincomycin, thiostrepton, chloramphenicol, ciprofloxacin, rifampicin); sulfate salts of metals (cobalt, nickel, copper, chromium); organic dyes and enzyme inhibitors (Congo Red, ethidium bromide), Coomassie blue, reserpine, crystal violet, malachite green, bromophenol blue); hydrogen peroxide. Antibiotics were used at concentrations 30 μ g/disc, metals and dyes – 3 mM per disc. Discs were soaked into 15 μ l of aqueous solution containing hydrogen peroxide in concentrations ranging from 0.01 to 1 %. Assay plates were incubated at 30 °C for 20 days and were inspected daily to reveal the occurrence of blue-coloured colonies.

Table 1

Plasmids and bacterial strains used in this work

Strain	Relevant characteristics	Source/Reference
pGUS	Promoter probe vector, contains promoterless <i>gusA</i> ; derived from pSET152	[12]
pGCymRP21	Derived from pGUS, contains P21 promoter, <i>cmt</i> operator and <i>cymR</i> gene	[6]
padpAscript	Derived from pGUS, contains <i>adpAghp-gusA</i> fusion	[10]
padpAtransl	Derived from pGUS, <i>adpAgh-gusA</i> fusion with HL4 linker	[10]
padpAcontrol	Derived from pGUS, promoterless <i>adpAgh-gusA</i> fusion with HL4 linker	[10]
pRV3	Derived from pGCymRP21, cloned TTA-containing <i>sco3479</i> (<i>lacZ</i> from <i>S. coelicolor</i>)	[8]
<i>E. coli</i> DH10B	Routine cloning host; F ⁻ <i>mcrA</i> Δ (<i>mrr-hsdRMS-mcrBC</i>) ϕ 80 <i>lacZ</i> Δ M15	Invitrogen
<i>E. coli</i> ET12567	Δ <i>lacX74 recA1 endA1 araD139 Δ(<i>ara, leu</i>)7697 <i>galU galK</i> λ: <i>rpsL nupG</i>.</i>	[7]
pUZ8002	Strain for conjugative transfer of coresident plasmids; <i>dam13::Tn9</i> (Cm ^r) <i>dcm6 hsdM hsdR zjj202::Tn10</i> (Tet ^r) <i>recF143 galK2 galT22 ara14 lacY1 xyl5 leuB6 thi1 tonA31 rpsL136</i> (Str ^r) <i>hisG4 tsx78 mtl1 glnV44</i> . pUZ8002 - Km ^r	
<i>S. albus</i> SAM2	Derived from <i>S. albus</i> J1074 by deletion of ϕ C31 <i>pseB4</i> .	[1]
<i>S. albus</i> OK3	Derived from <i>S. albus</i> SAM2 by deletion of <i>bldA</i>	[8]
<i>S. albus</i> OK3-RV3	Derived from <i>S. albus</i> OK3 with integrated pRV3	[8]

Results and Discussion

Expression of *adpA* in *S. albus* OK3 is blocked at the level of translation. We recently have generated and described *bldA* knockout mutant *S. albus* OK3 [8]. Its phenotype, both macro- and microscopic, is reminiscent of the other described *bldA* mutants of *Streptomyces*. Nevertheless, it remained unproven that secondary metabolic and morphogenetic defects of OK3 are indeed a consequence of derailed translation of UUA mRNAs in the mutant. We decided

to reveal the step affected by *bldA* mutation using reporter system. For that purpose plasmids padpAscript, padpAtransl and padpAcontrol were individually transferred into *S. albus* SAM2 and OK3 strains (Table 1). The first plasmid carries fusion of *S. ghanaensis* ATCC14672 *adpA* gene promoter (*adpAp*) to β -glucuronidase gene *gusA*. The plasmid allows monitoring of the transcription from *adpAp* and it is expected to be the same in both SAM2 and OK3, if the *bldA* mutation has nothing to do with transcription. The second plasmid carries fusion of *adpAp-adpA* to *gusA* via helical linker, and it thus reports on translation of *adpA* gene. The latter carries codon TTA in 225th position, so it requires tRNA^{Leu}_{UAA} (*bldA*) to decode this codon in *S. albus*, as it does in *S. ghanaensis* [10]. We anticipated that level of GusA activity from padpAtransl should be lower in OK3 than in SAM2 provided that our conjecture about *bldA* function is correct [8]. The last plasmid is a control one for translational fusions. All three plasmids integrate in a one copy into a single *attB*^{hC31} site within *S. albus* genome. Indeed, analysis of GusA activity in the generated transconjugants (Fig. 1) confirmed our initial idea: there was no significant difference in transcription from *adpAp* between SAM2 and OK3 strains, while we detected almost no GusA activity in case of translational fusion expressed in OK3 strain. These data provide circumstantial genetic evidence that *bldA* mutation specifically affects translation step of *adpA* expression; no effects of *bldA* mutation on transcription (at least that of *adpA*) were revealed.

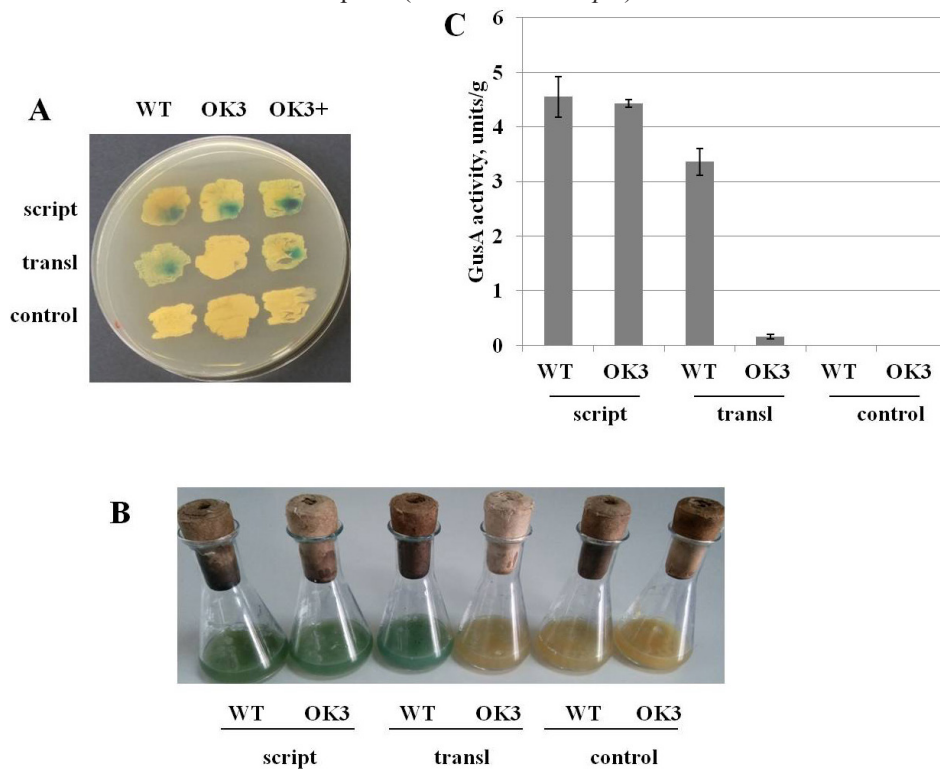


Fig. 1. Glucuronidase activity of *S. albus* strains, containing *gusA*-based reporter plasmids. WT – *S. albus* SAM2; OK3 – *S. albus* OK3; OK3+ – complemented *S. albus* OK3 with *bldA* gene; script – integrated padpAscript; transl – integrated padpAtransl; control – integrated padpAcontrol. Strains were grown on TSA medium (A) or in TSB medium (B) for 48 hrs, 30 °C. X-Gluc solution was added to right lower edge of lawns (A) or to the culture (B) and incubated for 2 hrs. Formation of blue compound indicates glucuronidase activity. C – measurement of glucuronidase activity in *S. albus* strains (48 hrs in TSB medium, 30 °C). GusA activity normalized against dried weight in 1 ml

Searching the format of assay system to detect and study mistranslation of UUA in *Streptomyces*. Mistranslation of UUA is often invoked as an explanation of leaky phenotypes of *bldA* mutations. However, the reports on presumable mistranslation in *Streptomyces* are scattered through different strains studied over the last 25 years. There were no attempts to develop straightforward experimental system which would allow facile detection of mistranslation and its downstream analysis (e.g., quantification, isolation of a mistranslated protein etc). In our previous work we developed TTA-specific LacZ-based reporter system for *S. albus* SAM2, and we suggested that it could be optimal starting point for *Streptomyces*-specific UUA mistranslation assay. Simplicity of visual screening, regulated cumate-dependent transcription of *lacZ* and availability of hexahistidine tag are the key advantages of the described reporter plasmid pRV3 [8]. We therefore set out to find conditions of *lacZ* mistranslation in a *bldA*-null background. A number of solid media, cumate concentrations and incubation times were tested; we finally revealed that tryptic soy agar supplemented with 50 μ M cumate are optimal to reveal LacZ expression. Under these conditions, after 14 days of incubation at 30 °C and one more day at 4 °C, around 100 light blue-colored colonies became visible on the lawn of OK3-RV3 strain (Fig. 2). Given that 10^7 cfu of OK3-RV3 were plated onto TSA, the frequency of blue colored colonies would be equal to 10^{-5} ; this roughly agrees with the mistranslation rate estimated for *E. coli* [3]. No blue colonies were observed when inducer was omitted from assay plates. The latter implies that occurrence of blue colonies strictly depends on activation of transcription of *lacZ* as a (expected) prerequisite of mistranslation. To conclude, our studies defined conditions where mistranslation can be reproducibly observed.

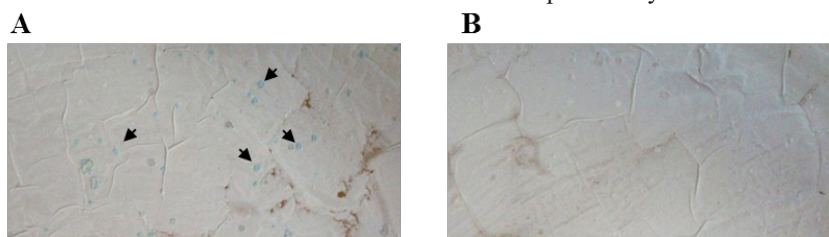


Fig. 2. Fragments of lawns of *S. albus* OK3-RV3 grown on TSA supplemented with X-Gal (100 mcg/mL) with (A) or without (B) of cumate. Arrows indicate blue colonies

As a pilot test of the developed system, we assayed a number of compounds as potential inducers of LacZ mistranslation. The compounds (fully listed in Materials and Methods) include commonly used antibiotics, metals, organic dyes and stressors, such as hydrogen peroxide. The disc diffusion assay revealed only one compound, chloramphenicol, that significantly enhanced the expression of *lacZ* from pRV3 plasmid (Fig. 3). Somewhat surprisingly, known inducers of

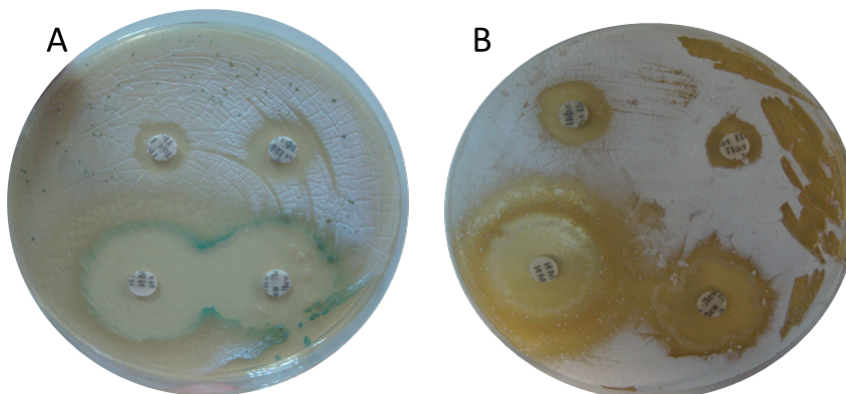


Fig. 3. Chloramphenicol induces *lacZ* expression in OK3-RV3 strain in presence of *lacZ* transcription inducer cumate (A). In the absence of cumate (B) no blue color was visible

mistranslation, such as streptomycin and kasugamycin, had no effects on development of blue colour by OK3-RV3 strain on assay plates. Nevertheless, as the chloramphenicol is well-known translation elongation inhibitor. Hence, our results are in line with the possibility that other compounds that target translation can also be inducers of UUA mistranslation.

Acknowledgements. B.O. was supported by the grant BG-41Nr from Ministry of Education and Science of Ukraine. 2017 Microbial Genetics class is thanked for producing some of the data presented in Fig. 3.

REFERENCES

1. Bilyk B., Luzhetskyy A. Unusual site-specific DNA integration into the highly active pseudo-attB of the *Streptomyces albus* J1074 genome // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2014. Vol. 98. P. 5095–104.
2. den Hengst C., Tran N., Bibb M. et al. Genes essential for morphological development and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* are targets of BldD during vegetative growth // Mol. Microbiol. 2010. Vol. 78. P. 361–79.
3. Drummond D., Wilke C. The evolutionary consequences of erroneous protein synthesis // Nat. Rev. Genet. 2009. Vol. 10. P. 715–24.
4. Higo A., Horinouchi S., Ohnishi Y. Strict regulation of morphological differentiation and secondary metabolism by a positive feedback loop between two global regulators AdpA and BldA in *Streptomyces griseus* // Mol. Microbiol. 2011. Vol. 81. P. 1607–22.
5. Hopwood D. Genetic analysis and genome structure in *Streptomyces coelicolor* // Bacteriological Reviews. 1967. Vol. 31. P. 373–403.
6. Horbal L., Luzhetskyy A. Dual control system – A novel scaffolding architecture of an inducible regulatory device for the precise regulation of gene expression // Metabolic Engineering. 2016. Vol. 37. P. 11–23.
7. Kieser T., Bibb M., Buttner M. et al. Practical *Streptomyces* genetics. Norwich: John Innes Foundation. 2000. 634 p.
8. Koshla O., Lopatniuk M., Rokytskyy I. et al. Properties of *Streptomyces albus* J1074 mutant deficient in tRNA(Leu)(UAA) gene *bldA* // Arch. Microbiol. 2017. Vol. 199. P. 1175–83.
9. Lawlor E., Baylis H., Chater K. Pleiotropic morphological and antibiotic deficiencies result from mutations in a gene encoding a tRNA-like product in *Streptomyces coelicolor* A3(2) // Genes Dev. 1987. Vol. 1. P. 1305–10.
10. Makitrynskyi R., Ostash B., Tsyplik O. et al. Pleiotropic regulatory genes *bldA*, *adpA* and *absB* are implicated in production of phosphoglycolipid antibiotic moenomycin // Open Biology. 2013. Vol. 3. 130121.
11. Merrick M. A morphological and genetic mapping study of bald colony mutants of *Streptomyces coelicolor* // J. Gen. Microbiol. 1976. Vol. 96. P. 299–315.
12. Myronovskyy M., Welle E., Fedorenko V., Luzhetskyy A. β -Glucuronidase as a sensitive and versatile reporter in actinomycetes // Appl. Environ. Microbiol. 2011. Vol. 77. P. 5370–83.
13. Piret J., Chater K. Phage-mediated cloning of *bldA*, a region involved in *Streptomyces coelicolor* morphological development, and its analysis by genetic complementation // J. Bacteriol. 1985. Vol. 163. P. 965–72.
14. Rebets Y., Ostash B., Fukuhara M. et al. Expression of the regulatory protein LndI for landomycin E production in *Streptomyces globisporus* 1912 is controlled by the availability of tRNA for the rare UUA codon // FEMS Microbiol. Lett. 2006. Vol. 256. P. 30–7.
15. Rokytskyy I., Koshla O., Fedorenko V., Ostash B. Decoding options and accuracy of translation of developmentally regulated UUA codon in *Streptomyces*: bioinformatic analysis // SpringerPlus. 2016. Vol. 5. P. 982.

16. Sambrook J., Russell D. W. *Molecular cloning: a laboratory manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory. 2001. 450 p.
17. Takano E., Tao M., Long F. et al. A rare leucine codon in *adpA* is implicated in the morphological defect of *bldA* mutants of *Streptomyces coelicolor* // *Mol. Microbiol.* 2003. Vol. 50. P. 475–86.
18. Trepanier N., Jensen S., Alexander D., Leskiw B. The positive activator of cephamycin C and clavulanic acid production in *Streptomyces clavuligerus* is mistranslated in a *bldA* mutant // *Microbiol.* 2002. Vol. 148. P. 643–56.
19. White J., Bibb M. *bldA* dependence of undecylprodigiosin production in *Streptomyces coelicolor* A3(2) involves a pathway-specific regulatory cascade // *J. Bacteriol.* 1997. Vol. 179. P. 627–33.
20. Zaburannyi N., Ostash B., Fedorenko V. TTA Lynx: a web-based service for analysis of actinomycete genes containing rare TTA codon // *Bioinformatics.* 2009. Vol. 25. P. 2432–3.

Стаття: надійшла до редакції 16.02.18

прийнята до друку 06.03.18

ГЕНЕТИЧНА ТЕСТЕРНА СИСТЕМА ДЛЯ ВИВЧЕННЯ МІСТРАНСЛЯЦІЇ ЛЕЙЦИНОВОГО КОДОНУ UUA В *STREPTOMYCES*

О. Кошла, Б. Осташ

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

Серед усіх кодонів ТТА є найрідкіснішим для ГЦ-багатих геномів стрептоміцетів. Цей кодон характерний для генів, що не є важливими для виживання, зокрема, задіяних у морфологічній диференціації чи вторинному метаболізмі. Затримана в часі (з досі не з'ясованих причин) – порівняно з іншими кодонами – трансляція ТТА кодону обмежує антибіотичну продукцію та формування спор до певного періоду життєвого циклу стрептоміцетів, найчастіше до стаціонарної фази розвитку культури. Під час синтезу білка кодон ТТА декодується лише однією тРНК^{Leu}_{UAA}, також відомою як продукт гена *bldA*. Разом кодон ТТА і тРНК, що його декодує, формують специфічний регуляторний «перемикач», скоординоване функціонування якого є необхідним для нормального перебігу життєвого циклу та біосинтезу низки антибіотиків. Цікаво, що деякі ТТА-вмісні гени експресуються (фенотипово) у делеційних *bldA*-мутантів. Зазвичай у таких випадках припускають містрансляцію UUA кодонів, хоча доказів цього не вистачає. У цій роботі ми використали нещодавно сконструйованого *bldA*-мутанта *Streptomyces albus* J1074 та репортерний ген β-галактозидази для створення генетичної системи вивчення містрансляції. Ми описуємо перші експерименти, що демонструють функціонування розробленої аналітичної системи.

Ключові слова: *Streptomyces*, *bldA*, містрансляція, репортерний ген

**NEW NOOTROPIC PREPARATION FROM BLOOD PLASMA (ADEMENT):
LACK OF THERAPEUTIC INFLUENCE ON *DROSOPHILA*
NEURODEGENERATIVE MODEL**

N. Matiytsiv¹, Kh. Dronska¹, O. Makarenko²

*¹Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*

*²Pereyaslav-Khmelnytsky Hryhoriy Skovoroda State Pedagogical University
30, Suhomlynskyi St., Pereyaslav-Khmelnytsky 08401, Ukraine
e-mail: matiytsiv@yahoo.com*

Development and research of new neuroactive agents remain relevant because of neurodegenerative diseases incurability. We tested an experimental preparation created from the peptide blood components of Alzheimer's patients in remission period. It was assumed that this product contained autoneuroactive molecules that might have therapeutic or prophylactic potential. Experimental preparation was tested on *Drosophila* *sws*-dependent neurodegenerative model. One test system was presented by wild type *Oregon R* and *sws¹* mutants; another one was presented by transgenic lines for UAS-GAL4 controlled knockdown of *sws* gene in glial cells. Adement and negative control BPAP (blood plasma components of Alzheimer's patients) were fed in two ways: for larvae or on adult stage. The effects of preparations were evaluated by the survival of tested flies. Flies with different genotypes, fed in different ways showed individual survival characteristics in each particular case. However, we did not detect any cases of survival increasing; conversely, in some cases Adement reduced survival. The results showed no influence or toxicity effect of Adement on both control individuals and flies with *sws*-dependent neurodegeneration.

Keywords: neuroactive peptides, Alzheimer disease, *Drosophila*, *swiss cheese* gene, survival test

One of the urgent medical and social problems of the modern world is neurodegenerative diseases, because they are the main reason of disability and untimely death of population in developed countries. According to worldwide statistics, nearly 50 million people suffered Alzheimer's disease (AD) or a related dementia [2]. Neurodegenerative diseases are currently incurable and the number of people who live with dementia is increasing progressively in aging populations. At this time, we have no effective therapy; clinical tests report that few medicines are designed for Alzheimer disease treatment, and 99.6 % of drugs tested turn to be ineffective [9].

Nowadays, one of the promising areas of investigation is the search for potential therapeutic targets for symptomatic treatments of neurodegenerative diseases that may include neuroprotective factors, among these are nootropic drugs and neuroactive peptides [8]. In recent years, peptide neuroprotective agents showed extensive development due to low toxicity, minimal adverse effects, solubility in aqueous media. There is a peptide nature such as Cerebrolysin, which has neuroprotection action on brain [3]. Whereas it is known that invertebrate and vertebrate organisms are able to produce their own neuroactive factors [6, 22], this is the basis for the idea of developing of a medicine with a substance that can be produced in patients with neurodegenerative disease in remission. One of such drugs is experimental preparation Adement that was obtained from the blood of people suffering from Alzheimer's disease in remission [23].

Considering the methodological and ethical issues associated with research on humans, it is recommended to use model objects such as *Drosophila melanogaster*. It is a good test system for primary screening because there are similarities in morphological, biochemical, and functional characteristics between pathological changes in the structure of the brain of neurodegenerative *Drosophila* mutants and humans suffering from neuropathies [10, 16]. Almost all genes related to neurodegeneration in humans have orthologs in the *Drosophila* genome. The large number of stocks with point mutation which characterized neurodegenerative modifications in the brain and possibility to create the controlled knockdown of separate genes in cells of certain types makes *D. melanogaster* a convenient tool for deepening our knowledge of the genetic nature of the pathology of some damages of the CNS and screening of the efficiency of novel experimental remedy. In addition, very important for such research is that *D. melanogaster* has complex brain and nervous system with glial helper cells and that the brain is protected by a barrier akin to the blood-brain barrier.

In recent years, glial cells attract more attention in the study of the mechanisms of neurodegeneration and search for the therapeutic approaches. *Drosophila* has various types of glial cells which play the same role as in the vertebrates: trophic function, regulation of neurotransmitters transport, formation of hemolymph – brain barrier [15, 20]. This is why in our research we used flies with altered function of *swiss cheese (sws)* gene, which is ortholog of human *PNPLA6* gene (Patatin Like Phospholipase Domain Containing 6) also known as a *NTE* (Neuropathy Target Esterase) [18, 26]. *Sws* mutants have glial hyperwrapping around neuron, vacuolization and brain degeneration [14, 24], knockdown of SWS in glial cells led to extensive tissue degeneration in corresponding brain part [11, 14]. *Sws* flies are good model of glial-dependent neurodegeneration and testing system for therapeutic agents with possible non-specific influence through glial cells.

In this study, we tested experimental preparation Adement and blood plasma components of Alzheimer's patients (BPAP) as a negative control on *sws*-dependent neurodegeneration *Drosophila* model.

Materials and Methods

Drosophila Stocks. The *sws*¹ strain was kindly provided by Doris Kretzschmar (USA) [14], and *Oregon-R* provided by the Bloomington *Drosophila* Stock Center (USA) was used as a control. To create the knockdown of *sws* gene in glial cells, we used Gal4-UAS binary system: the *w^{*};P{UAS-*sws*-RNAi}3* strain was obtained from Vienna *Drosophila* RNAi Center (Austria) and the driver *Repo-Gal4/TM3, Ser* strain was kindly provided by Prof. Karl-Friedrich Fischbach (Germany). In this case, heterozygote driver *Oregon/Repo-Gal4* was used as a control. All flies were kept in vials in a thermostat under standard conditions (+24 – +25 °C).

Preparations. The subject of study was experimental preparation Adement kindly provided by developers [23]. The method for preparing the agent includes blood sampling, obtaining blood plasma and its aliquoting. The blood sampled in the patient with Alzheimer disease in the course of remission was stored at the temperature of (20±2)°C for (24±2) months or at the temperature (-20±2)°C for (36±6) months. As a negative control, we used similar agent from blood plasma of Alzheimer patients collected on the acute phase of a disease (BPAP).

Treatments and Survival Assays. For treatment, two approaches were used as described before [7]. In one of the examined groups, preparations were added to the standard nutritional medium [4], which was used only for feeding the larvae. Adult flies were kept in this case in preparations-free medium. Larvae feeding based on knowledge about larval stage as main nutritional stage in *Drosophila* ontogenesis [1]. In another group, preparations were fed to flies in the adult stage (imago); preparations were added to the 10 % sucrose solution. Flies were in vials; a filter

paper soaked with the preparations-containing solution was placed at the bottom of the tube. We added blue food color together with Adement and observed blue color of flies' abdomens, thereby confirming the solution was consumed.

The tested preparations were added to the nutritional medium; the potential maximum daily dose for humans (26 μ l) was recalculated per 100 ml of the standard nutritional medium or 10 % sucrose solution.

100 flies of each genotype and each examined group were collected, divided into vials of 10 flies, and moved to proper fresh medium every 2–3 days. The number of live flies and those lost to follow-up was counted every 2–3 days. Survival curves were analyzed using Kaplan-Meier plots by GraphPad Prism 6 (Graphpad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Log-rank test was used to estimate statistically significant difference.

Results and Discussion

For functional knockout of *sws*, we used panglial driver – Repo-Gal4, as described before *UASswsRNAi/RepoGal4* flies demonstrated brain tissue vacuolisation in glia rich area [7]. At larvae feeding, control flies demonstrate definite difference in survival neither with Adement effect nor with BPAP compared with standard medium (Fig. 1, A). Adement led to significant decrease of *UASswsRNAi/RepoGal4* flies lifespan ($p \leq 0.0001$), while BPAP had no effect (Fig. 1, B). Data was lower on Adement ($p \leq 0.02$) when comparing curves on Adement and BPAP survival

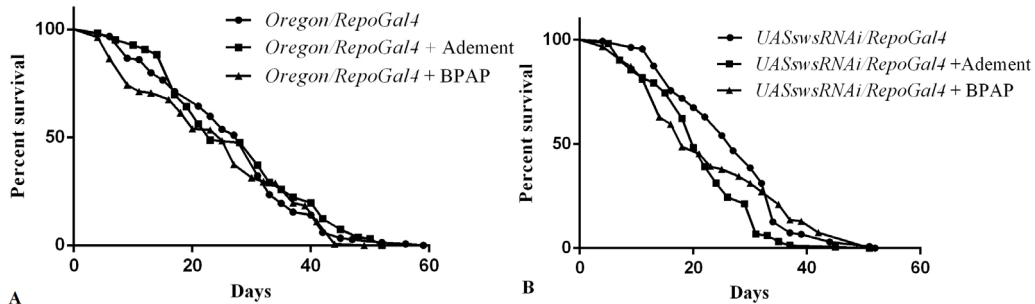


Fig. 1. Survival curves for functional knockout of *sws* in glia *UASswsRNAi/RepoGal4* (B) and control flies *Oregon/RepoGal4* (A) after larva treatment by Adement and BPAP compared to standard medium

At adult feeding, *Oregon/RepoGal4* control flies show significant decrease of survival after Adement and BPAP treatment ($p \leq 0.0001$) (Fig. 2, A). Adement and BPAP showed even more negative effect on lifespan of flies with knockdown (Fig. 2, B). However, Adement turned to be more toxic ($p \leq 0.0001$) when comparing Adement and BPAP.

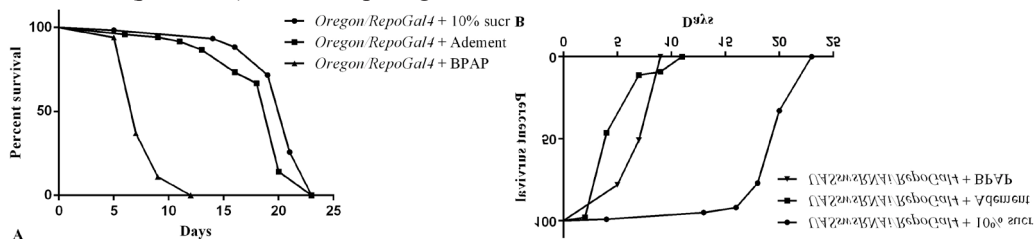


Fig. 2. Survival curves for functional knockout of *sws* in glia *UASswsRNAi/RepoGal4* (B) and control flies *Oregon/RepoGal4* (A) after adult treatment by Adement and BPAP compared to 10 % sucrose solution

At larvae feeding, Adement did not have any effect on wild type *Oregon R* flies' lifespan, while BPAP substantially shortened it ($p \leq 0.0001$) (Fig. 3, A). *sws¹* mutants' survival significantly

worsened both after Adement and BPAP ($p \leq 0.0001$); BPAP turned to be more toxic ($p \leq 0.0001$), when comparing Adement and BPAP with each other (Fig. 3, B).

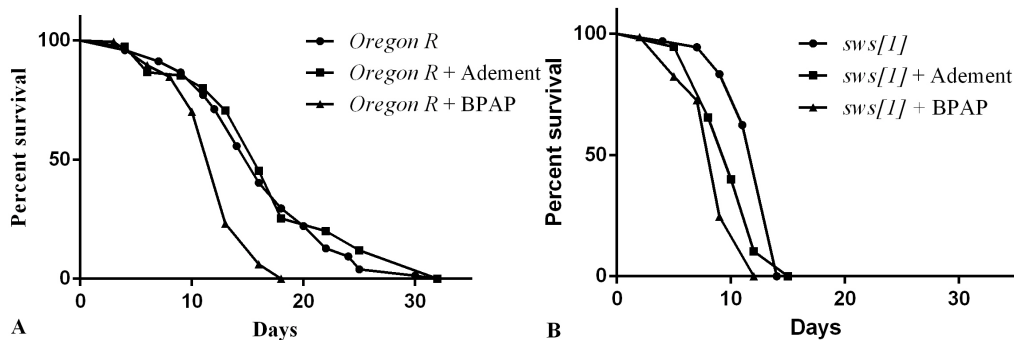


Fig. 3. Survival curves for wild type *Oregon R* (A) and *sws¹* mutants (B) after larva treatment by Adement and BPAP compared to standard medium

At adult feeding, wild type *Oregon* lived much worse on both Adement ($p \leq 0.0005$) and BPAP ($p \leq 0.015$) (Fig. 4, A). Both preparations had negative effect on *sws¹* mutants compared with survival on 10% sucrose, BPAP was more toxic ($p \leq 0.0002$) (Fig. 4, B).

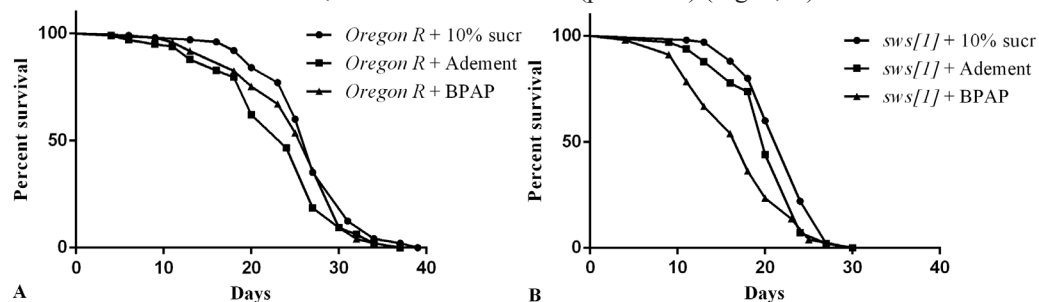


Fig. 4. Survival curves for wild type *Oregon* (A) and *sws¹* mutants (B) after adult treatment by Adement and BPAP compared to 10% sucrose solution

In our study, we looked closely at autoplasmtherapy concept of neurodegenerative disorders. The basis of Adement development is the hypothesis about appearance of some curative agents in blood of Alzheimer patients during remission. A possibility of spontaneous temporary remission during AD is still controversial. Usually, improvements are not observed in AD, in contrast, they underline constant progressive degeneration. Nevertheless, there are some evidences about possibility of temporary awakening of a patient with AD [5]. Adement developers assumed appearance of an autocure neuroactive substance in patient's organism, which could accumulate in blood [23]. Following this hypothesis, blood components taken from the same patient in the stage of impairment (BPAP) should be used as a negative control in experimental study in model organisms.

Taking into account that remission is observed not in all Alzheimer's disease patients, Adement preparation can be produced not for each AD patient's autotherapy. However, if effective, it could be used as a general medicine or even serve as a basis for development of prophylactic drug that would solve a problem of prophylactics or delayed induction of disease. Adement is a group of peptides and aminoacids among which small effector molecules or autoneuroprotectors of peptide nature could be found.

There is an assumption that it is protein molecules that have to carry out possible therapeutic function. So, it can be assumed that pathological protein molecules also could be transferred

with patient's blood and cause the disease. One of the warnings of such a procedure was the possibility of transmission of neurodegenerative disorders. However, at this time there is sufficient evidence of the impossibility to get AD through blood transfusion [12, 19].

Drosophila has a complex blood-brain barrier formed by glial cells, this is a highly conservative structure similar to that in the vertebrates. Amino acids and small peptides can transit through the blood-brain barrier in *Drosophila* brain. It is important that almost all molecules transporters in vertebrates have homologs in *Drosophila* [17, 20]. Thus, the human orthologs of SWS - NTE protein, is fully functional when expressed in flies [26]. Moreover, it is known that the expression of mutant human proteins APP, alpha-synuclein, and others in wild-type flies individuals cause the formation of pathological structures and physiological changes [13, 16]. These data prove that *Drosophila* is an adequate model for human neuroactive peptides study.

In our study, we used two types of fly model systems: a point mutants and transgenic organisms for a targeting gene expression. In such investigation, it is important to combine above mentioned model systems because of differences in genomic and physiological background despite the same gene involving. Another important issue is a way of drug feeding. Different stages of lifespan of vertebrates and invertebrates observed different patterns of gene expression. It is believed that there are small effector molecules which may have stage-specific positive effects in one part of the life span but neutral or negative effects in another part [25] and may have a gene-specific target pattern. In particular, it was shown that experimental peptide preparation Mitochondrin-2 has neuroprotective effect on *sws*-model flies only in case of larva feeding [7].

The results of our study demonstrated no effect or negative influence of Adement on survival of control and *sws*-dependent model flies. After these results of survival test were obtained, it was of no reasons to do any further research of these drugs on this model. According to our results, Adement did not show therapeutic effect, and in some cases it was more toxic than BPAP, that contradicts initial hypothesis. It is worth stressing that different data obtained for different genotypes, and with influence on different development stages strengthen importance of combining model systems of a single gene, and feeding ways.

We conclude that experimental peptide preparation from blood components of Alzheimer's patients in remission (Adement) had no positive effect on survival of *Drosophila sws*-dependent neurodegeneration model.

REFERENCES

1. Agrell I., Lundquist A. Physiological and biochemical changes during insect development; in rockstein M (eds): The Physiology of Insecta. New York: Acad.Press, 1973. Vol. 1. P. 159–233.
2. *Alzheimer's Disease International*. World Alzheimer Report 2016. ADI London, 2016.
3. *Alzheimer's Drug Discovery Foundation*. Cerebrolysin. New York, 2016.
4. Ashburner M. *Drosophila: a Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Lab, 1989. 1331 p.
5. Bloch F. A transient awakening of a patient with Alzheimer's disease that questions our practice // Clin. Case Rep. 2016. Vol. 4. N 4. P. 376–378.
6. Catalani E., De Palma C., Perrotta C., Cervia D. Current evidence for a role of neuropeptides in the regulation of autophagy // BioMed. Res. Int. 2017. doi: 10.1155/2017/5856071.
7. Chad M., Artymovych N., Makarenko O., Matiytsiv N. Effects of mitochondrin-2 on the dynamics of degeneration of brain tissues in *Drosophila* with an altered function of the *swiss cheese* gene // Neurophysiology. 2014. Vol. 6. P. 519–524.
8. Ciesler J., Sari Yo. Neurotrophic peptides: potential drugs for treatment of amyotrophic lateral sclerosis and alzheimer's disease // Open J. Neurosci. 2013. Vol. 3. P. 2.

9. Cummings J., Morstorf T., Zhong K. Alzheimer's disease drug development pipeline: few candidates, frequent failures // *Alzheimers Res. Ther.* 2014. Vol. 6. N 4. doi: 10.1186/alz-rt269.
10. Debattisti V., Scorrano L. *D. melanogaster*, mitochondria and neurodegeneration: small model organism, big discoveries // *Mol. Cell. Neurosci.* 2013. Vol. 55. P. 77–86.
11. Dutta S., Rieche F., Eckl N. et al. Glial expression of Swiss cheese (SWS), the *Drosophila* orthologue of neuropathy target esterase (NTE), is required for neuronal ensheathment and function // *Dis. Model Mech.* 2016. Vol. 9. P. 283–394.
12. Edgren G., Hjalgrim H., Rostgaard K. et al. Transmission of neurodegenerative disorders through blood transfusion: a cohort study // *Ann. Intern. Med.* 2016. Vol. 165. P. 316–24.
13. Kim M., Ho A., Lee J. Autophagy and human neurodegenerative diseases – a fly's perspective // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. Vol. 18. P. 1596. doi:10.3390/ijms18071596.
14. Kretzschmar D., Hasan G., Sharma S. et al. The *swiss cheese* mutant cause glial hyperwrapping and brain degeneration in *Drosophila* // *J. Neurosci.* 1997. Vol. 17. P. 7425–7432.
15. Kretzschmar D., Pflugfelder G. Glia in development, function, and neurodegeneration of the adult insect brain // *Brain Res. Bulletin.* 2002. Vol. 57. P. 121–131.
16. Lepesant J. The promises of neurodegenerative disease modeling // *C. R. Biol.* 2015. Vol. 338. P. 589–92.
17. Limmer S., Weiler A., Volkenkoff A. et al. The *Drosophila* blood-brain barrier: development and function of a glial endothelium // *Front Neurosci.* 2014. Vol. 8. doi: 10.3389/fnins.2014.00365.
18. Lush M., Li Y., Read D. et al. Neuropathy target esterase and a homologous *Drosophila* neurodegeneration-associated mutant protein contain a novel domain conserved from bacteria to man // *Biochem. J.* 1998. Vol. 332. P. 1–4.
19. Lyon J. Study suggests alzheimer and parkinson disease are not transmitted through blood transfusion // *JAMA.* 2017. Vol. 317. P. 123–124.
20. Mohylyak I., Chernyk Ya. Functioning of glia and neurodegeneration in *Drosophila melanogaster* // *Cytology and Genetics.* 2017. Vol. 51. P. 202–213.
21. Mühlig-Versen M., da Cruz A., Tschäpe J. et al: Loss of *swiss cheese*/neuropathy target esterase activity causes disruption of phosphatidylcholine homeostasis and neuronal and glial death in adult *Drosophila* // *J. Neurosci.* 2005. Vol. 25. P. 2865–2873.
22. Quankun H., Binbin W., Jeffrey L. et al. Circadian rhythm neuropeptides in *Drosophila*: signals for normal circadian function and circadian neurodegenerative disease // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. Vol. 18. doi: 10.3390/ijms18040886.
23. Patent 105240 Ukrainian Patents Database 2016. The method of obtaining a therapeutic and prophylactic preparation “Adement” / Shestunov A., Makarenko O. Published 10.03.2016.
24. Ryabova E., Matiytsiv N., Trush O. et al. Swiss cheese, *Drosophila* ortholog of hereditary spastic paraplegia gene NTE, maintains neuromuscular junction development and microtubule Network; in Perveen F. K. (eds): *Drosophila melanogaster – Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics.* InTech, 2018. doi: 10.5772/intechopen.73077.
25. Soh J., Marowsky N., Nichols T. et al. Curcumin is an early-acting stage-specific inducer of extended functional longevity in *Drosophila* // *Exp. Gerontol.* 2013. Vol. 48. P. 229–239.
26. Sujkowski A., Rainier S., Fink J., Wessells R. Delayed induction of human NTE (*PNPLA6*) rescues neurodegeneration and mobility defects of *Drosophila swiss cheese* (*sws*) mutants // *PLoS One.* 2015. Vol. 10. doi: 10.1371/journal.pone.0145356.

**НОВИЙ НООТРОПНИЙ ЗАСІБ ІЗ ПЛАЗМИ КРОВІ (ADEMENT):
ВІДСУТНІСТЬ ТЕРАПЕВТИЧНОГО ВПЛИВУ НА ЗМОДЕЛЬОВАНУ
НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦІЮ У *DROSOPHILA*****Н. Матійців¹, Х. Дронська¹, О. Макаренко²**¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна²Переяслав-Хмельницький державний педагогічний університет
імені Григорія Сковороди
вул. Сухомлинського, 30, Переяслав-Хмельницький 08401, Україна
e-mail: matiytsiv@yahoo.com

Розробка та дослідження нових нейроактивних речовин залишаються актуальними через невиліковність нейродегенеративних захворювань. Ми перевірили експериментальний засіб, створений із білкових компонентів крові пацієнтів із хворобою Альцгеймера в період ремісії. Передбачалося, що цей засіб містить автонеуроактивні молекули, які можуть мати терапевтичний або профілактичний вплив. Експериментальний засіб було перевірено на модельному організмі *Drosophila* зі *sws*-залежною нейродегенерацією. Одну тестову систему було представлено особинами дикого типу *Oregon R* і мутантами *sws¹*; іншу було представлено трансгенними лініями для UAS-GAL4 керованого нокдауну гена *sws* у гліальних клітинах. Adement і негативний контроль ВРАР (білки плазми крові пацієнтів із хворобою Альцгеймера) згодували двома способами: личинкам або на стадії імаго. Ефекти засобів оцінювали за виживанням досліджуваних особин. Мухи з різними генотипами й оброблені різними способами виявили індивідуальні показники виживання в кожному окремому випадку. Однак ми не встановили жодного із покращенням виживання, навпаки, в деяких випадках Adement знижував виживання. Результати вказують на відсутність ефекту або токсичність засобу Adement як на контрольних особин, так і на мух зі *sws*-залежною нейродегенерацією.

Ключові слова: нейроактивні пептиди, хвороба Альцгеймера, *Drosophila*, ген *swiss cheese*, виживання

УДК 546.23:162.94(477.87)

ХІМІЧНІ ЕЛЕМЕНТИ У ҐРУНТАХ І ЛІЗИМЕТРИЧНИХ ВОДАХ ЕКОСИСТЕМ ЧОРНОГОРИ (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ)

Є. Пука, В. Козловський

*Інститут екології Карпат НАН України
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна
e-mail: vkozlovskyy@gmail.com*

На основі даних про гранулометричний склад, кислотність (актуальну, обмінну, гідролітичну), $C_{\text{орг.}}$, суму обмінних основ, вміст мікро- та макроелементів (Zn, Ni, Cd, Fe, Mn, Cu, Sr, K, Na, Pb, Al, Ca, Mg, Si, SO_4) у твердій фазі ґрунту і відповідних показників у природних водах проаналізовано процеси, які відбуваються у ґрунтах лучного та смерекового угруповання з точки зору буроземотворення. Кислотність лізіметричних вод, як і кислотність твердої фази ґрунту значно вищі у лісовому угрупованні, порівняно з лучним. Вимивання глинистих частинок із верхніх горизонтів ґрунту лісової екосистеми відбувається у 2–3 рази інтенсивніше, ніж у лучній. Вміст органічної речовини й обмінних основ однаковий для гумусового горизонту обох типів екосистем, але нижня частина ґрунтового профілю смеречини збагачена цими складовими. Виявлено інтенсивне вимивання хімічних елементів і слабку їхню диференціацію у ґрунтовій товщі обох типів екосистем. Хімічний склад лізіметричних вод, коефіцієнт розподілу елементів у системі ґрунт-лізіметричні води (Kd), співвідношення $SiO_2:Al_2O_3$ свідчать про інтенсивніші процеси вивітрювання у лісовій екосистемі. Показано, що процеси, які відбуваються у ґрунтах досліджених рослинних угруповань, є односпрямованими і характерними для процесу буроземотворення території дослідження. Однак, незважаючи на односпрямованість, перетворення гірських порід відбувається значно інтенсивніше у ґрунті лісової екосистеми, порівняно з лучною.

Ключові слова: буроземи, лізіметричні води, хімічні елементи

Розглядаючи ґрунтову вологу як одну із найважливіших категорій природних вод у біосфері, В.І. Вернадський вважав її “основним субстратом життя” і “основним елементом механізму біосфери” [2]. Трансформація продуктів вивітрювання, розкладання органічної речовини, розчинення й новоутворення мінералів, рух, перерозподіл і винесення хімічних елементів за межі ґрунтового профілю, тобто усі процеси хімічного та біотичного перетворення речовини у ґрунті відбуваються за участі й безпосередньо у рідкій фазі. Вивчення ґрунтових вод дає можливість оцінити динамічні процеси, що відбуваються у ґрунті, й уявити сучасні тенденції процесу ґрунтоутворення. Особливо інформативними лізіметричні методи є у дослідженнях функціонального стану екосистем, коли вплив тих чи інших факторів (природних або антропогенних) призводить до розбалансування екосистеми і переходу її до функціонування на новому рівні. Зміни функціонального стану екосистем відобразатимуться на фізичних і фізико-хімічних параметрах ґрунтів, у першу чергу на фізико-хімічних параметрах ґрунтових вод. Оцінка ступеня змін властивостей ґрунтового розчину в контексті ґрунотвірних процесів, характерних для даної території, може стати основою для ранньої діагностики стану і тенденцій трансформації екосистем.

Об’єкти, матеріали та методика

Дослідження проводили на території Карпатського національного природного парку. Пробні площі займають південно-східний схил гори Пожижевська. Монодомінантне

корінне угруповання смереки європейської (*Picea abies* (L.) H. Karst.), смеречина чорницева (*Piceetum myrtillosum*) розташоване на схилі південно-східної експозиції 50 м нижче верхньої межі лісу на висоті 1350 м н.р.м; всохла досліджувана ділянка смерекового лісу площею ≈ 500 м² – поряд на тій же висоті. Лучне угруповання, червонокостричник різно-травний, сформоване переважно злаками, площею ≈ 200 м² розташоване вище по схилу на висоті 1400 м н.р.м. на ділянці, що останні кілька десятиліть після припинення випасу за-ростає смерекою (урочище Язык).

Зі зразків ґрунту, відібраних за генетичними горизонтами, виділяли дрібнозем (фракція <1,0 мм), у якому визначали кислотність (актуальну, гідролітичну, потенційну), рухомий алюміній, суму обмінних основ, ступінь насиченості основами [1] та вміст органічної речовини [8]. Гранулометричний склад ґрунту визначали методом піпетки за Качинським [3]. Підготовку ґрунтових зразків до аналізу на валовий вміст Zn, Ni, Cd, Fe, Mn, Cu, Sr, K, Na, Pb, Al здійснювали послідовною обробкою попередньо прожареної за 450 °C проби ґрунту (дрібнозему) спочатку HF, а потім сумішшю HCl та HNO₃ у співвідношенні 3:1 [5].

Лізиметричні води відбирали за допомогою гравітаційних лізиметрів [12]. Зразки природних вод із лізиметрів та опадовловлювачів відбирали після інтенсивних дощів протягом вегетаційного сезону.

Метали, за винятком Al, Ca та Mg, визначали атомно-абсорбційним (Zn, Ni, Cd, Fe, Mn, Cu, Pb) або атомно-емісійним (Sr, K, Na) методом на спектрофотометрі C115M1 у пропан-бутановому полум'ї з використанням дейтерієвого коректора неселективної абсорбції. Визначення проводили у трьох повторностях. Відносна похибка за P=95 % не перевищувала 5 %. Al визначали з алюміноном [9], Ca та Mg комплексометрично [1], SO₄²⁻ – спектрофотометрично з хроматом барію [9], Si – модифікованим методом Малена і Райлі [11].

Результати і їхнє обговорення

Гранулометричний склад ґрунту (табл. 1) свідчить про збіднення мулистими частинками (>0,001 мм) верхньої частини ґрунтових розрізів усіх досліджуваних угруповань, з одночасним оглиненням середньої частини ґрунтового профілю. Тобто у досліджених ґрунтових розрізах наявні ознаки лесиважу – гідромеханічного перенесення мулистих частинок дрібнозему (>0,001 мм) з поверхневих елювіальних горизонтів і їхня акумуляція в елювіальних шарах ґрунтового профілю (без руйнування алюмосилікатів). Помітно, що цей процес більш виражений у лісовому угрупованні, де накопичення мулистих частинок відбувається вже від глибини 10 см, тоді як у профілі лучного угруповання слабке оглинення виявлене тільки в перехідному до материнської породи горизонті на глибині нижче 40 см. Інтенсивність лесиважу в ґрунтах досліджуваних екосистем оцінювалася відповідно до чотирибальної шкали, запропонованої А.А. Роде [10]. Шкала Роде побудована на оцінці співвідношень вмісту мулу в досліджуваному горизонті до його вмісту в материнській породі. Ознак лесиважу немає, якщо вміст мулу відрізняється не більш ніж на 3 %, лесиваж виражений слабо, якщо є різниця в межах 3–10 %, середній ступінь лесиважу – 10–50 %, а ознакою інтенсивного лесиважу є різниця у накопиченні мулистих частинок більше 50 %. У ґрунтах досліджених лісових екосистем (у т. ч. всихаючої) ця різниця становить 15–20 % для горизонтів Нр і Ph, тобто відповідає середньому ступеню лесиважу. У лучному угрупованні, як було зазначено, лесиваж притаманний лише горизонту Ph і виражений слабо – різниця становить лише 7 %. Тут необхідно відзначити, що явище оглинення є типовим, хоча і не обов'язковим для карпатських буроземів [7]. Збіднення верхнього густо пронизаного корінням гумусового горизонту глинистими частинками, очевидно, відбувається насамперед унаслідок гідромеханічного перенесення мулистих частинок дрібнозему (>0,001 мм) з поверхневих горизонтів в елювіальні шари ґрунтового профілю. Однак оглинення серед-

Таблиця 1

Гранулометричний склад ґрунтів Черногори, 06.2014

Горизонт, см	Розмір частинок в мм, кількість в %					
	фізичний пісок			фізична глина		
	пісок		пил		мул	
	1-0,25	0,25-0,05	0,05-0,01	0,01-0,005	0,005-0,001	>0,001
Всохла смеречина чорницева						
H 0-5	3.65	29.79	26.60	7.04	27.04	5.88
Hр 10-40	0.80	24.67	25.22	8.23	20.19	20.89
Ph 40-70	0.24	11.48	33.88	11.84	21.92	20.64
P 70-75	5.15	12.77	35.20	10.64	18.92	17.32
Смеречина чорницева						
H 0-7	9.21	39.11	22.52	7.80	15.44	5.92
Hр 7-40	0.95	12.49	35.50	6.78	21.58	22.67
Ph 40-70	0.85	10.63	28.20	13.08	25.52	21.72
P 70-75	2.42	7.30	32.52	15.08	24.52	18.16
Червонокостричник різнотравний						
H 0-5	6.88	21.40	28.56	7.76	22.92	12.48
Hр 5-40	0.29	21.23	14.42	21.57	18.46	24.04
Ph 40-70	2.04	23.88	6.08	14.36	24.48	29.20
P 70-75	0.03	26.33	6.68	10.64	29.12	27.20

ньою частини ґрунтових профілів може бути пов'язане не лише з лесиважем, а й з активним перетворенням первинних мінералів на глинисті внаслідок біотичних процесів розкладання органічної речовини, що спричиняє кислотний гідроліз алюмосилікатів.

Для досліджених буроземів характерна підвищена кислотність верхнього гумусового горизонту, як актуальна, так і потенційна (табл. 2). Варто відзначити вищу кислотність верхньої органомісної частини профілю лісової екосистеми, порівняно з лучною, особливо на фоні значно нижчої кислотності ґрунтоутвірної породи під лісом. Вниз по профілю кислотність знижується. Однак зміна кислотності ґрунту з глибиною відбувається неоднаково в лучному і смерековому угрупованнях. У ґрунті лісової екосистеми кислотність змінюється відповідно до зміни ґрунтових горизонтів – із максимальними значеннями в гумусовому до мінімальних у материнській породі, а вміст рухомого алюмінію та потенційна кислотність зменшується разом із показниками актуальної кислотності. У формуванні кислотності верхніх горизонтів ґрунту як лісового, так і лучного угруповання значний вплив,

Таблиця 2

Фізико-хімічні властивості ґрунтів Черногори, 06.2014

Горизонт, см	рН (H ₂ O)	C _{орг.}	Обмінна кислотність	Гідролітична кислотність	Рухомий Al	Сума обмінних основ	Ступінь насиченості основами
		%					
Всохла смеречина чорницева							
H 0-5	3.90	13.44	17.09	46.79	10.61	3.92	7.73
Hр 10-40	4.12	1.97	15.68	18.00	9.44	1.40	7.36
Ph 40-70	4.51	0.99	11.23	11.39	7.30	2.12	15.69
P 70-75	4.76	0.39	6.18	7.32	5.14	2.84	27.95
Смеречина чорницева							
H 0-7	3.94	14.33	21.36	56.96	12.72	3.92	6.44
Hр 7-40	4.25	3.35	19.94	22.22	13.08	1.58	6.66
Ph 40-70	4.79	2.35	8.79	11.40	6.77	5.36	31.98
P 70-75	4.99	1.30	1.63	4.88	1.39	8.60	63.80
Червонокостричник різнотравний							
H 0-5	4.03	11.82	19.20	34.50	14.47	3.56	9.35
Hр 5-40	4.45	2.70	20.10	21.81	13.92	2.30	9.54
Ph 40-70	4.37	1.24	18.72	19.53	12.43	1.76	8.27
P 70-75	4.28	0.81	17.09	15.62	10.99	1.40	8.23

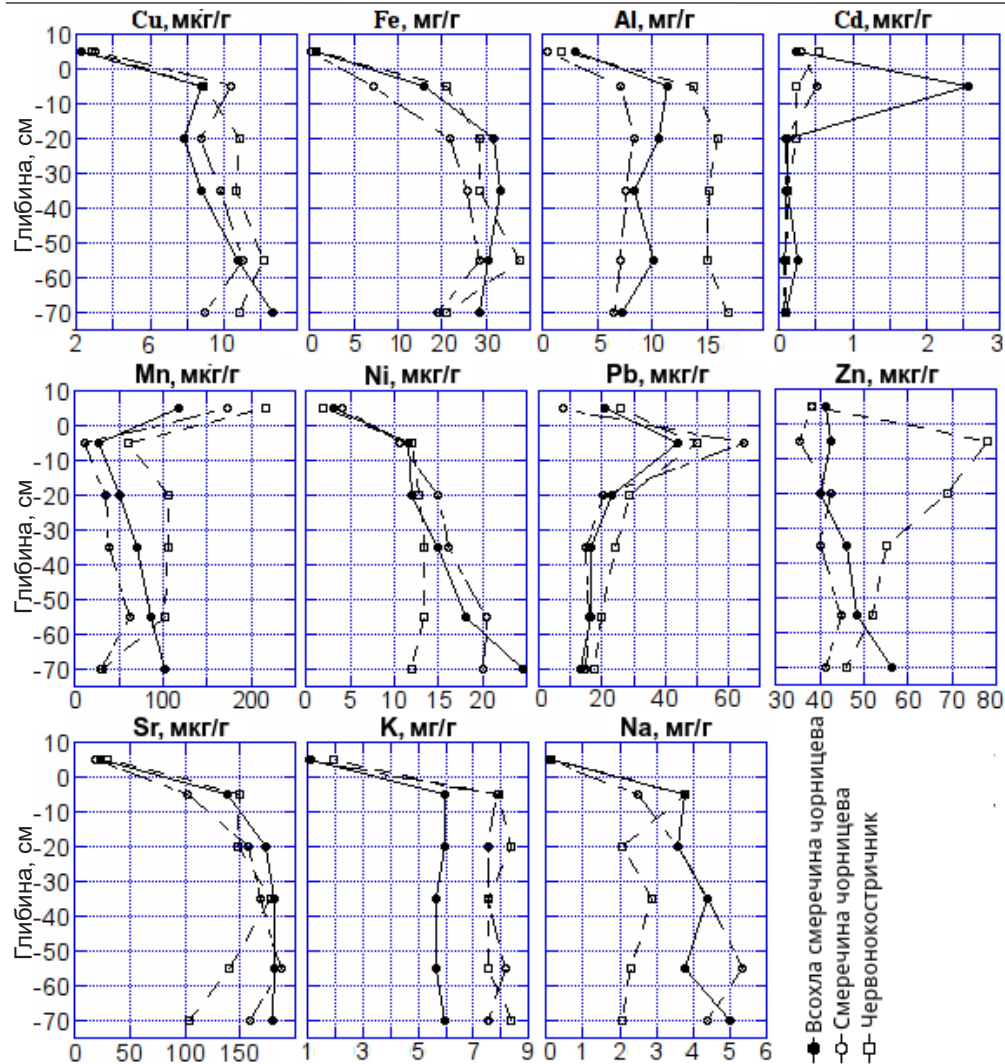
закономірно, мають іони водню – наслідок дисоціації органічних кислот, тоді як у мінеральних горизонтах кислотність визначається в основному рухомим алюмінієм. У лучній екосистемі зміна кислотності менш контрастна, її показники, особливо у нижній частині профілю, помітно вищі від аналогічних показників смерекового лісостану. На відміну від ґрунту лісової екосистеми, значна частка у формуванні потенційної кислотності нижньої частини ґрунтового профілю припадає на іони водню, а з ростом актуальної кислотності потенційна кислотність і вміст рухомого алюмінію зменшуються. Порівняння показників кислотності ґрунту живого смерекового деревостану зі всихаючим угрупованням свідчить, що показники актуальної кислотності ґрунту помітно нижчі від аналогічних показників всихаючого деревостану по всій глибині розрізу, а потенційна кислотність (у т. ч. рухомий Al) залишається нижчою лише у нижній, перехідній до материнської породи частині ґрунтового профілю, тоді як органічні горизонти верхньої частини розрізу мають показники помітно вищі, порівняно з угрупованням, що перебуває на стадії всихання.

Вміст органічної речовини у ґрунтах досліджених угруповань досить високий, що, враховуючи відзначену раніше для карпатських буроземів позитивну кореляцію вмісту гумусу з висотою [7], очікувано. Значної різниці між вмістом органічної речовини у смерековій і лучній екосистемах не виявлено, однак варто відзначити помітно вищий її вміст у нижній частині ґрунтового профілю смеречини. Порівняно зі всихаючою ділянкою смерекового лісу, вміст органічного вуглецю у живій смеречині суттєво вищий, незважаючи на більшу кількість опадів, що розкладається у всихаючому деревостані. Очевидно, зі збільшенням інтенсивності розкладання відмерлої фітомаси у ґрунті одночасно створюються й умови для інтенсивнішого виведення вивільненої органічної речовини за межі екосистеми.

Сума обмінних основ і ступінь насиченості основами верхньої частини ґрунтового профілю лучного та смерекового угруповань майже однакові й дуже низькі за абсолютними показниками. У нижній частині розрізу, практично за межами кореневмісного шару, ці показники є значно вищими у смеречині. Як і у випадку з лучним угрупованням, сума обмінних основ і ступінь насиченості ними верхньої частини ґрунтового розрізу всихаючої лісової ділянки мало відрізняється від аналогічних показників живого смерекового угруповання, тоді як показники нижньої частини профілю принаймні удвічі нижчі.

Валовий вміст хімічних елементів у досліджених ґрунтах свідчить про значну вилуженість розрізів і слабку диференційованість ґрунтових горизонтів за вмістом більшості досліджених хімічних елементів (див. рисунок). Контрастних геохімічних бар'єрів у мінеральній частині ґрунтового профілю немає. Сорбційні бар'єри, приурочені до перехідних горизонтів (Hr, Ph), малоємнісні, і процеси вилуговування елементів є явно домінуючими. Лише вміст Pb та Cd у гумусовому горизонті досліджуваних угруповань і вміст Zn у ґрунті лучної екосистеми кратно перевищує концентрації цих елементів у материнській породі. Якщо високі концентрації свинцю і кадмію можуть мати техногенне походження, то високий вміст цинку у верхній частині ґрунтового розрізу лучного угруповання в поєднанні з низьким вмістом у підстилці й материнській породі пояснити важко. Для всіх досліджених розрізів характерне біогенне накопичення Mn у підстилці. За абсолютними значеннями вміст хімічних елементів у досліджених розрізах, за винятком Pb та Cd у гумусовому горизонті, помітно нижчий від кларку літосфери за Виноградим [4].

Отже, фізико-хімічні властивості та гранулометричний склад досліджених ґрунтів, незважаючи на близьке розташування дослідних ділянок (не більше 100 м), свідчать про трохи різні властивості материнської породи під лучним і лісовим угрупованнями, що, зважаючи на складну геологічну історію формування карпатського флішу, було достатньо ймовірним. Кислотність, як актуальна, так і потенційна, вміст обмінних основ і ступінь на-



Валовий вміст хімічних елементів у ґрунтах Чорногори, 06.2014

сиченості основами виявилися вищими в підстилаючих породах смерекового угруповання, а вміст глинистих частинок – у материнській породі лучного. На сьогодні показано, що буроземоутворення супроводжується вимиванням основ із мінеральних горизонтів і рослинних залишків під час їхнього розкладання. Під час цього у зв'язку з нестачею нейтралізуючих катіонів у ґрунтовий розчин вивільняються органічні кислоти, що призводить до значного підкислення, а надлишок протонів, у свою чергу, сприяє руйнуванню мінеральної частини ґрунту внаслідок кислотного гідролізу алюмосилікатів. Тобто буроземоутворення супроводжується підкисленням ґрунтового розрізу і зменшенням вмісту обмінних основ по всьому профілю. Органічні горизонти ґрунту лучної екосистеми на фоні кислішої та біднішої на основи материнської породи виявилися менш кислими і багатшими на обмінні основи, порівняно з лісовим угрупованням, материнська порода ґрунту якого є менш кислою та значно багатшою на обмінні основи. Буроземоутворення в Карпатах супрово-

джується також вимиванням мулистих частинок із верхньої частини ґрунтового розрізу [7]. Незважаючи на вищі абсолютні показники вмісту мулу в гумусовому горизонті ґрунту лучного угруповання, ступінь вимивання мулистих частинок є вдвічі інтенсивнішим у лісовому угрупованні, про що свідчить його вміст відносно нижче розташованого горизонту Нр. Помітним також є вищий вміст органічного вуглецю практично по всьому профілю смерекового угруповання, що, з огляду на відому роль органічних кислот у процесах руйнування первинних мінералів і оглинення, може бути причиною вищого вмісту глинистих частинок у ґрунті смерекового угруповання, порівняно з лучним.

Фізико-хімічні властивості, механічний склад ґрунту, близьке розташування ділянок живого смерекового лісу та всихаючого угруповання (не більше 30 м) дають підстави стверджувати про незначні відмінності підстилаючих порід. Верхні органогенні горизонти майже не відрізняються за фізико-хімічними властивостями та механічним складом. Невелика різниця у показниках лежить у межах природних статистично обумовлених відхилень. Однак нижні перехідні до материнської породи мінеральні горизонти помітно відрізняються. Показники обмінної та гідролітичної кислотності, в т. ч. рухомий Al, виявилися істотно вищими у всихаючому деревостані. Як наслідок, вища кислотність спричиняє інтенсивніше вимивання основ із ґрунтового профілю, про що свідчать у кілька разів нижчі значення суми обмінних основ і ступеня насиченості основами мінеральних горизонтів всихаючого угруповання. Тобто є підстави стверджувати, що процеси розпаду органічної речовини в основному відбуваються в органогенних горизонтах, звідки в умовах інтенсивного промивного режиму разом із продуктами вивітрювання органічний вуглець виводиться у мінеральні горизонти, несучи достатньо високий потенціал перетворення первинних мінералів і подальшого вимивання основ уже в нижній частині ґрунтового розрізу. Іншими словами, зростання інтенсивності розпаду органічної речовини призводить до збільшення кислотності, збіднення ґрунтового розрізу основами, інтенсифікує трансформацію мінеральної частини ґрунту екосистеми, тобто підсилює процеси, які супроводжують бурозеомоутворення.

Кислотність лізіметричних вод, як і кислотність твердої фази ґрунту, в досліджених угрупованнях має свої особливості. Значення рН лізіметричних вод верхніх органогенних горизонтів, як лучного, так і лісового угруповання, включаючи підстилку, протягом вегетаційного періоду змінюється від найвищої концентрації протонів у літній період до нижчої у весняний (табл. 3). Найкислішими, що характерно для буроземів, виявилися води гумусового горизонту. На межі горизонтів Нр-Ph лізіметричні води обох угруповань стають менш кислими. Істотної різниці кислотності між лізіметричними водами підстилкового і гумусового горизонтів лучного та лісового угруповань не виявлено. Нижче за профілем води перехідного органогенного горизонту Нр лісового угруповання, незважаючи на трохи вищу кислотність вод розташованого вище гумусового горизонту, помітно менш кислі від вод аналогічного горизонту лучної екосистеми. На нашу думку, це пов'язано з нейтралізацією кислих вод гумусового горизонту основами мінеральної складової ґрунту, сформованого на більш ненасиченій основами материнській породі лісового угруповання, порівняно з лучним. На фоні менш кислих материнських порід зберігається принаймні не нижча, порівняно з лучним угрупованням кислотність лізіметричних вод гумусового горизонту лісової екосистеми. Тобто отримані дані щодо кислотності лізіметричних вод лісової та лучної екосистеми не суперечать результатам аналізу кислотності твердої фази ґрунту. Порівнюючи кислотність вод живої смерекової екосистеми зі всихаючою, можна стверджувати про значно кисліші води з-під горизонту Нр всихаючого угруповання, що знову ж таки не суперечить даним аналізу кислотності твердої фази ґрунту. Загалом, отри-

Таблиця 3

Концентрації хімічних елементів у лізиметричних водах Чорногори
(межі коливань, $X \pm \sigma$), 01.09.2014–01.09.2015

Елемент	Угруповання								
	червонокостричник різнотравний			смеречина чорницева			всохла смеречина чорницева		
	Грунтові горизонти								
	H ₀	H	H _p	H ₀	H	H _p	H ₀	H	H _p
Zn,	69-133	120-265	51-102	118-183	63-116	25-298	130-411	138-396	127-239
мкг/л	98±32	173±80	61±37	160±36	88±27	140±145	238±152	260±130	191±59
Cd,	0.05-0.17	0.14-0.25	0.06-0.10	0.08-0.30	0.22-0.35	0.05-0.31	0.17-0.50	0.35-0.69	1.38-1.67
мкг/л	0.11±0.06	0.20±0.06	0.08±0.02	0.17±0.11	0.27±0.07	0.18±0.13	0.32±0.17	0.55±0.18	1.51±0.15
Ni,	1.2-2.5	1.3-1.8	1.1-1.8	2.0-4.6	1.9-3.0	1.9-2.5	4.6-7.9	4.0-7.9	16.2-19.8
мкг/л	1.6±0.8	1.4±0.3	1.5±0.4	3.4±1.3	2.3±0.6	2.2±0.3	6.2±1.7	6.4±2.1	18.0±1.8
Pb,	1.8-3.5	1.1-6.0	0.4-6.0	1.9-4.4	1.7-2.5	0.4-0.6	2.6-4.0	2.5-5.8	0.5-3.2
мкг/л	2.5±0.9	2.9±2.7	2.6±3.0	2.9±1.3	2.0±0.4	0.5±0.1	3.1±0.8	3.9±1.7	1.8±1.4
Cu,	2.3-3.7	2.0-3.0	0.8-1.5	2.7-3.7	1.5-3.4	0.8-2.6	3.2-5.5	3.5-4.5	2.0-3.2
мкг/л	2.9±0.7	2.4±0.5	1.2±0.4	3.2±0.5	2.7±1.0	1.5±1.0	4.4±1.2	4.1±0.6	2.8±0.7
Fe,	215-290	100-136	100-320	181-337	130-252	20-115	328-950	177-1043	60-94
мкг/л	255±38	122±20	198±112	249±80	198±62	71±48	696±326	694±456	78±17
Mn,	83-169	37-94	10-25	33-152	7-17	7-19	221-692	215-597	160-221
мкг/л	124±43	70±30	15±9	93±60	12±5	11±7	416±246	380±197	194±31
Sr,	37-191	11-37	6-14	22-81	8-33	4-14	53-139	28-143	33-57
мкг/л	90±87	23±13	10±4	46±31	17±14	8±6	87±46	78±59	48±13
K,	2.6-13.5	0.7-1.3	0.2-0.5	1.2-4.2	1.0-1.2	0.2-0.5	8.3-8.5	4.8-11.5	3.2-5.9
мг/л	7.5±5.5	1.0±0.3	0.3±0.2	2.9±1.5	1.1±0.1	0.3±0.2	8.4±0.1	8.8±3.5	4.1±1.5
Na,	0.05-0.24	0.10-0.29	0.15-0.31	0.07-0.17	0.14-0.28	0.34-0.86	0.09-0.16	0.06-0.30	0.24-0.60
мг/л	0.14±0.10	0.16±0.11	0.21±0.09	0.13±0.05	0.23±0.08	0.58±0.26	0.12±0.04	0.20±0.12	0.43±0.18
Ca,	1.3-1.9	1.0-1.6	0.9-1.4	2.9-3.5	0.5-1.0	1.3-1.8	3.3-4.4	3.4-5.2	4.7-6.8
мг/л	1.6±0.3	1.4±0.3	1.1±0.3	3.2±0.3	0.8±0.3	1.7±0.4	4.0±0.6	4.2±0.9	5.0±0.6
Mg,	0.5-0.9	0.4-0.6	0.2-0.3	0.5-0.8	0.4-0.5	0.2-0.5	0.7-1.4	0.9-1.5	1.3-2.3
мг/л	0.7±0.2	0.5±0.1	0.3±0.1	0.6±0.2	0.4±0.1	0.4±0.2	1.0±0.4	1.1±0.3	1.9±0.6
Al,	227-374	270-393	183-430	250-534	340-481	80-146	652-1025	932-1930	2319-4110
мкг/л	307±74	323±63	280±132	414±147	396±75	114±33	796±201	1601±579	2918±1032
Si,	0.38-1.23	0.49-1.03	0.44-0.72	0.40-0.99	0.86-1.46	0.79-0.97	1.83-2.74	1.67-3.60	2.48-4.111
мг/л	0.86±0.44	0.72±0.28	0.61±0.15	0.63±0.32	1.16±0.30	0.88±0.09	2.23±0.47	2.92±1.08	3.35±0.82
SO ₄ ²⁻ ,	2.6-8.3	1.3-3.7	1.9-2.4	3.0-4.6	1.1-2.2	0.7-1.8	2.5-11.2	2.9-13.9	3.0-5.0
мг/л	5.1±2.9	2.7±1.2	2.1±0.3	4.1±0.9	1.7±0.6	1.2±0.6	5.5±5.0	7.9±5.6	4.1±1.0
pH	4.7-5.7	4.6-5.2	4.7-5.3	4.8-6.1	4.4-5.2	4.8-5.8	4.3-5.8	4.6-5.8	4.1-4.6
	5.1±0.5	4.8±0.3	4.9±0.3	5.3±0.7	4.7±0.4	5.3±0.5	5.0±0.7	5.0±0.8	4.3±0.3

мані дані про кислотність лізиметричних вод свідчать про односпрямованість сучасних процесів трансформації ґрунту з природними процесами буроземоутворення, які є характерними для даної території. Як і аналіз кислотності твердої фази, кислотність лізиметричних вод свідчить про інтенсивніші процеси трансформації гірських порід у лісовому угрупованні, порівняно з лучним, і у всихаючій екосистемі, порівняно з живим смерековим угрупованням.

Про інтенсивніші процеси руйнування первинних мінералів твердої фази ґрунту лісової екосистеми, порівняно з лучною, і всихаючого лісостану, порівняно з живою смерековою екосистемою, свідчить також вміст основних мінералоутворюючих елементів (Al, Fe, Si) у лізиметричних водах. Так, вміст Al, Fe і Si в лізиметричних водах лучної екосистеми рівномірний по цілому профілю, тоді як у водах лісової екосистеми найвищі концентрації цих елементів припадають на гумусовий горизонт, де вплив органічних кислот на деструкцію мінеральної складової ґрунту, очевидно, істотніший. На межі перехідного до материнської породи горизонту Ph лісової екосистеми вміст лабільних Al, Fe і Si різко

зменшується, особливо Al та Fe, що свідчить про їхнє накопичення у верхній частині ґрунтового профілю і є типовою ознакою буроземів загалом.

Мобільність хімічних елементів у ґрунті часто оцінюють за допомогою коефіцієнта розподілу Kd, який визначають як співвідношення між концентрацією металу в твердій фазі ґрунту до його концентрації у ґрунтовому розчині (табл. 4). Високі значення Kd свідчать про те, що елемент міцно утримується твердою фазою і його рухливість незначна, тоді як низькі значення коефіцієнта, навпаки – про його біотичну або геохімічну активність і здатність до переміщення. Коефіцієнт розподілу елементів у системі ґрунт-лізіметричні води також свідчить про інтенсивне вилуговування Al і Fe з мінеральної частини гумусового горизонту лісової екосистеми, тоді як у ґрунті лучного угруповання інтенсивність цього процесу рівномірна по всій товщі профілю. Тобто Kd свідчить про накопичення рухомого алюмінію у верхній частині досліджуваних ґрунтових розрізів, що є типовим для буроземів, і відбувається це активніше у лісовій екосистемі, порівняно з лучною.

Інформативним показником руйнування кристалічних решіток мінералів є молярні співвідношення $\text{SiO}_2:\text{Al}_2\text{O}_3$. Як і у випадку з Kd, співвідношення $\text{SiO}_2:\text{Al}_2\text{O}_3$ у лізіметричних водах лучного угруповання за абсолютними значеннями є нижчими, порівняно зі смерчиною, і однакові в цілому розрізі (H=3.6; Hp=3.6), тоді як у лісовій екосистемі ця величина значно вища, порівняно з лукою, і більш ніж удвічі вища в перехідному до материнської породи горизонті (H=5; Hp=13.6), порівняно із гумусовим. Це, як і попередні показники, свідчить про активне руйнування алюмосилікатів у гумусовому горизонті лісової екосистеми, накопичення в ньому лабільних форм алюмінію і активніше, порівняно з Al, вимивання Si за межі верхнього біологічно активного шару ґрунтового розрізу.

Порівнюючи вміст Al, Fe і Si у лізіметричних водах живої та всихаючої смерчин, видно, що він у рази вищий у водах всихаючого деревостану. Очевидно, що це наслідок інтенсивного розкладання відмерлої фітомаси (в т.ч. підземної), що призводить до незбалансованості біогеохімічного колообігу, коли кількість елементів, які надходять в екосистему, значно перевищує ту кількість, яка може нею засвоїтися. У такій ситуації інформативні для стабільних екосистем коефіцієнт Kd і співвідношення $\text{SiO}_2:\text{Al}_2\text{O}_3$ у нестабільній системі вже не відображають внутрішньоґрунтових процесів, бо у їхньому формуванні в цьому

Таблиця 4

Коефіцієнти розподілу елементів у системі "ґрунт-лізіметричні води"
(Kd, мл/г) в екосистемах Чорногори

Елемент	Угруповання								
	червонокостричник різнотравний			смеречина чорниця			всохла смеречина чорниця		
	ґрунтовий горизонт								
	H ₀	H	Hp	H ₀	H	Hp	H ₀	H	Hp
Zn	388	452	859	239	404	310	173	164	266
Cd	4726	1094	940	1738	1908	383	758	4653	169
Ni	1200	7892	7625	1210	4562	9534	515	1799	1002
Pb	10447	16257	6463	2656	32150	29775	6619	11238	9123
Cu	989	3630	8475	942	3825	7455	528	2143	3879
Fe	2720	125696	100488	922	36532	272665	1181	18776	261158
Mn	1738	845	5916	1854	950	5765	284	72	441
Sr	329	6650	12092	417	5881	24711	276	1766	3767
K	256	7587	20991	387	7213	25895	128	677	1369
Na	958	22802	8727	516	10918	9167	1114	18718	8802
Ca	321	72	77	309	119	59	880	24	20
Mg	351	752	587	163	482	782	785	177	103
Al	5866	41232	44554	1212	17912	61869	3809	7121	3438

разі вирішальне значення мають не процеси, які відбуваються у ґрунті, а співвідношення між елементами в органічній речовині, яка розкладається. Однак навіть беручи до уваги лише абсолютні показники вмісту елементів, видно, що концентрації Al і Si в лізіметричних водах з глибиною зростають (табл. 3). Це свідчить про те, що відбувається не лише надходження цих елементів із верхніх горизонтів, насамперед з органічною речовиною, а й додаткова мобілізація з мінеральної складової ґрунту внаслідок біогеохімічних умов, які склалися через інтенсивне розкладання відмерлої фітомаси. Різке зменшення концентрації заліза за високих значень Al у горизонті Нр угруповань, можливо, спостерігається через вищий рН поріг випадання $Al(OH)_3$ в осад, порівняно з початком випадання в осад $Fe(OH)_3$ – 4.1–6.5 проти 2.5–4.5, відповідно. Тобто в геохімічних умовах, які склалися через інтенсивний розпад органічної речовини, Al є більш рухливим, ніж Fe.

Не можна оминати важливої ролі підстилки у процесах буроземоутворення, що відзначав ще один із перших дослідників буроземів С.В. Зонн [6]. За результатами досліджень, вміст хімічних елементів у лізіметричних водах підстилки порівняний із концентраціями елементів у водах гумусового біогеохімічно найактивнішого ґрунтового горизонту. У всохлій смеччині продуктів розкладання підстилки через більшу кількість відмерлої фітомаси набагато більше, а отже, і їхній вплив на ґрунтові процеси значніший, ніж у живій смеччині. Вищі концентрації хімічних елементів у лізіметричних водах (табл. 3), як і Kd (табл. 4), у смеччині сухій, порівняно із живою смеччиною, свідчать про значно інтенсивніше виведення усіх досліджених елементів з органогенних горизонтів ґрунтового профілю і цілої екосистеми.

Отже, фізико-хімічні властивості ґрунту і розподіл мулистих частинок у товщі ґрунтових розрізів свідчать, що ґрунотвірна порода під лісовим і лучним угрупованнями зазнає однакових змін (оглинення, підкислення, збільшення вмісту органічної речовини, збіднення основами), проте під лісовим угрупованням ці зміни відбуваються значно інтенсивніше. Активне розкладання органічної речовини у всихаючому смерековому угрупованні, незважаючи на нетривалість процесу (кілька років), відображається на фізико-хімічних параметрах твердої фази ґрунту. На нашу думку, це відбувається насамперед за рахунок високих концентрацій продуктів розкладання відмерлої фітомаси у рідкій фазі. Валовий вміст хімічних елементів і їхній розподіл по ґрунтовому профілю є характерним для буроземного типу ґрунтоутворення. Незважаючи на певну різницю абсолютних показників вмісту, що може бути зумовлено материнською породою, загальний характер розподілу досліджених мікро- та макроелементів є схожим у лучному і смерековому угрупованнях – значна вилуженість розрізу, відсутність контрастних геохімічних бар'єрів у мінеральних горизонтах і концентрація елементів у верхніх органогенних шарах.

Отже, фізико-хімічні властивості лізіметричних вод не суперечать встановленим фізико-хімічним параметрам твердої фази об'єктів дослідження і свідчать про односпрямованість сучасних процесів трансформації ґрунту з природними процесами буроземоутворення, які є характерними для даної території. Проте ці процеси інтенсивніше відбуваються в лісовій екосистемі, порівняно з лучною. Збільшення кількості відмерлої органічної речовини та її інтенсивний розпад у всихаючій смеччині зумовлюють і сильніший вплив на процеси, які відбуваються у ґрунті, порівняно зі смеччиною без ознак всихання.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Аринушкина Е. В.* Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1970. 488 с.
2. *Вернадский В. И.* Избранные сочинения. М.: Изд-во АН СССР, 1960. 420 с.
3. Визначення гранулометричного складу методом піпетки в модифікації Н.А. Качинського. ДСТУ 4730:2007. К.: Держспоживстандарт України, 2008. 14 с.

4. *Виноградов А. П.* Среднее содержание элементов в главных типах изверженных горных пород земной коры // *Геохимия*. 1962. № 7. С. 555–557.
5. *Гелетюк Н. И., Золотарева Б. Н.* Метод подготовки почв к атомно-абсорбционному определению микроэлементов // *Опыт и методы экологического мониторинга*. Пушино, 1978. С. 255–260.
6. *Зонн С. В.* О некоторых вопросах изучения генезиса и плодородия лесных почв Литовской ССР // *Исследование и картирование лесных почв*. Каунас, 1964. С. 23–33.
7. *Канивец В. И.* Буроземы в горно-луговом поясе Украинских Карпат и вопросы генезиса почв буроземного типа // *Почвоведение*. 1980. № 8. С. 108–117.
8. *Никитин Б. А.* Определение содержания гумуса в почве // *Агрохимия*. 1972. Т. 3. С. 123–125.
9. *Практикум по агрохимии* / под ред. В.Г. Минеева. М.: МГУ, 1989. 304 с.
10. *Роде А. А.* К вопросу об оподзоливании и лессиваже // *Почвоведение*. 1964. №7. С. 9–23.
11. *Титова В. И., Дабахова Е. В., Дабахов М. В.* Агро- и биохимические методы исследования состояния экосистем: учеб. пособие. Нижегород. гос. с.-х. академия. Н. Новгород: Изд-во ВВАГС, 2011. 170 с.
12. *Шилова Е. И.* Метод получения почвенного раствора в природных условиях // *Почвоведение*. 1955. № 11. С. 86–90.

Стаття: надійшла до редакції 02.10.17

доопрацьована 27.12.17

прийнята до друку 25.01.18

CHEMICAL ELEMENTS CONTENT IN SOIL AND LYSIMETRIC WATERS OF CHORNOGORA MOUNTAIN REGION ECOSYSTEMS (EASTERN CARPATHIANS, UKRAINE)

E. Puka, V. Kozlovsky

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine
e-mail: vkozlovskyy@gmail.com*

Physicochemical properties and chemical elements content in soils and soil infiltrate of the mature spruce forest and cereal meadow communities were investigated. Using data of particle size distribution, acidity, organic matter, total of exchange bases, element content (Zn, Cd, Ni, Pb, Cu, Sr, Mn, Fe, K, Na, Ca, Mg, Al) in soil solid phase and appropriate indices of lysimetric waters soil formation processes were analyzed. Acidity of soil infiltrates, as the same of solid phase solution, is significantly greater in forest ecosystem too. Leaching of clay particles from the upper soil horizon of the spruce forest is 2 to 3 times higher than it is in meadow ecosystem. Organic matter and exchange bases content in upper soil horizons were within the same range for both ecosystems, but lower part of spruce forest soil profile compared to meadow bottom horizons is enriched with those components. Nutrient content and its distribution within both investigated soil profiles indicates a significant leaching and weak differentiation of the soil horizons for most of the investigated chemical elements. Chemical elements content of lysimetric waters, solid/liquid partition coefficients (K_d), SiO₂:Al₂O₃ ratios indicate more notable leaching processes in forest ecosystem. As a result, it has been shown that brown soil forming processes are the same for both types of vegetation communities but are more intense under conditions of forest ecosystem.

Keywords: brown forest soils (burozems), lysimetric waters, chemical elements

ВИДОВЕ РІЗНОМАНІТТЯ ДОЩОВИХ ЧЕРВІВ В ОКОЛИЦЯХ С. КОЛОЧАВИ ЗАКАРПАТСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Р. Власенко, О. Гарбар, Н. Пилипчук*

Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. Пушкінська, 42, Житомир 10008, Україна
e-mail: pylypchuk1995n@gmail.com

У результаті проведеного дослідження в околицях с. Колочави Закарпатської обл. в шести біоценозах було ідентифіковано 10 видів родини *Lumbricidae*: *Allolobophora carpathica*, *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Lumbricus terrestris*, *Lumbricus rubellus*, *Eisenia foetida*, *Eisenia submontana*, *Dendrobaena alpina*, *Dendrobaena octaedra*. За чисельністю й видовим складом дощових черв'яків найбагатші біоценози: *Fagetalia sylvaticae*, *Polygono-Trisetion*, *Papavero-Thymion*, *Fagion sylvaticae*, *Rhododendro-Vaccinion*. Найменша чисельність особин спостерігається в біоценозі *Epilobion fleischeri* – угрупованнях на кам'янистих субстратах берегів рік. На прикладі *Aporrectodea rosea* показано наявність достовірних відмінностей за морфометричними показниками між вибірками особин із різних біоценозів, що може бути зумовлено екологічними відмінностями біотопів і генетичними особливостями конкретних популяцій виду. Так, дощові черви з біоценозу *Polygono-Trisetion* характеризуються найбільшою загальною довжиною тіла, однак не відрізняються від інших за довжиною тіла до пояса. З іншого боку, екземпляри *Aporrectodea rosea* з біоценозу *Fagion sylvaticae* мають найбільші розміри тіла до пояса, однак не відрізняються від інших вибірок за довжиною тіла.

Ключові слова: дощові черви, *Lumbricidae*

Дощові черви родини *Lumbricidae* (Lindquist, 1941) мають великий ареал, який охоплює фактично весь придатний для життя суходіл [11]. Це пояснюється тим, що люмбрициди характеризуються досить широким діапазоном екологічної толерантності.

Закарпатська обл. характеризується значною різноманітністю висот, схилами різної експозиції, ґрунтами різної потужності й родючості, тут наявні всі передумови для формування різноманітних типів ґрунтового покриву [12]. Тому, беручи до уваги велику ґрунтоутворюючу роль дощових черв'яків, вивчення фауни, таксономії та екології люмбрицид є досить актуальним саме для Закарпатської обл. Однак люмбрициди цієї області дотепер вивчено недостатньо. У літературі є відомості лише про видовий склад фауни дощових черв'яків із цього регіону. Так, у працях А.І. Зражевського [7] та Т.С. Перель [9] було відмічено 21 вид родини *Lumbricidae*: *Helodrilus cernosvitovianus* (Zicsi, 1967), *Allolobophora carpathica* (Coghetti, 1927), *Allolobophora sturani* (Rosa, 1895), *Dendrodrilus rubidus* (Eisen, 1874), *Octolasion lacteum* (Öerley, 1885), *Octolasion transpadanum* (Ude, 1826), *Octolasion lissaense* (Ude, 1826), *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826), *Aporrectodea rosea* (Savigny, 1826), *Aporrectodea georgii* (Savigny, 1826), *Lumbricus terrestris* (Linnaeus, 1758), *Lumbricus rubellus* (Savigny, 1896), *Lumbricus polyphemus* (Fitzinger, 1833), *Eisenia foetida* (Savigny, 1896), *Eisenia submontana* (Vejdowskyi, 1875), *Eisenia spelaea* (Rosa, 1895), *Eiseniella tetraedra* (Savigny, 1826), *Dendrobaena alpina* (Rosa, 1884), *Dendrobaena octaedra* (Savigny, 1826), *Dendrobaena attemsi* (Michaelsen, 1902), *Dendrobaena byblica* (Rosa, 1893), *Dendrobaena platyura f. montana* (Savigny, 1826). У дослідженнях Р.П. Власенко та Л.Л. Єлісеєва [7] вста-

новлено 8 видів: *Aporrectodea rosea*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea trapezoids* (Savigny), 1826), *Aporrectodea longa*, *Lumbricus rubellus*, *Lumbricus castaneus* (Fitzinger, 1833), *Octolasion transpadanum*, *Dendrobaena octaedra*.

Метою цього дослідження було встановити видовий склад, уточнити морфологічні й аутекологічні особливості дощових черв'яків у біоценозах околиць с. Колочава Закарпатської області.

Матеріали та методи

Під час дослідження було відібрано й опрацьовано 190 екземплярів ґрунтових олігохет родини *Lumbricidae*. Збір дощових черв'яків здійснювали протягом 2015 р. з околиць с. Колочава Закарпатської обл. із таких біоценозів: *Fagetalia sylvaticae* (39 екз.), *Fagion sylvaticae* (31 екз.), *Polygono-Trisetion* (29 екз.), *Rhododendro-Vaccinion* (28 екз.), *Epilobion fleischeri* (27 екз.), *Papavero-Thymion* (36 екз.) (рис. 1).

Збір і транспортування дощових черв'яків здійснювали за загальноприйнятими методиками [4, 2, 11]. Для фіксації ґрунтових олігохет використовували методику Т.С. Перель, М.С. Гилярова та Б.Г. Стриганової [9, 4, 11].

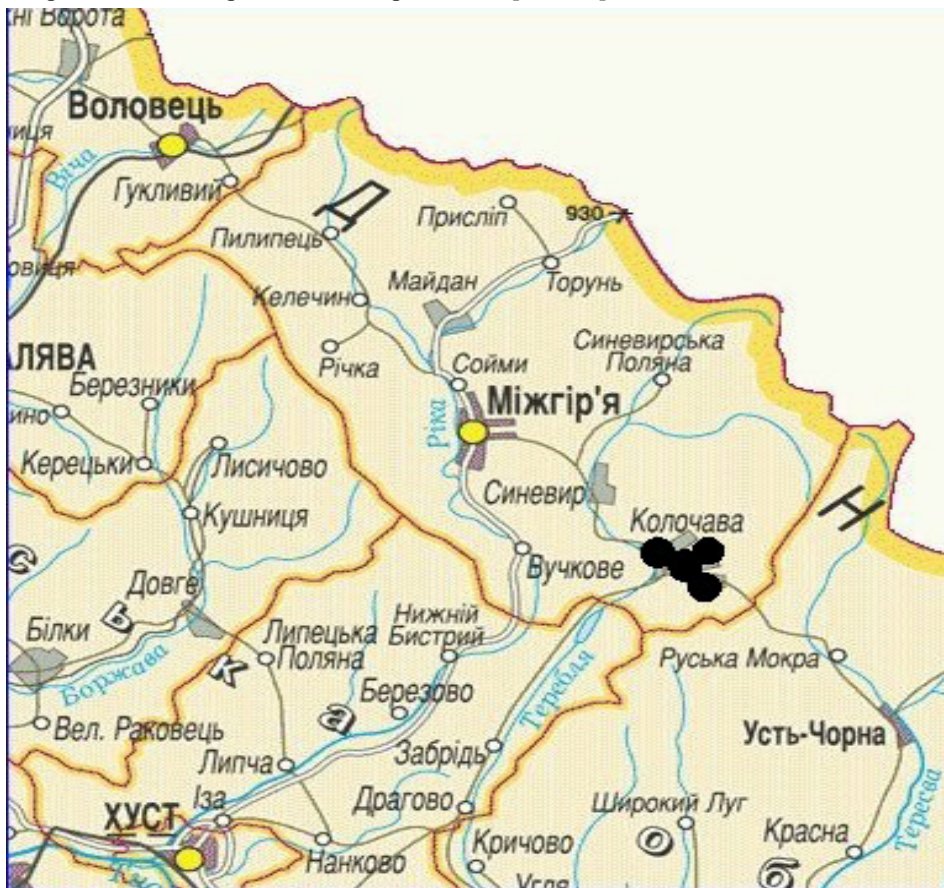


Рис. 1. Місця збору дощових черв'яків з околиць с. Колочава Закарпатської області

Опис структури домінування в комплексах *Lumbricidae* здійснювали згідно з класифікацією, запропонованою Г.Д. Ельгельманом [5]. Для виділення класів домінування

використовували такі критерії: евдомінанти – більше 10 %; домінанти – 5–10 %; субдомінанти – 2–5 %; рециденти – 1–2 %; субрециденти – менше 1 % [5].

Для морфометричного аналізу визначали: довжину тіла (мм), загальну кількість сегментів, довжину до пояса (мм), пігментацію, тип головної лопаті, розташування папіл, а також ширину тіла (мм).

Статистичну обробку матеріалів здійснювали за допомогою пакету прикладних статистичних програм STATISTICA 6.0.

Результати і їхнє обговорення

Досліджено фауну дощових черв'яків у шести біоценозах, виділених за методом синтаксономії рослинності Браун-Бланке [10].

У результаті дослідження ідентифіковано 10 видів дощових черв'яків родини Lumbricidae: *Allolobophora carpathica*, *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Lumbricus terrestris*, *Lumbricus rubellus*, *Eisenia foetida*, *Eisenia submontana*, *Dendrobaena alpina*, *Dendrobaena octaedra*, що належать до 6 родів: *Allolobophora*, *Octolasion*, *Aporrectodea*, *Lumbricus*, *Eisenia*, *Dendrobaena* (табл. 1).

Таблиця 1

Видова різноманітність дощових черв'яків у досліджених біоценозах
с. Колочави Закарпатської обл.

Біоценоз	<i>Allolobophora carpathica</i>	<i>Dendrobaena octaedra</i>	<i>Dendrobaena alpina</i>	<i>Aporrectodea caliginosa</i>	<i>Aporrectodea rosea</i>	<i>Eisenia foetida</i>	<i>Eisenia submontana</i>	<i>Octolasion lacteum</i>	<i>Lumbricus terrestris</i>	<i>Lumbricus rubellus</i>
1. <i>Fagetalia sylvaticae</i>		+		+	+	+		+	+	+
2. <i>Fagion sylvaticae</i>		+		+	+		+	+	+	
3. <i>Polygono-Trisetion</i>	+		+	+	+			+	+	+
4. <i>Rhododendro-Vaccinion</i>	+			+	+	+		+	+	+
5. <i>Epilobion fleischeri</i>	+			+	+			+	+	+
6. <i>Papavero-Thymion</i>			+	+	+		+	+	+	+

Біоценоз *Fagetalia sylvaticae* – це угруповання мезофільних зональних тіньових широколистяних лісів Закарпаття і Карпат. Екосистема представлена специфічними високогірними рослинами: *Acer campestre* L., *Acer platanoides* L., *Aegopodium podagraria* L., *Anemone nemorosa* L., *Brachypodium sylvaticum* L., *Campanula trachelium* L., *Carex digitata* L., *Carpinus betulus* L., *Convallaria majalis* L., *Corylus avellana* L., *Epipactis helleborine* Crantz [10]. У цьому біоценозі були представлені такі види дощових черв'яків: *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Eisenia foetida* – евдомінанти; *Lumbricus terrestris*, *Lumbricus rubellus*, *Dendrobaena octaedra* – домінанти (рис. 2).

Rhododendro-Vaccinion – угруповання, поширені переважно над верхньою межею смерекових лісів і на місцях росту, які пізно звільняються від снігу. Рослинний покрив представлений такими видами: *Empetrum hermaphroditum* L., *Vaccinium vitis-idaea* L., *Vaccinium uliginosum* L., *Vaccinium myrtillus* L. [10]. Евдомінантні види люмбрицид у цьому біоценозі – *Allolobophora carpathica*, *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Lumbricus terrestris*, *Eisenia foetida* (рис. 2).

Fagion sylvaticae – букові ліси на сірих лісових і карбонних ґрунтах Закарпаття, Карпат, Передкарпаття, Розточчя та Західного Поділля. Угруповання характеризується такими видами, як: *Actaea spicata* L., *Dentaria bulbifera* L., *Galium odoratum* L., *Gymnocarpium dryopteris* Newman, *Fagus sylvatica* L., *Polygonatum verticillatum* All., *Prenantes purpurea*

L., *Senecio fuchsii* Gmelin [10]. Евдомінантні види дощових черв'яків у цьому біоценозі – *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Lumbricus terrestris*, *Eisenia submontana*, *Dendrobaena octaedra* (рис. 3).

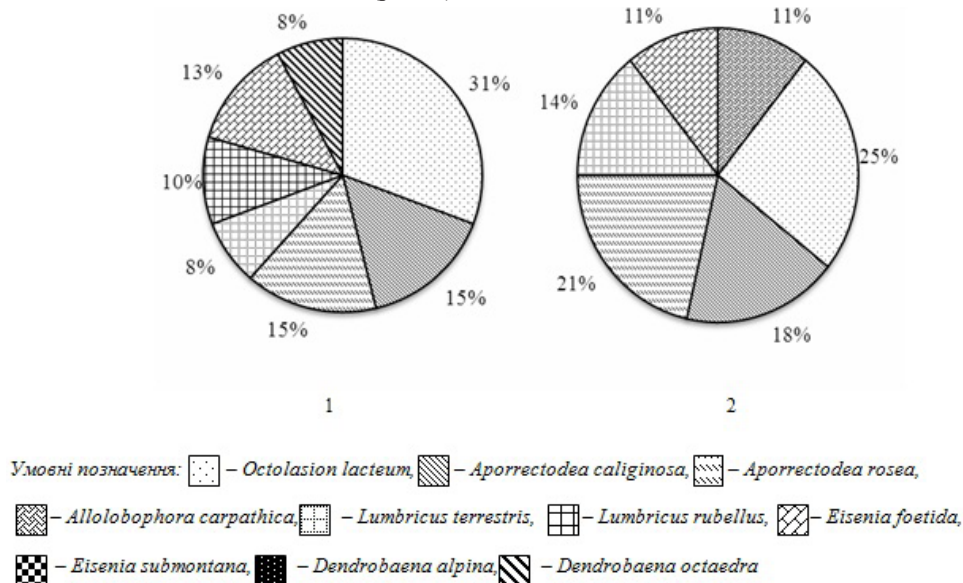


Рис. 2. Видовий склад (%) дощових черв'яків у біоценозах *Fagetalia sylvaticae* (1) та *Rhododendro-Vaccinion* (2) с. Колочави Закарпатської обл.

Polygono-Trisetion – угруповання, поширені на місці зведених букових лісів на опідзолених ґрунтах до верхньої межі їхнього поширення в усіх районах Українських Карпат. Цей природний комплекс характеризується такими видами рослин: *Centaurea phrygia* L., *Festuca rubra* L., *Geranium sylvaticum* L., *Poa chaixii* Vill, *Polygonum bistorta* Samp, *Veronica chamaedrys* L. [10]. Евдомінантні види дощових черв'яків – *Allolobophora carpathica*, *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Dendrobaena alpina*; домінанти – *Lumbricus terrestris*, *Lumbricus rubellus* (рис. 3).

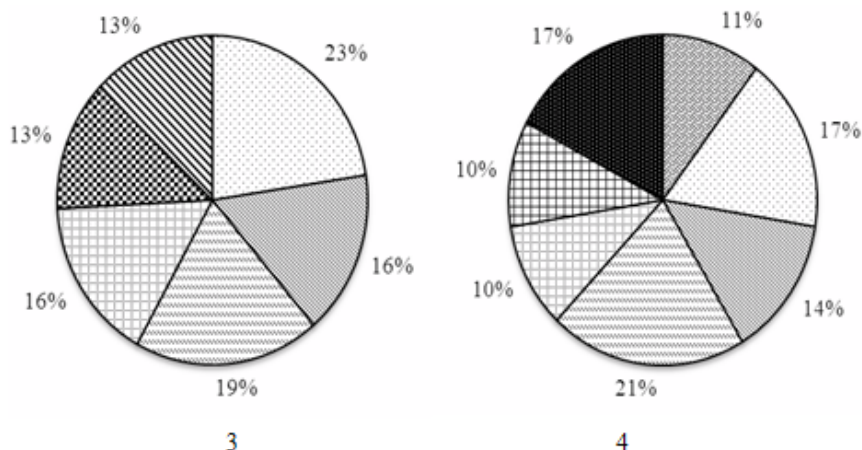


Рис. 3. Видовий склад (%) досліджених угруповань *Fagion sylvaticae* (3) та *Polygono-Trisetion* (4) (умовні позначення див. рис. 2)

Epilobion fleischeri – угруповання на кам'янистих субстратах берегів рік. Фітоценоз представлений такими видами рослин: *Arabis alpina* L., *Calamagrostis pseudophragmites* Koel, *Myricaria germanica* Desv, *Rumex scutatus* L., *Saxifraga paniculata* Mill, *Sedum alpestre* Vill [10]. Евдомінантні види дощових черв'яків – *Allolobophora carpathica*, *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Lumbricus rubellus* (рис. 4).

Papavero-Thymion – угруповання вологих закріплених або рухомих осипів карбонатних порід Українських Карпат, Закарпаття. Біоценоз багатий на такі рослини: *Acinos alpinus* Moench, *Arabis alpina* L., *Doronicum carpathicum* L., *Thymus pulcherrimus* ssp. *carpathicus* Schur [10]. Евдомінантні види люмбрицид – *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Lumbricus terrestris*, *Lumbricus rubellus*, *Eisenia submontana*, *Dendrobaena alpina* (рис. 4).

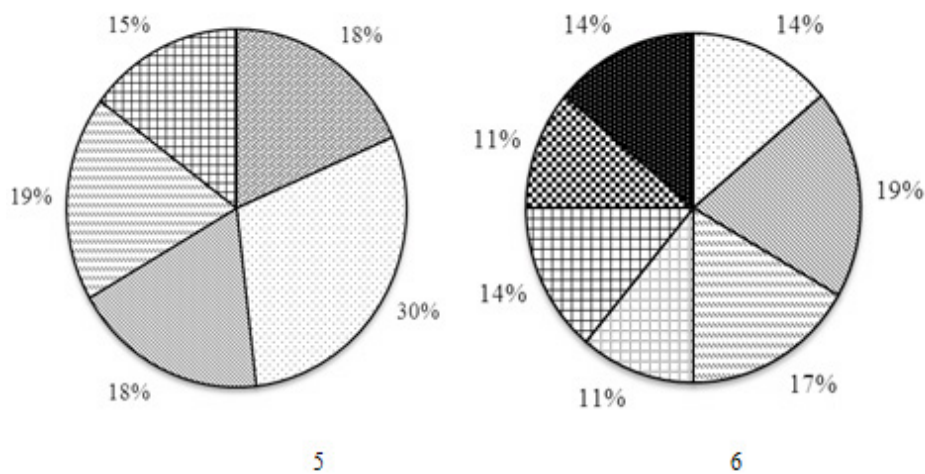


Рис. 4. Видовий склад (%) досліджених угруповань *Epilobion fleischeri* (5) та *Papavero-Thymion* (6) (умовні позначення див. рис. 2.)

За чисельністю й видовим складом дощових черв'яків найбільш багаті біоценози: *Fage-talia sylvatica*, *Polygono-Trisetion*, *Papavero-Thymion*. Найменша чисельність люмбрицид спостерігається в біоценозі *Epilobion fleischeri* – угрупованнях на кам'янистих субстратах берегів рік.

Низка видів дощових черв'яків характеризується наявністю серій поліплоїдних форм і високою різноманітністю партеногенетичних клонів. При цьому різні клони можуть відрізнятися як за морфологічними особливостями, так і за екологічними преференціями [1, 3, 8]. Одним із таких видів є *Aporrectodea rosea*, на прикладі якого нами проведено дослідження морфологічної мінливості особин у різних біоценозах (табл. 2).

Проведений аналіз свідчить, що морфологічні особливості *Aporrectodea rosea* у різних біоценозах загалом відповідають описам виду [8], хоча і спостерігається достатньо висока мінливість (табл. 2). Відомо, що на морфологічні особливості дощових черв'яків можуть впливати різноманітні фактори внутрішнього та зовнішнього середовища (температура, освітленість, вологість, склад ґрунту, стан організму, генотип, вік) [1].

Результати дисперсійного аналізу (LSD-тест) доводять, що у деяких із досліджених біоценозів *Aporrectodea rosea* характеризується достатньо чіткими відмінностями у довжині тіла (табл. 3).

Таблиця 2

Морфологічні особливості особин *Aporrectodea rosea* у досліджених біоценозах дощових черв'яків с. Колочави Закарпатської обл.

№	Біоценоз	Морфологічні особливості, мм	n	lim (min - max)	M±m	CV	δ
1.	<i>Fagetalia sylvaticae</i>	Довжина тіла	5	19–45	19±4,31	93	9,64
		Довжина до пояска		9–10	9,8±0,2	0,2	0,44
2.	<i>Fagion sylvaticae</i>	Довжина тіла	4	18–71	38±12,53	628,7	12,5
		Довжина до пояска		9–12	11,25±0,75	2,25	1,5
3.	<i>Polygono-Trisetion</i>	Довжина тіла	4	36–75	57,5±10,23	419	20,47
		Довжина до пояска		9–10	9,5±0,29	0,33	0,57
4.	<i>Rhododendro-Vaccinon</i>	Довжина тіла	4	20–55	31,5±7,9	252,3	15,8
		Довжина до пояска		9–10	9,75±0,25	0,25	0,5
5.	<i>Epilobion fleischeri</i>	Довжина тіла	4	34–41	37,7±1,65	10,9	3,3
		Довжина до пояска		9–10	9,5±0,28	0,33	0,57
6.	<i>Papavero-Thymion</i>	Довжина тіла	5	20–36	24,4±2,9	44,8	6,69
		Довжина до пояска		9–10	9,6±0,24	0,3	0,57

Примітки: n – кількість екземплярів; lim (max - min) – діапазон мінливості; M – середнє арифметичне; m – стандартна похибка; CV – коефіцієнт варіації; δ – середнє квадратичне відхилення

Таблиця 3

Достовірні відмінності у довжині тіла (LSD-тест) *Aporrectodea rosea* із різних біоценозів

Біоценоз	{1} M=30,000	{2} M=38,000	{3} M=31,500	{4} M=37,500	{5} M=37,750	{6} M=24,400
<i>Fagetalia sylvaticae</i> {1}		0,435113	0,882783	0,012680	0,449385	0,560913
<i>Fagion sylvaticae</i> {2}	0,435113		0,546187	0,080389	0,981396	0,190841
<i>Rhododendro-Vaccinon</i> {3}	0,882783	0,546187		0,023334	0,561595	0,487805
<i>Polygono-Trisetion</i> {4}	0,012680	0,080389	0,023334		0,076868	0,003614
<i>Epilobion fleischeri</i> {5}	0,449385	0,981396	0,561595	0,076868		0,198777
<i>Papavero-Thymion</i> {6}	0,560913	0,190841	0,487805	0,003614	0,198777	

Примітка: результати достовірні з вірогідністю $p < 0,05$

Так, за цим морфометричним показником достовірні відмінності спостерігаються між вибіркою *Aporrectodea rosea* з біоценозу *Polygono-Trisetion* та вибірками цього виду із трьох інших біоценозів – *Fagion sylvaticae*, *Rhododendro-Vaccinon*, *Fagetalia sylvaticae* (табл. 3, рис. 5).

Трохи інші результати отримано в результаті аналізу тим же методом іншого морфометричного параметра цього виду – довжини тіла до пояска (мм). За цією ознакою найбільш своєрідною виявилась вибірка з біоценозу *Fagion sylvaticae*, яка достовірно відрізняється від вибірок з усіх інших біоценозів (табл. 4).

Таблиця 4

Достовірні відмінності у довжині тіла до пояска (LSD-тест)

Ap. rosea із різних біоценозів

Біоценоз	{1} M=9,8000	{2} M=11,250	{3} M=9,7500	{4} M=9,5000	{5} M=9,5000	{6} M=9,6000
<i>Fagetalia sylvaticae</i> {1}		0,009885	0,922677	0,561951	0,561951	0,681100
<i>Fagion sylvaticae</i> {2}	0,009885		0,011118	0,003886	0,003886	0,004069
<i>Rhododendro-Vaccinon</i> {3}	0,922677	0,011118		0,646073	0,646073	0,771122
<i>Polygono-Trisetion</i> {4}	0,561951	0,003886	0,646073		1,000000	0,846133
<i>Epilobion fleischeri</i> {5}	0,561951	0,003886	0,646073	1,000000		0,846133
<i>Papavero-Thymion</i> {6}	0,681100	0,004069	0,771122	0,846133	0,846133	

Примітка: результати достовірні з вірогідністю $p < 0,05$

Fagion sylvaticae – біоценоз букового лісу на сірих лісових і карбонатних ґрунтах. Такі ґрунти збагачені карбонатами з оптимальною вологістю, що може бути визначальним екологічним фактором для відмінностей у розмірах тіла (рис. 6).

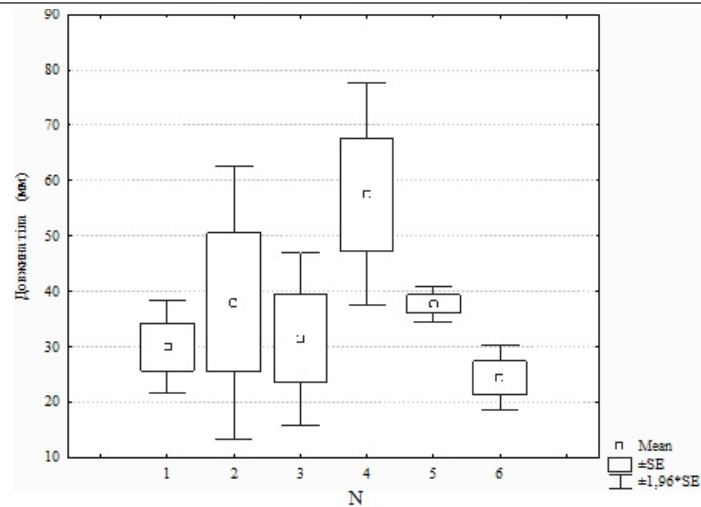


Рис. 5. Мінливість довжини тіла (мм) *Aporrectodea rosea* в різних біоценозах: N – біоценози: *Fagetalia sylvaticae* {1}, *Fagion sylvaticae* {2}, *Rhododendro-Vaccinion* {3}, *Polygono-Trisetion* {4}, *Epilodion fleischeri* {5}, *Papavero-Thymion* {6}

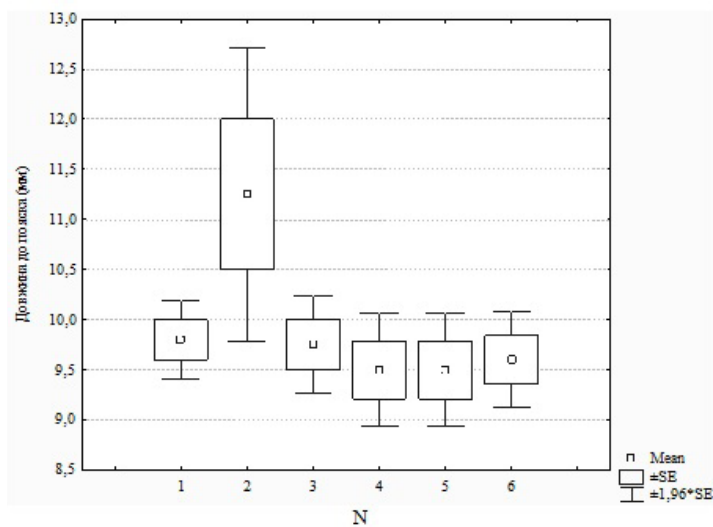


Рис. 6. Мінливість довжини тіла до пояса (мм) *Aporrectodea rosea* в різних біоценозах (умовні позначення див. рис. 5)

Поряд із цим, у разі детермінації розмірних характеристик виду екологічними умовами мала би спостерігатись узгоджена мінливість розмірних параметрів. Однак у досліджених випадках такої узгодженості немає. Так, дощові черви з біоценозу *Polygono-Trisetion* характеризуються найбільшою загальною довжиною тіла, однак не відрізняються від інших за довжиною тіла до пояса. Водночас особини *Aporrectodea rosea* з біоценозу *Fagion sylvaticae* мають найбільші розміри тіла до пояса, однак не відрізняються від інших вибірок за довжиною тіла. Раніше нами було встановлено [3], що гетерогенність цього виду чітко корелює з рівнем клонного різноманіття. Практично для всіх клонів виявлено набори ознак, які допомагають ідентифікувати їх. Показано, що домінуючі клони зміню-

ються в різні сезони року, оскільки їхня морфологічна індивідуальність значною мірою обумовлена не тільки генетичними особливостями, але й екологічними уподобаннями, зокрема, до ступеня вологості ґрунту. Це дає підстави вважати, що значна частка мінливості цього виду в різних біоценозах зумовлена не стільки екологічними відмінностями біотопів, скільки генетичними відмінностями різних клонів цього поліклонального виду та їхньою різною біотопічною приуроченістю.

У результаті проведеного дослідження в околицях с. Колочави Закарпатської обл. в шести біоценозах було ідентифіковано 10 видів родини *Lumbricidae*: *Allolobophora carpathica* (Coghetti, 1927), *Octolasion lacteum* (Öerley, 1885), *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826), *Aporrectodea rosea* (Savigny, 1826), *Lumbricus terrestris* (Linnaeus, 1758), *Lumbricus rubellus* (Savigny, 1896), *Eisenia foetida* (Savigny, 1896), *Eisenia submontana* (Rosa, 1884), *Dendrobaena alpina* (Rosa, 1884), *Dendrobaena octaedra* (Savigny, 1826).

За чисельністю й видовим складом дощових черв'яків найбагатші біоценози: *Fagetalia sylvaticae*, *Polygono-Trisetion*, *Papavero-Thymion*, *Fagion sylvaticae*, *Rhododendro-Vaccinion*. Найменша чисельність особин спостерігається в біоценозі *Epilobion fleischeri* – угрупованнях на кам'янистих субстратах берегів рік.

На прикладі *Aporrectodea rosea* показано наявність достовірних відмінностей за морфометричними показниками між вибірками із різних біоценозів, що зумовлено екологічними відмінностями самих біотопів і генетичними особливостями конкретних популяцій виду.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Власенко Р. П., Гарбар А. В., Межжерин С. В. Клональная структура, кариологический и морфологический анализ изолированного поселения гипервариабельного вида дождевых червей *Aporrectodea rosea* (*Oligochaeta: Lumbricidae*) // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2007. Вип. 21. С. 187–191.
2. Власенко Р. П. Систематика дощових черв'яків роду *Aporrectodea* (*Oligocheta, Lumbricidae*) фауни України: біохіміко-генетичний, кариологічний та морфологічний підходи: автореф. ... дис. канд. біол. наук. К., 2008. 12 с.
3. Гарбар А. В., Власенко Р. П., Межжерин С. В. Сравнительный морфологический анализ диплоидного *Aporrectodea caliginosa* и триплоидного *A. trapezoides* видов дождевых червей (*Oligochaeta: Lumbricidae*) с территории Украины // Вестн. зоологии. 2007. Т. 41. № 5. С. 423–432.
4. Гиляров М. С., Бызова Ю. Б. Количественные методы в почвенной зоологии. М.: Наука, 1987. 288 с.
5. Ельгельман Г. Д. Почвенная фауна в экологическом контроле. М.: Наука, 1994. 240 с.
6. Єлісєєва Л. Л., Власенко Р. П. Вплив ліній електропередач на структуру угруповань дощових черв'яків родини *Lumbricidae* з території Закарпатської області // Наук. вісн. Житомир. ун-ту. Сер. біол. 2015. № 27. 12 с.
7. Зражевский А. И. Дождевые черви как фактор плодородия лесных почв. К.: Изд-во АН УССР, 1957. 271 с.
8. Межжерин С. В., Власенко Р. П., Гарбар А. В. Анализ клонового разнообразия двух видов апомиктических дождевых червей (*Lumbricidae: Aporrectodea*) и проблемы изменчивости мелких и крупных организмов // Доп. НАН України. 2007. № 8. С. 151–156.
9. Перель Т. С. Распространение и закономерности распределения дождевых червей фауны СССР. М.: Наука, 1979. С. 159–171.

10. Соломаха В. А. Синтаксономія рослинності України. Третє наближення. К.: Фітосоціоцентр, 2008. С. 81–245.
11. Стриганова Б. Р., Кудряшова И. В., Тиунов А. В. Пищевая активность дождевых червей (*Oligochaeta*, *Lumbricidae*) в лесостепных дубравах и их участие в деструкционных процессах // Почвоведение. 1987. № 1. С. 72–77.
12. Černosvitov L. Monografie československých destovek L. Černosvitov. Arch. Přírodov. Vyzkum Čech., 1935, Díl 19, čís. 86 s.

Стаття: надійшла до редакції 05.07.17

доопрацьована 14.11.17

прийнята до друку 22.12.17

SPECIES DIVERSITY OF EARTHWORMS IN THE VICINITY OF KOLOCHAVA VILLAGE OF ZAKARPATTIA REGION

R. Vlasenko, O. Harbar, N. Pylypchuk

*Ivan Franko State University of Zhytomyr
42, Pushkinska St., Zhytomyr 10008, Ukraine
e-mail: pylypchuk1995n@gmail.com*

As a result of the performed study in the vicinity of Kolochava village of Zakarpattia region. 10 species of the *Lumbricidae* family were identified in six biocenoses: *Allolobophora carpathica*, *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Lumbricus terrestris*, *Lumbricus rubellus*, *Eisenia foetida*, *Eisenia submontana*, *Dendrobaena alpina*, *Dendrobaena octaedra*. By the number and species diversity of the earthworms, the richest biocenoses are: *Fagetalia sylvaticae*, *Polygono-Trisetion*, *Papavero-Thymion*, *Fagion sylvaticae*, *Rhododendro-Vaccinion*. The smallest number of lumbricides is observed in the biocenosis of *Epilobion fleischeri* – groups that are confined to rocky substrates on the riverbanks. The example of *Aporrectodea rosea* shows the existence of significant differences according to morphometric indices between samples from different biocenoses, that may be due to the ecological differences of the biotopes themselves and the genetic features of specific populations of the species. So the earthworms from *Polygono-Trisetion* biocenose are characterized by the largest total length of the body, however, they do not differ from others in the length of the front part of the body. On the other hand, specimens of *Aporrectodea rosea* from *Fagion sylvaticae* biocenose have the largest length of the front part of the body, but do not differ from other samples by total body length.

Keywords: earthworms, *Lumbricidae*

ВОДНИЙ РЕЖИМ МОХУ *CERATODON PURPUREUS* (HEDW.) BRID. НА ВІДВАЛАХ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ ЧЕРВОНОГРАДСЬКОГО ГІРНИЧОПРОМИСЛОВОГО РАЙОНУ

С. Бешлей, Р. Соханьчак

*Інститут екології Карпат НАН України
вул. Стефаника, 11, Львів 79005, Україна
e-mail: beshley.stepan@gmail.com*

Вивчено зміни водного режиму *Ceratodon purpureus* на різних елементах мезорельєфу відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району. Показано, що влітку водний дефіцит моху в основах, на терасах, схилі та вершинах досліджуваних відвалів становив 58–77 %, проте навіть у таких умовах рослини продовжували ріст і розвиток завдяки значній водоутримувальній здатності (94–99 %) та швидкому водовідновленню, яке становило 238–449 %. Восени водний дефіцит моху змінювався від 6 до 34 %, що є нормальним станом для функціонування рослинних організмів і пов'язано з наближенням до оптимуму умов існування виду, зокрема, за рахунок збільшення вологості повітря у 2–3 рази та зниження температури у 2 рази, порівняно з літніми місяцями. Висока водоутримувальна здатність та інтенсивні процеси водовідновлення гаметофіту цього моху зумовлює його стійкість до посухи внаслідок зменшення втрат води в умовах водного дефіциту. Такі особливості водного режиму *C. purpureus* дають йому змогу рости як у вогких затінених локалітетах, так і на освітлених відкритих місцях з меншою вологістю повітря й субстрату.

Ключові слова: *Ceratodon purpureus*, оводненість, водний дефіцит, водоутримувальна здатність, відвали вугільних шахт

Оптимальні умови росту й розвитку рослин на техногенно порушених територіях, зокрема, на відвалах вугільних шахт, залежать від багатьох чинників (кислотності субстратів, вмісту в них важких металів, вологозабезпеченості, інсоляції). На початкових стадіях поселення рослин на відвалах лімітаційним чинником є вологість, яка на більшості цих територій становить менше 3 % унаслідок висушування поверхневих шарів субстрату вітром і сонячною радіацією [2, 3]. Показниками, що характеризують водний режим рослин, є їхня оводненість, водний дефіцит, водоутримувальна здатність, водовідновлення тощо [5, 12, 18, 20]. Нормальне водозабезпечення необхідне рослинам не лише для підтримання основних фізіологічних процесів, а й тому, що у воді розчиняються майже всі необхідні рослинам сполуки та мінерали.

Мохоподібні, особливостями водного режиму яких є пойкилогідричність і високий вміст поверхневої води, на відміну від гомойогідричних рослин, відзначаються високою цитоплазматичною стійкістю як до тривалого водного стресу, так і до висушування, [21, 23, 24] і здатні пристосовуватися до різких змін водного режиму протягом сезону в місцях їхнього існування. Відомо, що за значного водного дефіциту (понад 40 %) відбувається загибель багатьох судинних видів рослин [19], тоді як мохи здатні витримувати значно більші його показники [16]. Ці властивості бріофітів дали їм змогу одними з перших заселити субстрати техногенного походження. Багато уваги було приділено вивченню стійкості мохів до водного дефіциту на девастованих територіях видобутку сірки, зокрема, проаналізовано морфологічну мінливість, зміну фізіолого-біохімічних показників і прове-

дено вивчення водного режиму в лабораторних умовах [10, 11]. Проте є недостатньо даних щодо вивчення водного обміну бріофітів в екстремальних умовах водного забезпечення на породних відвалах вугільних шахт, де проаналізовано лише вплив мохів на мікрокліматичні умови місць існування [9].

Метою дослідження є вивчення водного режиму моху *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. на різних ділянках мезорельєфу відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району (ЧГПР), які характеризуються мозаїчними мікрокліматичними й едафічними умовами.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження був щільнодернинний космополітний мох *C. purpureus*, який є доміантним видом серед інших бріофітів на девастованих територіях видобутку вугілля [15]. Для аналізів відбирали зразки рослин і проби субстрату (у 0–3 см шарі) та визначали умови екотопу подекадно на нерекультивованому відвалі Центральної збагачувальної фабрики «Червоноградська» (ЦЗФ), рекультивованому (внаслідок нанесення на гірничо-технічній стадії рекультивації шару ґрунтосуміші) відвалі шахти «Надія» та природно зарослому відвалі шахти «Візейська», на якому сформувалися деревні фітоценози віком 25–30 років.

Оцінку оводненості й водного дефіциту гаметофіту моху *C. purpureus* здійснювали за класичними методиками [6, 17]. Коефіцієнти водоутримання та водовідновлення визначали ваговими і розрахунковими методами [8, 19]. Для цього відібрані зразки гаметофіту моху зважували та розміщували на стелажах у провітрюваному лабораторному приміщенні за температури 20 °C і залишали в цих умовах на 24 год. Після підсушування їх повторно зважували, а потім занурювали в ємності з водою також на одну добу. Після насичення водою зразки знову зважували і за формулами розраховували коефіцієнти водоутримання ($K_{\text{вв}}$) та водовідновлення ($K_{\text{вд}}$):

$$K_{\text{вв}} = \frac{m(c)}{m(z)} \times 100 \%,$$

$$K_{\text{вд}} = \frac{m(n)}{m(z)} \times 100 \%,$$

де: $m(z)$ – маса свіжозібраних зразків; $m(c)$ – маса зразків після підсихання; $m(n)$ – маса зразків після насичення водою.

Показники температури, вологості субстрату й повітря визначали за загальноприйнятими методиками [1, 7], інтенсивність освітлення вимірювали люксметром Ю116 із фотоелементом Ф-102. Отримані дані опрацьовували методами статистичного аналізу [14] з використанням пакету програмного забезпечення Microsoft Excel 2003.

Результати і їхнє обговорення

Мінливість водного режиму рослин зумовлена інтенсивністю освітлення, температурними градієнтами в системі «субстрат-рослина-атмосфера», відносною вологістю повітря, діапазоном активної вологи у субстраті [20]. Результати дослідження мінливості цих показників наведено в табл. 1.

Оскільки *C. purpureus* росте досить численними, густими дернинами (від 68 до 225 пагонів на 1 см²), його розвиток протягом сезону на відвалах вугільних шахт перш за все лімітується постачанням води, тривалістю періоду високого водного потенціалу, необхідного для фотосинтезу. Влітку найбільшу вологість як повітря, так і субстрату в екотопах існування моху зафіксовано в основах досліджуваних відвалів, менші значення зафіксовані на терасах і вершинах цих техногенних ландшафтів. На терасі відвалу шахти «Надія»

температура субстрату під *C. purpureus* сягала +35 °С, що зумовлено як нагріванням поверхневих шарів сонячною радіацією, так і продовженням процесів горіння в субстраті відвалу. Порівнюючи мікрокліматичні умови влітку на різних відвалах, встановили кращі гідротермічні умови для росту і розвитку рослин на природно зарослому відвалі шахти «Візейська» та рекультивованому відвалі шахти «Надія», порівняно з нерекультивованим відвалом ЦЗФ. Восени внаслідок значних атмосферних опадів вологість повітря зростає до 74–97 %, порівняно з 27–59 %, які були зафіксовані влітку. Температурні показники як повітря, так і субстрату знизились удвічі, порівняно з літніми місяцями. Отже, зміни водно-температурного режиму на відвалах вугільних шахт як за елементами мезорельєфу, так і за порами року зумовлюють суттєву неоднорідність (мінливість) умов існування, що робить ці техногенні ландшафти зручним полігоном для дослідження змін різних фізіологічних процесів рослин, зокрема, їхнього водного режиму.

Таблиця 1

Характеристики екотопу місць існування моху *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. на відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району (липень, жовтень 2016 р., n=10) *

Елемент мезорельєфу	Мікрокліматичні умови			Едафічні умови	
	Температура повітря, °С	Вологість повітря, %	Освітлення, тис. лк	Температура субстрату, °С	Вологість субстрату, %
	Відвал шахти «Надія»				
Основа	<u>27,1-28,2</u> 12,1-13,2**	<u>42-45</u> 90-95	<u>25-35</u> 20-25	<u>18-20</u> 9-11	<u>7,5-8,9</u> 15,2-16,7
Тераса	<u>28,9-29,9</u> 14,3-15,1	<u>32-34</u> 82-85	<u>40-60</u> 30-40	<u>32-35</u> 17-19	<u>5,2-5,4</u> 8,2-8,9
Вершина	<u>29,5-30,6</u> 13,8-14,2	<u>39-41</u> 85-87	<u>25-40</u> 30-40	<u>22-25</u> 10-15	<u>6,4-6,9</u> 13,1-14,5
	Відвал ЦЗФ				
Основа	<u>29,5-30,4</u> 13,7-14,5	<u>30-32</u> 75-79	<u>30-45</u> 20-25	<u>21-23</u> 9-11	<u>6,9-7,6</u> 19,3-22,4
Схил	<u>30,1-31,2</u> 13,3-14,2	<u>27-29</u> 74-76	<u>20-35</u> 25-30	<u>18-22</u> 10-12	<u>5,8-7,2</u> 13,2-15,1
	Відвал шахти «Візейська»				
Тераса	<u>28,5-29,4</u> 13,7-14,2	<u>53-59</u> 92-97	<u>25-35</u> 20-25	<u>21-24</u> 11-13	<u>16,1-17,9</u> 25,4-27,3
Вершина	<u>30,6-31,1</u> 13,4-15,1	<u>40-43</u> 83-87	<u>30-40</u> 30-40	<u>21-25</u> 11-17	<u>11,2-13,7</u> 18,4-20,6

Примітки: * похибка вимірювань не перевищувала 15 %; ** діапазон мінливості показників: над ризикою – у липні, під ризикою – у жовтні

Встановлено, що водний дефіцит моху *C. purpureus* на різних відвалах і їхніх елементах мезорельєфу змінювався у літні місяці від 57,9 % в основі відвалу шахти «Надія» до 77,3 % на схилі відвалу ЦЗФ і перебував у оберненій залежності від вологості повітря над дерниною моху (табл. 2). В осінні місяці водний дефіцит *C. purpureus* становив 5,9–34,0 %, що пов'язано зі скороченням витрат води гаметофітом моху в процесі випаровування та збільшенням його оводненості. Отже, протягом сезонних досліджень менший водний дефіцит *C. purpureus* встановлено в основі та на терасах відвалів (окрім тераси на відвалі шахти «Надія», де внаслідок інтенсивного освітлення і висушування породи через горіння водний дефіцит був на рівні з вершиною), порівняно з їхніми вершинами, що зумовлено кращими мікрокліматичними умовами на цих формах мезорельєфу: меншою інтенсивністю освітлення (на 10–20 тис. лк), температурою (на 1–2 °С) та більшою вологістю повітря як над дерниною моху (на 3–13 %), так і субстрату під нею (на 5–11 %).

Денні та сезонні зміни вмісту води у тканинах характеризують стан рослин у конкретних умовах існування. Вміст води у клітинах пойкилогідричних мохоподібних є нестійким і великою мірою залежить від ступеня зволоженості середовища.

Таблиця 2

Інтегральні показники водного режиму *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid.
на відвалах вугільних шахт (%), $M \pm m$, $n=5$)

Елемент мезорельєфу	Оводненість гаметофіту	Водний дефіцит	Коефіцієнт водоутримування	Коефіцієнт водовідновлення
Відвал шахти «Надія»				
Основа	6,7±0,4	57,9±1,5	98,7±3,4	237,6±13,8
	64,8±1,6	19,7±0,6	38,2±0,7	124,5±6,8
Тераса	6,3±0,3	67,9±1,9	97,5±2,9	311,6±14,1
	57,0±1,4	25,5±0,9	48,4±1,1	134,2±5,9
Вершина	10,2±0,7	70,4±1,8	98,0±3,8	337,9±13,4
	74,2±1,9	20,3±0,8	29,9±0,8	125,4±7,8
Відвал ЦЗФ				
Основа	10,2±0,5	70,2±2,1	97,5±3,5	335,1±12,4
	75,3±2,1	13,6±0,5	28,2±1,0	115,8±6,8
Схил	6,9±0,8	77,3±1,2	95,2±3,1	350,4±14,7
	65,7±1,9	5,9±0,3	37,8±1,3	106,3±6,0
Відвал шахти «Візейська»				
Тераса	13,7±0,7	61,6±2,2	94,1±4,1	352,1±15,4
	74,5±1,8	34,0±1,3	29,5±1,4	151,6±6,6
Вершина	8,3±0,6	70,7±1,9	97,9±3,8	449,0±15,8
	74,9±2,0	11,3±0,5	31,4±1,6	112,8±5,4

Примітка: значення показника над рискою – у липні, під рискою – у жовтні

За оводненості гаметофіту *C. purpureus* 6,3–13,7 % (у літні місяці) коефіцієнти водоутримування становили 94–99 %. За досягнення такої оводненості втрат води практично не відбувається. Очевидно, це мінімальна кількість води, яка необхідна для підтримання основних фізіологічних процесів у організмі. Окрім того, коефіцієнти водоутримування більшою мірою залежали від вологості повітря ($r=0,98$), ніж від температури, вологості субстрату й освітлення, оскільки мохи поглинають воду всією поверхнею гаметофіту. Восени коефіцієнти водоутримування перебували в межах 28–48 %.

Експериментами, проведеними у лабораторних умовах, показано, що за оводненості *C. purpureus* до 10 % за вологості повітря понад 80 % і температури +25 °C втрат води рослинами практично немає, а за збільшення вологості повітря до 90–100 % відзначено переважання поглинання води мохом, а відтак і збільшення маси його гаметофіту. У процесі водовідновлення кількість поглинутої води дернинами моху перевищувала у 2,4–4,5 разу його абсолютно суху масу, що зумовлено його анатомо-морфологічною будовою та фізіолого-біохімічними пристосуваннями залежно від едафо-мікрокліматичних умов існування. Це узгоджується з літературними даними [22].

Окрім інтегральних розрахункових параметрів, які характеризують водний баланс рослин, важливе значення має і динаміка зміни маси гаметофіту (втрати води) під час висушування, яка наведена на рис. 1.

Відомо, що посухостійкі види, порівняно з недостатньо пристосованими, повільніше реагують на зміни водного балансу і в умовах зниженої вологозабезпеченості поступово втрачають воду [13]. У результаті проведеного дослідження встановлено, що понад 70 % водовідновлення *C. purpureus* відбувається у перші 30 хв регідратації, тоді як під час висушування протягом перших 30 хв втрати води становлять лише 9–16 %. Залежність втрати води гаметофітом моху від часу описується лінійною функцією, про що свідчить величина

вірогідної апроксимації, яка становить $R^2=0,98\pm 0,01$, що вказує на суттєву відповідність лінії даним. Протягом спекотного дня мох втрачає воду поступово, проте під час випадання роси чи атмосферних опадів швидко відбувається регідратація структур гаметофіту й відновлення його функціонування. Окрім того, встановлено, що втрата і поглинання води гаметофітом моху є видоспецифічною ознакою, яка значною мірою визначається формою росту дернин. Порівняння результатів досліджень із літературними даними показало, що особливості водообміну *C. purpureus* загалом нагадують толерантний до висушування мох *B. argenteum*, який здатний не лише до значного утримування води, а й до інтенсивного відновлення вологості тканин унаслідок регідратації [4].

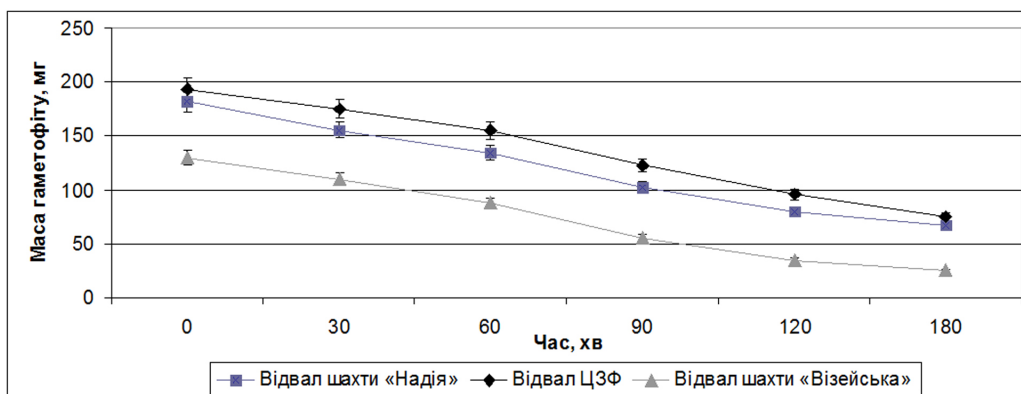


Рис. 1. Динаміка втрати води рослинами *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. із різних відвалів вугільних шахт після насичення водою під час експозиції зразків на повітрі

Отже, у стресових умовах водного забезпечення на шахтних відвалах завдяки своїй водоутримувальній здатності та швидкій регідратації *C. purpureus* існує не лише в затінених місцях, а й на відкритих ділянках різних елементів мезорельєфу відвалів вугільних шахт.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во МГУ, 1970. 488 с.
2. Башуцька У. Б. Мікрокліматичні умови породних відвалів шахт Червоноградського гірничопромислового району // Лісове господарство, лісова, паперова, деревообробна промисловість: міжвід. наук-техн. зб. Львів, 2006. Вип. 32. С. 48–51.
3. Бешлей С. В., Соханьчак Р. Р., Баранов В. І. Зміни гідротермічного режиму субстратів у заростях куничника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) на відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району // Наук. записки ДПМ. 2014. Вип. 30. С. 137–142.
4. Бойко І., Лобачевська О. Мінливість вмісту водню пероксиду та вуглеводів у мохів із різною стійкістю до висушування в умовах дегідратації та регідратації // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2016. Вип. 71. С. 238–244.
5. Гусев Н. А. Некоторые закономерности водного режима растений. М.: Изд-во АН СССР, 1959. 158 с.
6. Екологія рослин: методичні вказівки до лабораторних занять і організації самостійної роботи для студентів напрямів підготовки 6.040102 – біологія та 6.040106 – екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування / укл.: О.І. Пацула, Н.Д. Романюк. Львів: Львів. нац. ун-т імені Івана Франка, 2015. 100 с.

7. *Ипатов В. С., Тархова Т. Н.* Микроклимат моховых и лишайниковых синузий в сосняке зеленомошно-лишайниковом // Экология. 1982. № 4. С. 27.
8. *Іванюк І. В.* Інтенсивність транспірації листя в ландшафтних лісових культурах зеленої зони м. Києва // Наук. доп. НАУ. 2006. № 2(3). С. 1–4.
9. *Карпінець Л., Лобачевська О., Баранов В.* Вплив мохів на мікрокліматичні умови едафотопів породних відвалів і їхні адаптаційні реакції // Біологічні Студії / Studia Biologica. 2016. Т. 10/№ 3–4. С. 119–128.
10. *Кияк Н. Я., Хоркавців Я. Д.* Адаптація бріофітів до водного дефіциту на території відвалу в місцях видобутку сірки // Укр. ботан. журнал. 2015. Т. 72. № 6. С. 566–573.
11. *Кім Н. А.* Особливості стійкості мохів до водного дефіциту на девастованих територіях видобутку сірки // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. 2012. Т. 3(10). № 1. С. 191–198.
12. *Крамер П., Козловский Т.* Физиология древесных растений. М.: Лесн. пром-сть, 1983. 252 с.
13. *Кушніренко М. Д.* Методи оцінки засухоустойчивости плодовых растений. Кишинев: Штиинца, 1975. 22 с.
14. *Лакін Г. Ф.* Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд. М.: Высш. школа, 1990. 352 с.
15. *Лобачевська О. В.* Мохоподібні породних відвалів Червоноградського гірничо-промислового району // Чорноморськ. ботан. журнал. 2012. Т. 8. № 1. С. 67–76.
16. *Лобачевська О. В.* Мохоподібні як модель дослідження екофізіологічної адаптації до умов природного середовища // Чорноморськ. ботан. журнал. 2014. Т. 10 № 1 С. 48–61.
17. *Ніколайчук В. І., Белчгазі В. Й., Білик П. П.* Спецпрактикум з фізіології і біохімії рослин. Ужгород, 2000. 210 с.
18. *Нестерова Н. Г.* Особливості водного режиму декоративних деревних рослин у м. Київ // Садівництво. 2012. Вип. 66. С. 168–172.
19. *Нестерова Н. Г., Григорюк І. П.* Особливості водного режиму деревних видів рослин в екологічних умовах м. Київ // Збалансоване природокористування. 2013. № 2–3. С. 89–95.
20. *Слейчер Р.* Водный режим растений. М.: Мир, 1970. 265 с.
21. *Chapin F. S., Shaver G. R.* Individualistic growth response of tundra plant species to environmental manipulations in the field // Ecology. 1985. Vol. 66. P. 564–576.
22. *Glime G. M.* Bryophyte ecology // 2006. <http://www.bryoecol.mtu.edu>
23. *Proctor M. C. F., Tuba Z.* Poikilohidry and homoiohydry: antithesis or spectrum of possibilities New Phytologist. 2002. Vol. 156. P. 327–349.
24. *Turetsky M. R.* The Role of Bryophytes in Carbon and Nitrogen Cycling // The Bryologist. 2003. Vol. 106. N 3. P. 395–409.

Стаття: надійшла до редакції 14.09.17

доопрацьована 22.11.17

прийнята до друку 12.12.17

**WATER REGIME OF THE MOSS *CERATODON PURPUREUS* (HEDW.)
BRID. ON THE COAL MINES DUMPS OF THE CHERVONOHRAD
MINING-INDUSTRIAL AREA**

S. Beshley, R. Sokhanchak

*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine
11, Stefanyk St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: beshley.stepan@gmail.com*

Changes of the water regime of the moss *Ceratodon purpureus* on various elements of the mesorelief of the coal mines dumps in the Chervonohrad mining-industrial area have been studied. It was shown that the water shortage of the moss in the base, on terraces, slope and at the top of the investigated dumps was 58–77 % in the summer, however, plants continued their growth and development under such conditions due to the high water retention capacity (94–99 %) and rapid water regeneration (238–449 %). The water deficit of the moss varied from 6 % to 34 % in the autumn. Such state is normal for the plant organisms functioning and it is associated with the approach to the optimum conditions of species existence, in particular, the increase in humidity 2–3 times as much and the decrease in temperature by 2 times compared to the summer months. High water retention capacity and intensive processes of water regeneration of this moss gametophyte cause its resistance to drought as a result of reduction of water losses under conditions of water deficit. Such features of the water regime of *C. purpureus* allow it to grow both in the damp shady localities, and in open light areas with less humidity of the air and the substrate.

Keywords: Ceratodon purpureus, water level, water shortage, water retention capacity, dumps of coal mines

АПОФІТИ І АДВЕНТИВНІ ВИДИ У ФЛОРИ М. ЛЬВОВА

М. Чуба, З. Мамчур

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

Вивчено синантропну флору міста Львова. Виявлено 663 види судинних рослин, які належать до 382 родів і 103 родин із 4 відділів. У списку найбільш насичених синантропними видами родин є: Asteraceae (15,2 %), Rosaceae (7,4 %), Poaceae (7,2 %), Fabaceae (6,8 %), Brassicaceae (6,5 %), Lamiaceae (4,8 %), Scrophulariaceae (3,8 %), Polygonaceae (3,2 %), Caryophyllaceae (3 %), Chenopodiaceae (3 %). Серед провідних родів у складі синантропної флори переважають такі як: *Bromus* Scop. (1,7 % видів), *Vicia* L., *Geranium* L. (по 1,5 %), *Amaranthus* L., *Trifolium* L. (по 1,4 %), *Chenopodium* L., *Potentilla* L. і *Veronica* L. (по 1,2 %), *Aster* L., *Atriplex* L., *Epilobium* L. і *Rumex* L. (по 1 %). 31 родина представлена виключно апофітами, а 37 – лише адвентивними видами. У складі синантропної флори апофітна фракція охоплює 334 види (50,4 %), а адвентивна – 329 видів (49,6 %), із яких 227 видів – кенофіти і 102 – археофіти. Найбільша кількість адвентивних видів трапляється вздовж доріг, залізничних сполучень, біля смітників, на закинутих місцях, на присадибних ділянках. За ступенем натуралізації домінує група епекофітів (49,8 %), за способом проникнення: ергазіофітів – 40,4 %.

Ключові слова: синантропна флора, судинні рослини, апофітні види, адвентивні види, археофіти, кенофіти, м. Львів

Стрімкий розвиток урбоєкосистем є об'єктивним процесом сьогодення, тому актуальним є різнобічне вивчення стану і змін, які відбуваються з біотою на урбанізованих територіях. Важливим є вивчення урбанофлори, аналіз структури синантропної флори, що дасть можливість виявити співвідношення апофітної й адвентивної фракцій, а отже, спрогнозувати їхній імовірний подальший розвиток.

Упродовж останніх років в Україні проведено дослідження урбанофлор і поширення синантропних видів судинних рослин у низці міст: Кропивницький (Кіровоград), Кременець, Кривий Ріг, Ізяслав, Острог, Нетішин, Славутич, Бердянськ, Приморськ, Генічеськ, Маріуполь, Донецьк, Луганськ, Харків, Кам'янець-Подільський, Луцьк, Миколаїв, Херсон, Дніпро, Київ, Ужгород, Шепетівка, Костопіль, Сарни, Березне, Дубровиця, Кузнецовськ, Чернігів, Рівне та ін. [2, 4, 6–11, 13–17, 19, 21, 24, 30–32, 38, 39, 47].

Мета роботи – виявити видовий склад синантропної флори судинних рослин м. Львова та зробити аналіз її апофітної й адвентивної фракцій.

Матеріали та методи

Видовий склад синантропної флори м. Львова встановлено на основі власних досліджень, здійснених упродовж 2014–2017 рр., гербарних колекцій: Гербарію Львівського національного університету (LW), Гербарію Інституту екології Карпат НАН України (LWKS), Гербарію Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (KW) та літературних джерел [1, 20, 36].

Було обстежено такі зони міста: центральну частину й історичної забудови, селітебні райони, зелених насаджень (сквери, алеї, парки, лісопарки, кладовища), території

підприємств, узбережжя водойм, залізничні колії та прилеглі території, узбіччя автомобільних доріг, а також внутрішні подвір'я, газони, клумби, квітники, рудеральні екотопи у всіх зонах. Обстеження проводили у вегетаційний період, повторно у різні сезони та з урахуванням екологічних особливостей видів рослин.

Визначення видів проведено за визначником [12]. Приналежність видів до категорії синантропних визначено за В. Протопоповою [34] і власними польовими спостереженнями. Для аналізу синантропної фракції флори використано історико-географічну класифікацію синантропних видів за J. Kornas [44, 45] із доповненнями В. Протопопової [34]. Латинські назви таксонів наведено за С. Мосякіним і М. Федорончуком [46].

Результати і їхнє обговорення

Львів – місто, що розташоване на заході України, адміністративний центр Львівської області, за чисельністю населення станом на 2014 рік – сьоме за величиною місто країни. Для урбоєкосистеми Львів, що розташована на Головному Європейському вододілі у межах чотирьох фізико-географічних районів (Розточчя, Львівське плато, Давидівське плато, Пасмове Побужжя), властивий високий ступінь антропогенної трансформації рослинного покриву [5, 25], що пов'язано із давнім веденням господарської діяльності, зі значною щільністю селітебних територій, наявністю багатьох транспортних шляхів, у тому числі залізничних колій, заміною високої деревної рослинності низькою, культурною сеgetальною і рудеральною [22, 23].

Природна флора теперішньої території міста зазнала істотних змін, до її складу увійшло багато синантропних видів, однак ці процеси вивчені недостатньо, а особливості видового складу, способи занесення й поширення рослин, у тому числі чужорідних видів в урбоєкосистемі Львів потребує детальних досліджень.

Аналіз попередніх досліджень флори м. Львова [40, 43, 50–58] дає змогу лише частково встановити імовірний видовий склад. Певні дані знаходимо у працях В. Кучерявого [22, 23], В. Соломахи та ін. [37], В. Крамарця [18], С. Волгіна, А. Зеленчука [3], С. Марутяк [29]. Видовий склад і структуру комплексу вищих рослин настінних обростань досліджували О. Андреева та М. Рагуліна [1]. Доповненням до списку флори Львова є праці Н. Сичак і О. Кагала [36]. Детальними є дослідження О. Кузяріна низового торфовища «Білогорща», що в західній околиці м. Львова [20]. Синантропні види трав в урбоєкосистемах м. Львова досліджувала Т. Пушкарьова, за її даними 33 % загального видового складу флори у м. Львів припадає на адвентивні види, що відображає специфіку формування трав'яної рослинності міст [35].

У результаті власних досліджень, аналізу колекцій гербарних матеріалів LW, LWKS, KW та літературних джерел уклали список із 663 видів судинних рослин синантропної флори міста, що належать до 382 родів та 103 родин із 4 відділів.

За результатами систематичного аналізу встановлено, що десять провідних родин синантропної флори об'єднують 61 % від усіх видів, а три перші родини становлять 49 % від видового складу десяти провідних родин і 29,8 % від загальної кількості.

Із десяти найбільш насичених синантропними видами родин флори міста перші три – Asteraceae (15,2 % видів), Rosaceae (7,4 %), Poaceae (7,2 %) і остання – Chenopodiaceae (1,6 %) є голарктичними, а Fabaceae (6,8 %), Brassicaceae (6,5 %), Lamiaceae (4,8 %), Scrophulariaceae (3,8 %), Caryophyllaceae (3 %) є типовими давньосередземноморськими (табл. 1) [39]. У флорі урбоєкосистеми Львова спостерігаємо меншу роль бореальних родин, зокрема, Ranunculaceae, Ericaceae, Salicaceae, Violaceae, Campanulaceae, Cyperaceae та ін.

Таблиця 1

Спектр провідних родин синантропної флори на території м. Львова

Родина	К-сть родів у родині	%	К-сть видів у родині	%
Asteraceae Bercht. & J.Presl	65	17	101	15,2
Rosaceae Juss.	23	6	49	7,4
Poaceae Barnhart	26	6,8	48	7,2
Fabaceae Lindl.	20	5,2	45	6,8
Brassicaceae Burnett	30	7,9	43	6,5
Lamiaceae Martynov	18	4,7	32	4,8
Scrophulariaceae Juss.	10	2,6	25	3,8
Polygonaceae Juss.	6	1,6	21	3,2
Caryophyllaceae Juss.	14	3,7	20	3
Chenopodiaceae Vent.	6	1,6	20	3

Серед провідних родів у складі синантропної флори переважають такі як: *Bromus* Scop. (1,7 % видів), *Vicia* L., *Geranium* L. (по 1,5 %), *Amaranthus* L., *Trifolium* L. (по 1,4 %), *Chenopodium* L., *Potentilla* L. і *Veronica* L. (по 1,2 %), *Aster* L., *Atriplex* L., *Epilobium* L. і *Rumex* L. (по 1 %). Моновидовими є 254 родини.

Згідно з класифікацією синантропної флори Я. Корнася [44, 45], виділено дві фракції: апофітну й адвентивну.

В урбоекосистемі Львів апофіти (автохтонна фракція синантропної флори) становлять 334 види (50,4 %), які належать до 204 родів і 66 родин (рис. 1).

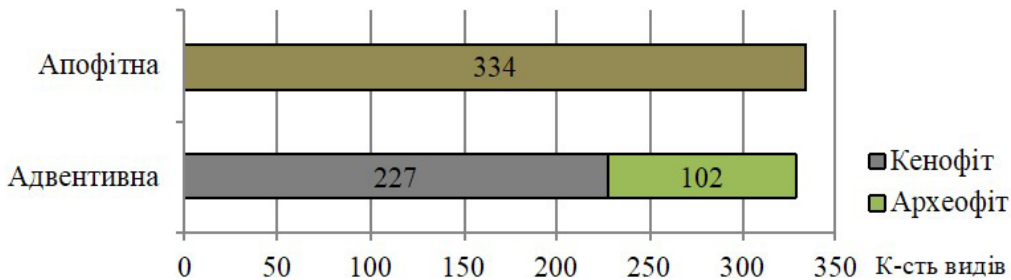


Рис. 1. Фракції синантропної флори м. Львова та розподіл адвентивних видів судинних рослин за часом занесення

Найбільшими за кількістю апофітів є такі родини: Asteraceae (14,4 % від загальної кількості апофітів), Fabaceae (8,7 %), Rosaceae (6,6 %), Poaceae (6,6 %), Lamiaceae (6,3 %). Менш насичені апофітами є: Scrophulariaceae (5,4 %), Caryophyllaceae (5,4 %), Polygonaceae (4,5 %), Аріасеae (3,9 %), Brassicaceae (3,3 %) (рис. 2). Більш ніж половина родин є одно- і двовидовими. Виключно апофітами представлена 31 родина, зокрема, Dipsacaceae, Campanulaceae, Plantaginaceae, Saxifragaceae, Ericaceae, Liliaceae та ін.

У родовому спектрі за кількістю апофітів домінують роди: *Potentilla*, *Trifolium* (по 2,4 %), *Rumex* (2,1 %), *Epilobium* (1,8 %), *Vicia*, *Geranium*, *Verbascum* L. (по 1,5 %) та ін. Загалом 137 родів апофітів є моновидовими, ще 54 – дво- і тривидовими.

Віднесення видів до адвентивних мікрохроноелементів прийнято за класифікацією адвентивних рослин України В.В. Протопопової [34]. За часом занесення виділяють археофіти і кенофіти: археофіти – це види адвентивних рослин, які потрапили на певну територію до кінця XV ст., кенофіти – після XV ст.

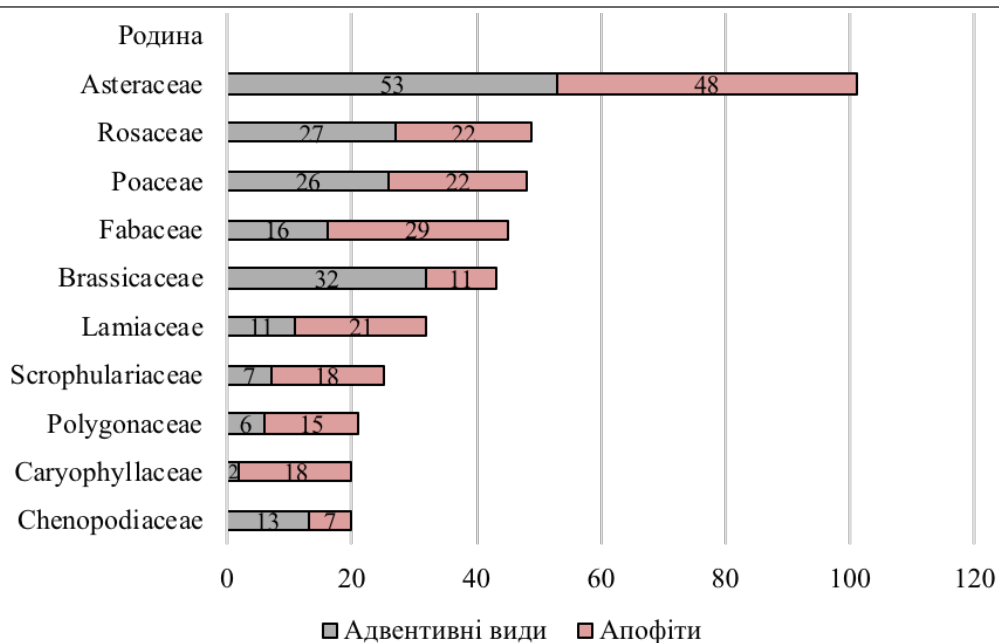


Рис. 2. Кількість апофітів і адвентивних видів у провідних родинях синантропної флори м. Львова

Адвентивна фракція синантропної флори представлена 329 видами, що належать до 207 родів та 72 родин і становлять 49,6 % синантропної флори. Спектр їхніх родин має специфічні риси, тому що поруч із голарктичними родинями Asteraceae (16,1 % від кількості адвентивних видів), Rosaceae (8,2 %), Poaceae (7,9 %) збільшується значення родин, характерних для аридних територій, зокрема, родина Brassicaceae, яка займає друге місце за кількістю адвентивних рослин (9,7 %), а також Fabaceae (4,9 %), Chenopodiaceae (4 %) і Lamiaceae (3,3 %) (рис. 2). У складі флори 37 родин представлені виключно адвентивними видами.

За кількістю адвентивних видів переважають роди: *Amaranthus* (2,7%), *Aster*, *Bromus* (по 1,5 %), *Chenopodium*, *Vicia* L., *Geranium*, *Veronica* (по 1,5 %), *Artemisia* L., *Atriplex*, *Oenothera* L. (по 1,2 %), а 190 родів є дво- і одновидовими.

Серед археофітів у м. Львові виявлено 102 види, які становлять 31 % усіх адвентів і 15,4 % – синантропної флори міста (рис. 1). Найпоширенішими на території міста є такі археофіти: *Anagallis arvensis* L., *Anthemis arvensis* L., *Artemisia absinthium* L., *Ballota nigra* L., *Capsella bursa-pastoris* L., *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert., *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl, *Fumaria officinalis* L., *Hordeum murinum* L., *Lactuca serriola* L., *Lamium album* L., *Lamium purpureum* L., *Lathyrus tuberosus* L., *Malva neglecta* Wallr., *Myosotis arvensis* (L.) Hill., *Sonchus arvensis* L., *Thlaspi arvense* L.

Порівняння видового складу археофітів у 12 містах України, за даними В. Протопопової зі співавт. [33], дало можливість виділити ядро видів, які властиві цим урбоєко-системах (рис. 3), а також зробити порівняння з флорою Львова. Зокрема, спільними є такі 20 видів рослин: *Artemisia absinthium*, *Capsella bursa-pastoris*, *Cichorium intybus* L., *Descurainia sophia*, *Echinochloa crusgalli* (L.) P. Beauv., *Erysimum cheiranthoides* L., *Lactuca serriola*, *Lappula squarrosa* (Retz.) Dumort., *Lepidium ruderales* L., *Lycium barbarum* L., *Malva pusilla* Sm., *Onopordum acanthium* L., *Papaver rhoeas* L., *Portulaca oleracea* L., *Salix fragilis* L., *Setaria pumila* (Poir.) Roem. et Schult., *S. viridis* (L.) P. Beauv., *Sonchus arvensis*,

Thlaspi arvense, *Urtica urens* L. Загалом, для України відомий 151 вид археофітів [33]. У Львові, порівняно з іншими містами, кількість археофітів є найбільшою (102 види) і становить 67,5 % від загальної кількості (рис. 3). На другому місці Київ – 98 видів (приблизно 65 % від цієї кількості), а на третьому Луганськ – 45 видів (близько 30 %) [33].

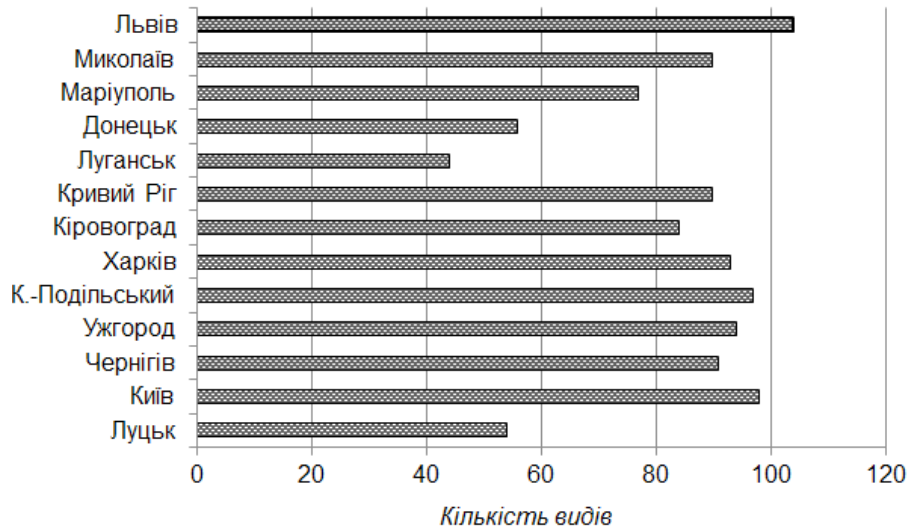


Рис. 3. Діаграма представленості археофітів в урбаніфлорах 13 міст України (на основі праці В. Протопопової зі співавт. [33] і власних даних для м. Львова)

У складі синантропної флори м. Львова група кенофітів об'єднує 227 видів рослин, що становить 68,8 % усіх адвентів і 34,2 % від синантропів (рис. 2). Характерними для урбоєкосистеми Львова є такі види-кенофіти, що трапляються на всій території міста: *Acer negundo* L., *A. saccharinum* L., *Amaranthus albus* L., *Bidens frondosa* L., *Cardaria draba* (L.) Desv., *Conyza canadensis* (L.) Cronq., *Diplotaxis muralis* (L.) DC., *Galinsoga parviflora* Cav., *Geranium sibiricum* L., *Hippophae rhamnoides* L., *Impatiens parviflora* DC., *Parthenocissus inserta* (A. Kern.) Fritsch, *Phalacrolooma annuum* (L.) Dumort., *Reynoutria japonica* Houtt., *Rudbeckia hirta* L., *Solidago canadensis* L.

Найбільша кількість адвентивних видів трапляється уздовж доріг, залізничних сполучень, біля смітників, на покинутих місцях, на присадибних ділянках. Значна кількість адвентів добре натуралізувалася та зайняла свою нішу в рудеральних угрупованнях, утворюючи групу епекофітів (49,8 %): *Anagallis arvensis*, *Ballota nigra*, *Cardaria draba*, *Erysimum cheiranthoides* L., *Galinsoga parviflora*, *Geranium sibiricum*, *Lamium purpureum*, *Myosotis arvensis*, *Saponaria officinalis* L. та ін. Меншими за кількістю видів за ступенем натуралізації є групи ефемерофітів (13,7 %): *Eragrostis pilosa* (L.) Beauv., *Malus sylvestris* Mill. та ін., колонофітів (9,5 %): *Armoracia rusticana* P. Gaerth., В. Мусе. & Scherb., *Chenopodium strictum* Roth, *Syringa vulgaris* L та ін. й агріофітів (8,5 %): зокрема, *Oenothera biennis* L., *Vinca minor* L. та ін. (рис. 4).

Адвентивні види могли потрапити у флору міста як випадково (перш за все завдяки розвиткові транспортної системи), так і завдяки свідомому завезенню людиною з метою використання рослин як декоративних, лікувальних, медоносних, кормових тощо.

За нашими дослідження, вагому роль відіграв залізничний транспорт, оскільки на залізничних коліях за часом занесення переважають кенофіти (57,7 %), тоді як у центральній частині міста, у парках і лісопарках, селітебній зоні – археофіти (55,4 %) [26–28, 40, 57].

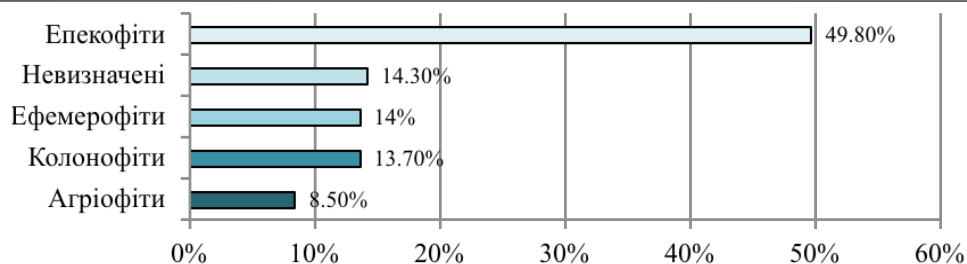


Рис. 4. Розподіл груп адвентивних видів рослин за ступенем натуралізації на території урбоєкосистеми Львова

Адвентивна флора залізниці характеризується найбільшою специфічністю. Тут поширені такі види як: *Ambrosia artemisiifolia* L., *Artemisia absinthium*, *A. verlotiorum* Lamotte., *Bunias orientalis* L., *Cuscuta europaea* L., *Conyza canadensis*, *Geranium sibiricum*, *Heracleum sosnowskyi* Manden., *Iva xantiifolia* Nutt., *Solidago canadensis* L. *Reynoutria japonica*. Це ще раз підтверджує той факт, що залізничний транспорт є одним із основних чинників занесення та розповсюдження адвентивних видів рослин [10, 40, 57].

Інтродукція рослин теж відіграє вагомую роль у синантропізації рослинного покриття в урбоєкосистемі. Зі здичавілих інтродуцентів у складі синантропної флори міста виявлено такі види як: *Quercus rubra* L., *Parthenocissus quinguefolia* (L.) Planch., *P. inserta* L., *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et Gray, *Cannabis sativa* L. s.l., а також види високої ймовірності дичавіння, які мешканці висаджують і культивують біля будинків, на клумбах, у скверах, парках, лісопарках, лісосмугах: *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, *Aster novi-belgii* L., *Elaeagnus angustifolia* L., *Lupinus polyphyllus* L., *Rudbeckia laciniata* L., *Symphoricarpos albus* (L.) S. F. Blake., *Amorpha fruticosa* L., *Quercus rubra*, *Rhus typhina* L., *Juglans regia* L.

Основними групами за способом проникнення серед адвентивних рослин є ергазіофіти (40,4 %) – це здичавілі культивовані рослини, що локалізуються біля місць вирощування і мають дифузний тип поширення: *Armoracia rusticana*, *Brassica napus* L., *Cerasus vulgaris* Mill., *Robinia pseudoacacia* L., *Parthenocissus quinguefolia*, *P. inserta*, *Vitis vinifera* L. та ксенофіти – 37,4 % видів: *Amaranthus albus* L., *Sisymbrium loeselii* L. та ін., тоді як аколотофіти становлять лише 10 %: *Cardaria draba*, *Malva neglecta*, *Sinapis arvensis* L. (рис. 5). Враховуючи підвищену роль ергазіофітів у складі адвентивної фракції, доцільно вивчати здатність до натуралізації нових інтродукованих рослин на території дослідження. Оскільки відомі випадки їхнього неконтрольованого поширення, то варто зупинити цей процес на початкових етапах [39, 47, 48]. Серед ергазіофітів за походженням переважають види із Північної Америки (23 %), Середземномор'я (18,7 %) і Азії (12 %) [48].

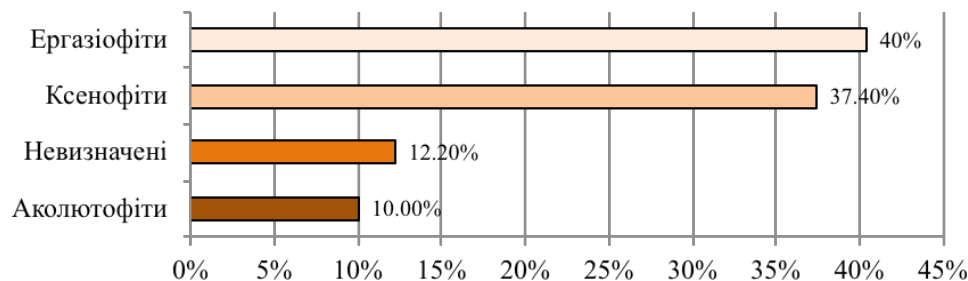


Рис. 5. Розподіл груп адвентивних видів рослин за способом занесення на території урбоєкосистеми Львова

Синантропній флорі Львова, як і флорам багатьох інших міст України, поки що властиве незначне домінування апофітної фракції [2, 7, 8, 19]. Однак результати досліджень флор у містах України [7, 14] та Європи [41, 42, 49] вказують на тенденцію до збільшення ролі адвентивних видів рослин, при цьому зростає відсоток видів рослин із високим інвазійним потенціалом [40].

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрєєва О. О., Рагуліна М. Є. Видовий склад і структура комплексу вищих рослин настінних обростань у м. Львові // Природничий альманах. Біологічні науки. Херсон: ПП Вишемирський, 2009. Вип. 12. С. 6–18.
2. Аркушина Т. Ф. Урбанofлора Кіровограда: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.05. Ялта, 2007. 20 с.
3. Волгін С. О., Зеленчук А. Т. Синантропізація флори як показник антропогенної трансформації екосистем м. Львова // Урбанізація як фактор змін біогеоценотичного покриву (Львів – Яремча, 1994 р.). Львів, 1994. С. 21–22.
4. Галаган О. К. Антропогенна трансформація фітобіоти міста Кременця та його околиць (Україна) за 200 років (від Бессера до наших днів): автореф. дис. ... канд. біол. наук. Чернівці, 2010. 23 с.
5. Голубець М. А. Антропогенні зміни біогеоценотичного покриву в Карпатському регіоні. К.: Наук. думка, 1994. 170 с.
6. Грицина М. Р. Аналіз синантропної флори Яворівського національного природного парку // Біологічні студії. 2015. Т. 9. № 1. С. 163–176.
7. Губарь Л. М. Урбанofлора східної частини Малого Полісся (на прикладі Острога, Нетішина, Славути та Шепетівки): автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 2006. 21 с.
8. Губарь Л. М. Синантропна фракція урбанofлора Ізяслава // Синантропізація рослинного покриву України. (Київ – Переяслав-Хмельницький, 2012). К., 2012. С. 27–29.
9. Губарь Л. М. Урбанofлора Нетішина: систематична, біоморфологічна та екологічна структури // Укр. ботан. журнал. 2005. Т. 62. № 4. С. 565–573.
10. Гуцман С. В., Гуцман М. В. Адвентивна фракція флора міста Рівне // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2014. № 4 (61). С. 28–32.
11. Гуцман С. В., Рудик О. В. Адвентивна фракція флора міста Кузнецовськ // Природно-ресурсний комплекс Західного Полісся: історія, стан, перспективи розвитку: матеріали наук.- практ. конф. (Рівне, 2012). Рівне, 2012. С. 71–72.
12. Доброчаєва Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. и др. Определитель высших растений Украины. К.: Наук. думка, 1987. 548 с.
13. Зав'ялова Л. В. Аборигенна фракція урбанofлора Чернігова // Укр. ботан. журнал. 2012. 69. № 6. С. 853–862.
14. Зав'ялова Л. В. Урбанofлора Чернігова: автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 2011. 22 с.
15. Звягінцева К. А. Природная фракция урбанofлора Харькова: анализ и аннотированный конспект // Фиторазнообразие Восточной Европы. 2013. Т. 7. № 3. С. 5–28.
16. Звягінцева К. О. Систематична структура урбанofлора Харкова // Укр. ботан. журнал. 2014. Т. 71. № 4. С. 455–459.
17. Коцун Л., Кузьмішина І. Синантропна флора Волинської області: монографія. Луцьк, 2016. 186 с.
18. Крамарець В. О. Паркова та лісопаркова рослинність міст заходу України // Укр. ботан. журнал. 1992. Т. 49. № 3. С. 48–55.

19. Кузьмішина І. І. Аналіз синантропної фракції спонтанної флори Волинської височини // Природа Західного Полісся та прилеглих територій. 2009. С. 140–144.
20. Кузярін О. Т. Судинні рослини території торфовища «Білогорща» (м. Львів) // Наукові основи збереження біотичної різноманітності: темат. зб. Ін-ту екології Карпат НАН України. Львів, 2010. Т. 1(8). № 1. С. 75–90.
21. Кучеревський В. В., Шоль Г. Н. Конспект урбанофлори Кривого Рогу. Кривий Ріг: Видавн. дім, 2009. 71 с.
22. Кучерявий В. О., Соломаха В. А., Соломаха Т. Д. та ін. Синтаксономія рудеральної рослинності м. Львова // Укр. ботан. журнал. 1991. Т. 48. № 3. С. 48–55.
23. Кучерявий В. А. Зелена зона города. К.: Наук. думка, 1981. 248 с.
24. Мальцева С. Ю. Біоекологічний аналіз адвентивної фракції урбанофлор Північного Приазов'я (Україна) // Чорноморськ. ботан. журнал. 2016. Т. 12 (2). С. 124–131. doi:10.14255/2308-9628/16.122/2.
25. Мамчур З. І. Антропогенна трансформація епіфітної бріофлори м. Львова та його околиць // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2003. Вип. 34. С. 135–141.
26. Мамчур З. І., Чуба М. В., Драч Ю. А. Екологічні особливості видів рослин на території залізниці міста Львова // Біологічні Студії. 2017. Т. 1. № 1. С. 135–146.
27. Мамчур З. І., Чуба М. В. Екологічні особливості синантропної флори території центральної щільної забудови міста Львова // Біологічні Студії. 2016. Т. 10. № 1. С. 143–154.
28. Мамчур З. І., Чуба М. В., Драч Ю. А. Мохоподібні і судинні рослини на території залізниці міста Львова // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2017. Вип. 75. С. 54–65.
29. Марутяк С. Б. Особливості формування газонів в умовах Львівщини: автореф. дис. ... канд. с.-г. наук: 06.03.01. Львів, 2002. 19 с.
30. Мельник Р. Адвентивна фракція урбанофлори Миколаєва // Актуальні питання ботаніки та екології: матеріали конф. молодих вчених-ботаніків України (Чернігів–Седнів, вересень 2000 р.). К., 2000. С. 50–51.
31. Мельник Р. П. Урбанофлора Миколаєва: автореф. ... канд. біол. наук: 03.00.05. Ялта, 2001. 19 с.
32. Мойсієнко І. І. Урбанофлора Херсона: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.05. Ялта, 1999. 19 с.
33. Протопопова В. В., Шевера М. В., Аніщенко І. М., Терентьєва Н. Г. Порівняльна характеристика археофітів урбанофлор різних ботаніко-географічних зон України // Укр. ботан. журнал. 2013. Т. 70. № 2. С. 158–163.
34. Протопопова В. В. Синантропная флора Украины и пути ее развития. К.: Наук. думка, 1991. 202 с.
35. 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.
36. 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.
37. Соломаха В. А., Костильов О. В., Шеляг-Сосонко Ю. Р. Синантропна рослинність України. К.: Наук. думка, 1992. С. 73–114.
38. Тарасов В. В. Флора Дніпропетровської та Запорізької областей. Судинні рослини / відп. ред. А. П. Травлев. Дніпропетровськ: Вид-во ДНУ, 2005. 276 с.
39. Яворська О. Г. Адвентивна фракція синантропної флори Київської міської агломерації: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.05. К., 2002. 20 с.

40. *Denisow B., Wrzesień M., Mamchur Z., Chuba M.* Invasive flora within urban railway areas: a case study from Lublin (Poland) and Lviv (Ukraine) // *Acta Agrobot.* 2017. Vol. 70 (4). P. 1727. <https://doi.org/10.5586/aa.1727>
41. *Jackowiak B.* Antropogeniczne przemiany flory roślin naczyniowych Poznania (Anthropogenic changes of the flora of vascular plants of Poznań) // *Wyd. Nauk. UAM. Seria Biologia.* 1990. Vol. 42. P. 1–232.
42. *Jackowiak B.* Chorological and ecological model of urbanophilous plants in Central Europe. In: *Jackowiak B., Żukowski W. (Eds.) Mechanisms of anthropogenic changes of plant cover. Publications of the Department of Plant Taxonomy – Adam Mickiewicz University in Poznań, 2000. Vol. 10. P. 125–141.*
43. *Koczvara M.* Lwow – Boryslaw. Flora // *Przewodnik Kongresowy II Zjazdu Slow. Geogr. i Etnografów w Polsce.* Kraków, 1927. P. 207–208.
44. *Kornaś J.* Geograficzno-historyczna klasyfikacja roślin synantropijnych. Synantropizacja szaty roślinnej // 1. Neofityzm i apofityzm, materiały Sympozjum w Nowogrodzie. *Mater. Zakł. Fitosoc. Stos.* Warszawa, Białołęka, 1968. № 25. S. 33–41.
45. *Kornaś J.* Geographically historical classification of synanthropic plants. Warsaw, 1968. Vol. 25. P. 33–41.
46. *Mosyakin S. L., Fedoronchuk M. M.* Vascular Plants of Ukraine a nomenclatural checklist. K.: M. G. Kholodny Institute Botany, 1999. 345 p.
47. *Protopopova V., Shevera M.* A preliminary checklist of the urban flora of Uzhgorod. Kyiv: Phytosociocentre, 2002. 68 p.
48. *Protopopova V. V., Shevera M. V.* Ergasiophytes of the Ukrainian flora // *Biodiv. Res. Conserv.* 2014. Vol. 35. P. 31–46.
49. *Ricotta C., La Sorte F. A., McKinney M. L. et al.* Phyloecology of urban alien floras // *J. Ecol.* 2009. Vol. 97. Iss. 6. P. 1243–1251.
50. *Tomaschek A.* Zur Flora der Umgebung Lembergs // *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien.* 1860. X. S. 93–100.
51. *Tomaschek A.* Dritter Beitrag zur Flora der Umgebung Lembergs // *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien.* 1862. XII. S. 63–86.
52. *Tomaschek A.* Vierter Beitrag zur Flora der Umgebung von Lemberg // *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien.* 1862. XII. S. 869–966.
53. *Tomaschek A.* Nachtrage zur Flora der Umgebung von Lemberg und des östlichen Galiziens überhaupt // *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien.* 1866. XVI. S. 313–318.
54. *Tomaschek A.* Nachträge zur Flora der Umgebung von Lemberg und des östlichen Galiziens überhaupt // *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien.* 1868. XVIII. S. 341–358.
55. *Tomaschek A.* Zur Flora der Umgebung Lembergs // *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien.* 1868. IX. S. 43–54.
56. *Trusz S.* Nowy dodatek do flory Lwowskiej // *Kosmos.* 1879. IV. S. 461–462.
57. *Wrzesień M., Denisow B., Mamchur Z. et al.* Composition and structure of the flora in intra-urban railway areas // *Acta Agrobot.* 2016. Vol. 69 (3): 1666. <http://dx.doi.org/10.5586/aa.1666>.
58. *Zawadzki A.* Flora der Stadt Lemberg, oder Beschreibung der um Lemberg wildwachsenden Pflanzen, nach ihrer Blüthezeit geordnet. Lemberg, 1836. S. 1–230.

Стаття: надійшла до редакції 21.11.17

доопрацьована 23.03.18

прийнята до друку 13.04.18

APOPHYTES AND ADVENTITIOUS SPECIES IN THE LVIV CITY**M. Chuba, Z. Mamchur**

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

The synanthropic flora of the Lviv city was studied. It includes 663 species of vascular plants which belong to 382 genera and 103 families of four divisions. The families which are the most saturated of synanthropic species: Asteraceae (15.2 %), Rosaceae (7.4 %), Poaceae (7.2 %), Fabaceae (6.8 %), Brassicaceae (6.5 %), Lamiaceae (4.8 %), Scrophulariaceae (3.8 %), Polygonaceae (3.2 %), Caryophyllaceae (3 %), Chenopodiaceae (3 %). Prevailing genera of synanthropic flora are: *Bromus* Scop. (1.7 % видів), *Vicia* L., *Geranium* L. (по 1.5 %), *Amaranthus* L., *Trifolium* L. (по 1.4 %), *Chenopodium* L., *Potentilla* L. і *Veronica* L. (по 1. 2 %), *Aster* L., *Atriplex* L., *Epilobium* L. і *Rumex* L. (по 1 %). 31 families are represented exclusively in apophytes, and 37 – are only in adventitious species. The apophytes fraction is larger – it accounts for 334 species. The adventitious fraction includes 329 species (archeophytes – 102 and kenophytes – 227 species). The largest number of adventitious species occurs along roads, railways, near garbage, on abandoned sites, on private plots. The degree of naturalization is dominated by a group of epecophytes (49.8 %), by the way of penetration – ergasiophytes – 40.4 %.

Keywords: synanthropic flora, vascular plants, apophytes species, adventitious species, archeophytes, kenophytes, Lviv city

**ВПЛИВ ГІБЕРЕЛОВОЇ КИСЛОТИ, СТИМПО Й РЕГОПЛАНТУ
НА ВМІСТ НІТРАТІВ І АМІАКУ В ПРОРОСТКАХ *HELIANTHUS ANNUUS* L.
ТА *BRASSICA NAPUS* L. ЗА РОСТУ НА СУБСТРАТАХ
ПОРОДНОГО ВІДВАЛУ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ**

С. Макогоненко, В. Баранов, О. Терек

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

Досліджували дію гіберелової кислоти як представника класичних регуляторів росту, а також двох нових регуляторів росту Стимпо та Регопланту українського виробництва (виробник ДП МНТЦ «Агробіотех») на вміст нітратів і аміаку в 14-добових проростках *Helianthus annuus* L. і *Brassica napus* L. Дослід проводили на проростках, що росли на ґрунтових субстратах породних відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району. Дані регулятори є новою розробкою третього покоління з широким спектром дії та біозахисним ефектом. Їх раніше не застосовували як стимуляторів росту і можливих протекторних сполук під час фіторекультивациї техноземів. Тому важливо було дослідити їхній вплив на показники азотного метаболізму проростків у несприятливих едафічних умовах відвалу. Було виявлено збільшення вмісту нітратів і зменшення вмісту аміаку. Це свідчить про зміни азотного обміну у процесі росту молодих проростків соняшника та ріпаку за дії Стимпо і Регопланту, а також сприяння їхньому росту на субстратах породного відвалу. Отримані результати вказують на перспективність подальшого застосування регуляторів росту під час фіторекультивациї породних відвалів.

Ключові слова: Стимпо, Регоплант, гіберелова кислота, *Helianthus annuus* L., *Brassica napus* L.

На території України міститься велика кількість вугільних шахт, відходи яких у вигляді відвалів займають великі території, забруднюючи все навколо, зокрема, наявними у них важкими металами, які ведуть і до загострення хронічних хвороб у людей, і до виникнення у людей схильності до нових хвороб, зокрема, до патології емалі зубів – гіпоплазії та флюорозу [17], а у рослин – навіть до видозмін рослинного покриву на даних територіях [4]. За дії вітру й опадів відбуваються зсуви породи, спостерігається постійне вимивання дощами важких металів у ґрунтові води, що впливає на якість ґрунтових вод, атмосферу, здійснює негативний вплив на рослинність як безпосередньо на відвалах, так і у навколишніх селах [4, 14, 17].

Центральна збагачувальна фабрика (ЦЗФ) є якраз одним із таких підприємств Червоноградського гірничовидобувного району (ЧГПР). Збільшення об'єму супутньої породи під час видобутку і переробки вугілля на ЦЗФ призвело до появи нових відвалів. Територія ЦЗФ займає 180 км², на якій розташовані 12 вугільних шахт і прилегла територія, що відведена під породні відвали, площею 211 га [4]. На території ЦЗФ наявні як перегоріла порода червоного кольору, так і сира, чорна порода, яка постійно за дії тиску та високої температури трансформується на відвалах у червону. На териконах вугільних шахт температура субстратів за активної інсоляції може сягати 60–65 °С на поверхні, а оскільки для даних субстратів характерною є практично провальна водопроникність, то влітку води на глибині 30–50 см майже немає. Досипання нової породи створює тут терикони із

нахилом схилів до 40° та підвищенням на 40–70 м над рівнем оточуючої території [4, 14]. Під час аналізу субстратів ЦЗФ і ґрунтів оточуючих територій виявлено великий вміст важких металів не тільки на території фабрики, але і на території навколо неї, де в окремих місцях відбору проб ГДК важких металів перевищує допустимі норми у 5–7 разів [9, 17].

Враховуючи наведені факти, вказані території потребують негайної фіторекультивациї, яка є процесом очищення ґрунтів даної території завдяки висаджуванню рослин – акумуляторів важких металів і їхньої трансформації у менш шкідливі форми з метою повернення даної території до повторного використання. Одними із таких відносно стійких фіторекультиваторів є обрані нами рослини *Helianthus annuus* L. і *Brassica napus* L. [3, 6]. Проте ріст і розвиток будь-якої рослини як у звичайних умовах, так і за росту на відвалах порід вугільної промисловості потребує внесення добрив, засобів їхнього захисту від шкідників і захворювань, а також застосування регуляторів росту рослин [4, 10].

У технологічному центрі «Агробіотех» створено біорегулятори третього покоління – «Регоплант» і «Стимпо» широкого спектра дії з біозахисним ефектом. В основі дії цих регуляторів є синергетичний ефект дії продуктів культивування грибів – мікроміцетів із кореневої системи женьшеню й аверсектину – продукту життєдіяльності бактерії *Streptomyces avermetilis*, здатного покращувати фізіологічні показники рослин як за звичайних, так і за стресових умов [2, 7, 12]. Їхній вплив на ріст і метаболізм рослин під час вирощування на техноземах вивчений мало. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив Стимпо і Регопланту, порівняно з класичним регулятором росту гібереловою кислотою, на вміст нітратів і аміаку у проростків досліджуваних культур за умов росту на субстратах відвалів ЦЗФ.

Матеріали та методи

Попередньо було вивчено вплив різних концентрацій регуляторів росту (РР) – оптимальною для гібереліну виявилася концентрація 10 мг/л для обох культур. Оптимальні концентрації Стимпо і Регопланту були різними – для ріпаку 0,1 мл/л Стимпо і 0,25 мл/л Регопланту, а для проростків соняшника – 0,5 мл/л Стимпо і 0,1 мл/л Регопланту.

Насіння соняшника і ріпаку замочували у розчинах регуляторів росту вищенаведених концентрацій на одну годину, промивали дистильованою водою, пророщували в темному термостаті за температури 22 °С протягом 3 діб і далі вирощували на садовому ґрунті й чорному (неперегорілому) та червоному (перегорілому) субстратах породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ протягом 14 діб, після чого визначали вміст нітратів, аміаку.

Нітрати екстрагували 1 % CH_3COOH і визначали фотометричним методом із реактивом Грісса на приладі КФК–3 за довжини хвилі 540 нм і перераховували на 100 г сирової маси зразка [13]. Аміак екстрагували водою і визначали з реактивом Несслера фотометричним методом згідно з [1] на КФК–3 за довжини хвилі 410 нм і обчислювали в мг/100 г сирової маси рослинного матеріалу. Кількісна вибірка була 3-кратною. Для статистичної обробки даних використовували програми Statist і Exel.

Результати і їхнє обговорення

Фіторекультивация земель породних відвалів відбувається за участю стійких до важких металів рослин [15]. Згідно з літературними даними, рослини *Helianthus annuus* L. і *Brassica napus* L. є відносно стійкими до високих температур і вмісту важких металів [3, 6]. Вміст нітратів у рослинах визначається загальними потребами підтримувати баланс сигнальних азотовмісних сполук для регулювання та запуску системних механізмів стійкості незалежно від типу зовнішнього впливу, оскільки оксиди азоту відіграють суттєву роль у реакціях рослин на дію абіотичних (гіпер- і гіпотермічного) та біотичного стресів [5, 8, 16].

Тому на першому етапі досліджень було вивчено вплив оптимальних концентрацій РР на вміст нітратів у проростків *Helianthus annuus* L. і *Brassica napus* L. (табл. 1). Розрахунки проводили стосовно садового ґрунту, червоної та чорної породи, приймаючи кожен із субстратів за контрольний варіант.

Таблиця 1

Вміст нітратів у проростків *Helianthus annuus* L. і *Brassica napus* L.
за росту на субстратах відвалу вугільних шахт

Варіант	Вміст нітратів, мг / 100 г сирової речовини / %	
	соняшник	ріпак
Контроль – садовий ґрунт (СГ)	61,9±9,2 / 100	37,5±4,2 / 100
СГ+ГК	133,3±13,4 / 215	77,2±8,4 / 206
СГ + С	158,3±4,2 / 256	102,2±10,6 / 273
СГ + Р	168,05±8,45 / 271	107,8±9,2 / 287
Червона порода – Чер. п.	172,2±12,4 / 100	113,3±13,4 / 100
Чер.п. + ГК	177,8±5,6 / 103	162,5±4,2 / 143
Чер.п. + С	259,7±8,5 / 151	259,7±13,9 / 229
Чер.п. + Р	283,3±13,4 / 165	273,6±8,5 / 241
Чорна порода – Ч. п.	288,9±15,3 / 100	148,1±12,9 / 100
Ч.п. + ГК	294,4±13,7 / 102	158,3±13,4 / 107
Ч.п. + С	319,4±8,5 / 111	244,4±8,5 / 165
Ч.п. + Р	325,0±4,2 / 113	313,89±19,44 / 212

Примітка: СГ – садовий ґрунт; С – Стимпо; Р – Реґоплант; Чер.п. – червона порода; Ч. п. – чорна порода; ГК – гіберелова кислота

Виявлено зростання вмісту нітратів у 14-добових проростків обох культур у всіх варіантах, зокрема, у варіантах, що росли на породах, причому Стимпо і Реґоплант викликали більше зростання нітратів, ніж ГК.

Оскільки іще одною поживною формою азоту в рослинному організмі є аміак, то наступним етапом нашого дослідження було визначення його вмісту (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст аміаку у проростків *Helianthus annuus* L. і *Brassica napus* L.
за росту на субстратах відвалу

Варіант	Аміак мг/ кг сирової речовини	
	соняшник	ріпак
Контроль – садовий ґрунт (СГ)	8,1±0,04 / 100	7,3±0,03 / 100
СГ+ГК	6,1±0,03 / 75	6,8±0,03 / 93
СГ + С	2,5±0,04 / 31	3,8±0,04 / 52
СГ + Р	2,1±0,04 / 11	2,5±0,04 / 34
Червона порода – Чер. п.	19,7±0,04 / 100	17,9±0,03 / 100
Чер.п. + ГК	17,6±0,03 / 89	15,4±0,04 / 86
Чер.п. + С	11,7± 0,04 / 59	12,1±0,04 / 68
Чер.п. + Р	10,4±0,04 / 53	10,8±0,04 / 60
Чорна порода – Ч. п.	15,4±0,04 / 100	17,6±0,03 / 100
Ч.п. + ГК	14,3±0,03 / 93	15,5±0,04 / 88
Ч.п. + С	9,6±0,03 / 62	9,3±0,03 / 53
Ч.п. + Р	7,3±0,03 / 47	6,9±0,03 / 39

Примітка: СГ – садовий ґрунт; С – Стимпо; Р – Реґоплант; Чер.п. – червона порода; Ч. п. – чорна порода; ГК – гіберелова кислота

Виявлено зниження вмісту аміаку в 14-добових проростків у всіх варіантах, зокрема, у варіантах, які росли на породах за впливу РР. Поясненням отриманих результатів може бути різна кислотність субстратів, на яких вирощували проростки. Як відомо, NH_4^+ краще поглинається за нейтральної або слаболужної реакції середовища, а в кислому середовищі його поглинання спадає, NO_3^- навпаки, краще поглинаються за кислого рН, оскільки для протонного котранспорту потрібно багато протонів [11]. У наших дослідях чорна порода мала рН 3,3, тоді як червона мала менше значення кислотності з рН 4,5, відповідно зі зміною кислотності змінювалося поглинання нітратів і аміаку.

За дії Стимпо і Регопланту спостерігали збільшення вмісту нітратів у проростках, порівняно з контрольними проростками на породах без впливу регуляторів росту. Поглинання аміаку на субстратах трохи збільшувалося за дії ГК і зменшувалося за дії Стимпо та Регопланту.

Таким чином, дія Стимпо та Регопланту сприяє адаптації проростків до несприятливих едафічних умов середовища на початкових фазах розвитку, коли рослини ще мають малий вміст вуглеводів і коли краще засвоюється нітратний азот. Засвоєнню амонію заважає відсутність органічних кислот, які утворюються з вуглеводів та у процесі дихання і необхідні для нейтралізації надлишку аміаку шляхом перетворення їх у амінокислоти й аміді [11].

Таким чином, виявлено зв'язок поглинання нітратів і аміаку від рН субстратів і зворотний зв'язок між їхнім поглинанням у проростків соняшника та ріпаку як у контролі, так і більшою мірою за дії регуляторів росту, що підвищувало їхні адаптаційні властивості до несприятливих едафічних умов породного відвалу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. М., 1970. С. 153–159.
2. Бабаянц А. В., Гриценко З. М., Пономаренко С. П. Біостимулятори (регулятори росту) рослин. К.: МНТЦ Агробіотех, 2013–2014. С. 3, 10, 12, 15.
3. Бакун В. Р., Ковальська О. Р., Пацула О. І. Протекторна роль трептолему у рослин ріпака та соняшника за дії іонів свинцю // Молодь і поступ біології: зб. тез IV Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів. Львів, 2008. С. 373–374.
4. Баранов В. І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ “Львів-системенерго“ як об'єкта для озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 172–178.
5. Войтович О. М. Стрес-індуковані зміни активності NO – сигнальної системи в проростках *Pisum sativum* L. // Ботаніка та екологія рослин. Вісн. Запоріж. ун-ту. 2009. № 2. С. 5–8.
6. Гаццишин В. Р., Пацула О. І., Терек О. І. Накопичення важких металів у *Brassica napus* L. і *Helianthus annuus* L. під впливом солей цинку та регулятора росту трептолему // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46. № 4. С. 343–350.
7. Гриценко З. М., Пономаренко С. П., Карпенко В. П. та ін. Біологічно активні речовини в рослинництві. Умань, 2008. С. 179–191.
8. Дмитриев А. П. Сигнальная роль оксида азота у растений // Цитология и генетика. 2004. № 4. С. 67–75.
9. Книш І. Б., Харкевич В. В. Розподіл вмісту хімічних елементів у породах териконів Червоноградського гірничопромислового району // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. геол. 2003. Вип. 17. С. 148–158.
10. Олійник О. О., Фурман В. М., Солодка Т. М., Вакуленчук С. І. Вивчення ефективності допосівної обробки насіння стимуляторами росту рослин // Вісн. Нац. ун-ту водного господарства та природокористування. 2013. № 4(64). С. 112–118.

11. *Макрушин М. М., Макрушина Є. М., Петерсон Н. В.* та ін. Фізіологія рослин. Вінниця: Нова книга, 2006. С. 264–266.
12. *Пономаренко С. П.* Регуляторы роста растений / Институт биоорганической химии. К., 2003. 319 с.
13. *Починок Х. Н.* Методы биохимического анализа растений. К.: Наук. думка, 1976. 96 с.
14. Регіональна доповідь про стан навколишнього природного середовища у Львівській області в 2015 році. Департамент екології та природних ресурсів. Львів, 2015. http://www.menr.gov.ua/docs/activity-dopovidi/regionalni/rehionalni-dopovidi-u-2015-rotsi/Lvivska_2015.pdf
15. *Сметанин В. И.* Рекультивация земель: обзор технологий. М.: Экология и промышленность России, 2004. С. 42–45.
16. *Тарчевский И. А.* Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.
17. *Грахтенберг И.* Опыт изучения биогеохимической провинции одного из горнопромышленных районов Западной Украины: книга о ядах и отравлениях. Очерки токсикологии. К.: Наук. думка, 2000. С. 213–225.

Стаття: надійшла до редакції 27.11.17

доопрацьована 13.03.18

прийнята до друку 16.03.18

**INFLUENCE OF GIBBERELIC ACID, STIMPO AND REGOPLANT
ON NITRATE AND AMMONIA CONTENT IN SPROUTS OF *HELIANTHUS
ANNUUS* L. AND *BRASSICA NAPUS* L. AT GROWTH ON THE SOIL
SUBSTRATES OF COAL MINE WASTE DUMPS**

S. Makogonenko, V. Baranov, O. Terek

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: mcsofia@ukr.net*

The effect of gibberellic acid as a classical growth regulators and the two new growth regulators of Ukrainian production Stimpo and Regoplant (producer of the SE ISTC Agrobiotech) on the content of nitrates and ammonian in the 14 - daily seedlings of *Helianthus annuus* L. and *Brassica napus* L. investigated. The experiment was conducted on seedlings grown on the soil substrates of the waste dumps of the coal mines of the Chervonograd mining-industrial area. These regulators are third generation of the regulators with a wide spectrum of action and a bio-protective effect. They have not previously been used as growth stimulators and possible protector compounds for phytorecultivation of the waste dumps of the coal mines. Therefore, it was important to investigate their influence on the indicators of nitrogen metabolism in the seedlings at the unfavorable edaphic conditions of the dump. It was set increasing in the content of nitrates and decreasing content of ammoniain in the plants. This indicates a changing in the nitrogen metabolism during the growth of sunflower and rapeseed seedlings for the influence of Stimpo and the Regoplant. As well as stimulating their growth on the substrates of the waste dump. The obtained results indicate the prospect of further application of growth regulators at the phytorecultivation of waste dump.

Keywords: Stimpo, Regoplant, gibberellic acid, *Helianthus annuus* L., *Brassica napus* L.

UDC 595.799:[069.51.015:59](477.83-25)

**COLLECTION OF BUMBLEBEES (HYMENOPTERA, APIDAE,
BOMBUS LATREILLE, 1802) IN ZOOLOGICAL MUSEUM OF IVAN
FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV**

I. Tymkiv, I. Shydlovskyy, K. Nazaruk, A. Zatushevskyy

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: irynatymkiv93@gmail.com*

This paper presents qualitative and quantitative analyses of the bumblebees' (*Bombus*) collection, which is kept in the Zoological Museum of Ivan Franko National University of Lviv. The collection includes 719 specimens of bumblebees, belonging to 23 species. The majority of these species were found in the western part of the territory of Ukraine (on the territory of eight regions), few specimens have been collected in Germany (1960) and in Egypt (2005). Unfortunately, there is a little part of specimens, which are lacking information on collecting locality. The basis of the collection is formed of the common and widespread bumblebee species, some rare species (*Bombus argillaceus* and *B. muscorum*) being available as well. The specimens have been collected during 1960–2017, the major part of the collection being made in the period of the last five years. The analysis of this collection shows us the species composition of the bumblebee fauna on the territory of Western Ukraine, and on the some others regions of Ukraine. This inventory will be a basis for a catalogue.

Keywords: bumblebees, *Bombus*, Apidae, collections, Zoological Museum

Collections of the Zoological Museum (ZMD [11]) are of a great scientific value, apart from their aesthetic and educational value. They serve as a source and confirmation of information on the faunal diversity of the world, on distribution of common and rare species of animals, and their conservation status.

Whereas a lot is known about vertebrates' collections of the Museum, the knowledge on the collections of invertebrate animals is rather poor, as their treatment at present is on the initial stage.

There is a large number of invertebrate specimens in ZMD, so their identification and making inventory will facilitate further research in collected materials.

Among the collections of invertebrates of the Museum, the freshwater molluscs' collection of Prof. V.I. Zdun [1] and the collection of homopteran insects of E.F. Germar [3] are the first which have already been worked up.

The current paper deals with the inventory of the bumblebee's (Hymenoptera, Apidae, *Bombus*) collection.

Objects and Methods

The object of our research is the collection of bumblebees of ZMD. For bumblebee identification we have used A. Løken's keys to species [5, 6] and the classification of bumblebees follows P.H. Williams [9, 10].

Results and Discussion

Species diversity and conservation status

In general, 40 bumblebee species are known from the whole territory of Ukraine (according to I.B. Konovalova's research [4] there are 41 species, because *B. maxillosus* was served as

a separate species but it is a synonym to *B. barbutellus* now). The museum collection of bumblebees includes 719 specimens, which belong to 23 species (Table 1).

The specimens have been collected during 1960–2017, the major part of the collection being made in the period of the last five years.

Table 1

Species diversity of bumblebees in the collection of ZMD, their conservation status in the Red Data Book of Ukraine (RDBU) [7], conservation categories in the European Red List of Bees (ERLB) [2] and IUCN Red List Categories [8]

Subgenus	Species	N. of specimens	Status in RDBU	Categor. in ERLB	Categor. in IUCN R.L.
<i>Alpigenobombus</i>	<i>Bombus wurflenii</i> Radoszkowski, 1860	4	–	–	–
	<i>Bombus lucorum</i> (Linnaeus, 1761)	39	–	–	–
<i>Bombus s.str.</i>	<i>Bombus terrestris</i> (Linnaeus, 1758)	228	–	–	–
	<i>Bombus semenoviellus</i> Skorikov, 1910	1	–	–	–
<i>Kallobombus</i>	<i>Bombus soroensis</i> (Fabricius, 1777)	1	–	–	–
<i>Megabombus</i>	<i>Bombus argillaceus</i> (Scopoli, 1763)	1	Vulnerable	–	–
	<i>Bombus hortorum</i> (Linnaeus, 1761)	42	–	–	–
<i>Melanobombus</i>	<i>Bombus lapidarius</i> (Linnaeus, 1758)	110	–	–	–
	<i>Bombus barbutellus</i> (Kirby, 1802)	2	–	–	–
	<i>Bombus bohemicus</i> Seidl, 1838	11	–	–	DD
<i>Psithyrus</i>	<i>Bombus campestris</i> (Panzer, 1801)	14	–	–	–
	<i>Bombus rupestris</i> (Fabricius, 1793)	12	–	–	–
	<i>Bombus sylvestris</i> (Le Peletier, 1832)	5	–	–	–
	<i>Bombus vestalis</i> Geoffroy, 1785	10	–	–	–
	<i>Bombus hypnorum</i> Linnaeus, 1758	29	–	–	–
<i>Pyrobombus</i>	<i>Bombus pratorum</i> (Linnaeus, 1761)	22	–	–	–
	<i>Bombus distinguendus</i> Morawitz, 1869	3	–	VU	DD
	<i>Bombus subterraneus</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–	–
<i>Subterraneobombus</i>	<i>Bombus humilis</i> Illiger, 1806	3	–	–	–
	<i>Bombus muscorum</i> (Linnaeus, 1758)	5	Rare	VU	–
	<i>Bombus pascuorum</i> (Scopoli, 1763)	81	–	–	–
<i>Thoracobombus</i>	<i>Bombus ruderarius</i> (Müller, 1776)	54	–	–	–
	<i>Bombus sylvarum</i> Linnaeus, 1761	41	–	–	–

According to I.B. Konovalova's research, the abundance of bumblebee species within their distributional ranges in Ukraine is as follows: nine species of bumblebees, which are presented in the collection of ZMD, are ubiquitous (*Bombus terrestris*, *B. lucorum*, *B. lapidarius*, *B. pratorum*, *B. pascuorum*, *B. bohemicus*, *B. campestris*, *B. rupestris* and *B. vestalis*), eight species are common (*B. soroeensis*, *B. hortorum*, *B. ruderarius*, *B. sylvarum*, *B. hypnorum*, *B. wurflenii*, *B. barbutellus*, *B. sylvestris*), five species are locally abundant (*B. subterraneus*, *B. humilis*, *B. muscorum*, *B. semenoviellus*, *B. argillaceus*) and one species (*B. distinguendus*) is rare in all its habitats [4]. However, taking into consideration the origin of our collection, the regions, from where the specimens have been collected in particular, we must note that such species as *B. soroeensis*, *B. subterraneus*, *B. humilis*, *B. semenoviellus* and *B. argillaceus* should be considered as rare ones within the area of the western part of Ukraine. The species *B. wurflenii* is common only to some areas of certain altitudes in the Ukrainian Carpathians, to which it is restricted.

The origin of the specimens

The majority of bumblebee specimens (706 specimens – 98,2 %) have been collected in eight regions of Ukraine. The greater part of the collection has originated from Lviv and Ivano-Frankivsk regions (Table 2). Two specimens (*B. sylvarum* and *B. muscorum*) have been collected in Germany (1960), one specimen (*B. rupestris*) is from Egypt (2005) and 10 specimens are lacking information on collecting locality.

Table 2

The origin of the specimens in the bumblebees' collection of ZMD

Country	Regions	Number of specimens
Ukraine	Lviv	489
	Ivano-Frankivsk	119
	Volyn	47
	Zakarpattia	32
	Rivne	13
	Vinnytsia	3
	Zhytomyr	1
	Odessa	1
	Western Ukraine (without exact locality of collection)	1
Germany		2
Egypt		1
Without specified locality of collection		10

The information on labels to specimens can be separated into four main groups: 1) gatherings collected by students and faculty staff during summer educational practice and expeditions; 2) collections by the first author of this article for scientific purpose; 3) collections of bees, damaged by traffic, provided by amateur naturalists; 4) few random specimens from different regions.

The analysis of the bumblebees collection of the Zoological Museum enables to draw a conclusion about the species composition of the bumblebee fauna, most of all – on the territory of Western Ukraine. The species diversity and their distribution are consistent with literature data.

On the basis of this inventory a catalogue should be published in the nearest future.

We express the deepest thanks to I.B. Konovalova for the help with identification of bumblebees.

REFERENCES

1. Catalogue of the freshwater mollusc collection of Prof. V.I. Zdun in the Zoological Museum of LNU. Compiled by: Shydlovskyy I.V., Hural R.I., Romanova Ch.J. Lviv: Publishing Center of Ivan Franko National University of Lviv, 2008. 58 p. BБК 594.38 (477) (In Ukrainian) // [Каталог колекції прісноводних молюсків проф. В. І. Здуна у фондах Зоологічного музею ЛНУ ім. І. Франка. Укладачі: Шидловський І.В., Гураль Р.І., Романова Х.Й. Львів: Видавничий центр ЛНУ ім. І. Франка, 2008. 58 с. ББК 594.38 (477)].
2. European Red List of Bees Access mode: http://ec.europa.eu/environment/nature/conservation/species/redlist/downloads/European_bees.pdf.
3. Homopteran insects from the collection of E.-F. Germar in the Zoological Museum of LNU (Catalogue). Compiled by: Shydlovskyy I.V., Holovachov O.V. Lviv: Publishing Center of Ivan Franko National University of Lviv, 2005. 87 p. UDC 591.
4. *Konovalova I. B.* The bumble bees of Ukraine: species distribution and floral preferences // Psyche: Hindawi Publishing Corporation. 2010. Vol. 2010. Article ID 819740. 10 P. – doi: 10.1155/2010/819740
5. *Løken A.* Studies on Scandinavian Bumble Bees (Hymenoptera, Apidae) // Norsk Entomologisk Tidsskrift. 1973. N 20. P. 1–218.
6. *Løken A.* Scandinavian species of the genus *Psithyrus* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) // Entomologica scandinavica. 1984. Supplement № 20. P. 1–25
7. Red Data Book of Ukraine. Animals / Ed. by I. A. Akimov. Kyiv: Globalconsalting, 2009. 600 p. ISBN 978-966-97059-0-7 (In Ukrainian) // [Червона книга України. Тваринний світ / за ред. І. А. Акімова. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 600 с. ISBN 978-966-97059-0-7].
8. The IUCN Red List of Threatened Species Access mode: <http://www.iucnredlist.org/>.
9. *Williams P. H.* An annotated checklist of bumble bees with an analysis of patterns of description (Hymenoptera: Apidae, Bombini) // Bull. Nat. Hist. Mus. Lond. (Entomol.). 1998. N 67. P. 79–152.
10. *Williams P. H., Cameron S. A., Hines H. M.* et al. A simplified subgeneric classification of the bumblebees (genus *Bombus*) // Apidologie. 2008. N 39. P. 46–74.
11. *Zagorodniuk I., Shydlovskyy I.* Acronyms for zoological collections of Ukraine // Zoological Collections and Museums (Collection of scientific articles) / Ed. by I. Zagorodniuk; National Museum of Natural History, Ukr. Acad. Sci. Kyiv, 2014. P. 33–34. (In Ukrainian) // [Загороднюк І., Шидловський І. Акроніми зоологічних колекцій України // Зоологічні колекції та музеї : збірник наук. праць / за ред. І. Загороднюка; Національний науково-природничий музей НАН України. К., 2014. С. 33–34].

Стаття: надійшла до редакції 18.09.17

прийнята до друку 24.10.17

**КОЛЕКЦІЯ ДЖМЕЛІВ (HYMENOPTERA, APIDAE,
BOMBUS LATREILLE, 1802) У ФОНДАХ ЗООЛОГІЧНОГО МУЗЕЮ
ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА**

I. Тимків, I. Шидловський, К. Назарук, А. Затушевський

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: irynatymkiv93@gmail.com*

У публікації подано кількісний і якісний аналізи колекції джмелів роду *Bombus*, котрі зберігаються у фондах Зоологічного музею Львівського національного університету імені Івана Франка. Колекція налічує 719 зразків, які належать до 23 видів. Більшість видів було зібрано в основному на території Західної України (на території восьми областей), кілька зразків зібрано з Німеччини (1960) та Єгипту (2005). На жаль, є невелика частина зразків без вказаного місця збору на етикетці. Основу зборів становлять види – звичайні та поширені на цій території, невелику частку становлять рідкісні та вразливі види (*Bombus argillaceus* і *B. muscorum*). Зразки у колекції зібрані в період 1960–2017 рр, більшість зборів припадає на останні п'ять років. Аналіз цієї колекції показує нам видовий склад фауни джмелів на території Західної України та деяких інших регіонів України. Інвентаризація стане основою для каталогу.

Ключові слова: джмелі, *Bombus*, Apidae, колекції, Зоологічний музей

ГІЛЛЯСТОВУСІ (CLADOCERA) Й ВЕСЛОНОГІ (COPEPODA: CYCLOPOIDA, CALANOIDA) РАКОПОДІБНІ ВЕРХІВ'Я Р. УЖ (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ)

Т. Микітчак¹, Н. Коваль²

¹Інститут екології Карпат НАН України
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна
e-mail: tarasmukitchak@yahoo.com

²Ужанський національний природний парк
вул. Незалежності, 7, смт Великий Березний 89000, Україна
e-mail: nelya.kowal@gmail.com

У 48 лентичних водоймах верхів'я р. Уж виявлено 39 видів гіллястовусих і веслоногих (без гарпактикоїд) ракоподібних. Ще один вид циклопів наведено з літературних джерел. Фауністична новизна для цих груп в Українських Карпатах становить 5 %. Серед відзначених видів один є новим для Європи – *Sinodiaptomus sarsi* (Rylov, 1923), один для України – *Eucyclops subterraneus* (Graeter 1907), три для Українських Карпат – *Ceriodaphnia megalops* Sars, 1890, *Acanthocyclops venustus* (Norman et Scott, 1906) і *Cyclops insignis* Claus, 1857, а також дев'ять регіонально-рідкісних і маловивчених видів. Раритетність фауни планктонних Cladocera й Copepoda дослідженої території сягає 38 %. Своєрідна фауна відзначена для водойм басейнів різних приток Ужа, оскільки загальнопоширених видів на всій території досліджень немає. У бетонному басейні Новостужицького ПНДВ відзначено максимальну чисельність планктонних Cladocera й Copepoda в Українських Карпатах – 1288,5 тис.ос./м³. 3-поміж лентичних водойм верхів'я Ужа 71 % є олігосапробними. Цей відсоток найвищий з-поміж інших досліджених територій Українських Карпат, що свідчить про чистоту місцевих вод і низьку антропогенну евтрофікацію. Уперше досліджено планктофауну бобрових загат (Ужоцький перевал) на території Карпат у межах України. На сьогодні вони є важливим центром гідробіорізноманіття цього гірського регіону.

Ключові слова: Cladocera, Copepoda, зоопланктон, р. Уж, Українські Карпати

Українські Карпати належать до територій із найвищим біотичним різноманіттям в Україні. Водночас для більшості природозаповідних об'єктів Українських Карпат відомо лише незначна частина таксономічного різноманіття водних безхребетних. Даних про їхню чисельність, топічну приуроченість, сезонний розвиток практично немає. Зважаючи на фрагментарне вивчення безхребетних гідробіонтів Карпат, метою цієї роботи є дослідження різноманіття й поширення гіллястовусих і веслоногих ракоподібних лентичних водойм верхів'я ріки Уж, яке майже повністю належить до території Ужанського національного природного парку. Гіллястовусі й веслоногі ракоподібні, заселяючи всі типи прісних водойм, часто мають вирішальне значення у збереженні стабільності гідроекосистем, об'єднуючи їхні компоненти безліччю трофічних, топічних та інших функціональних зв'язків.

Матеріали та методи

Басейн р. Уж на території Українських Карпат займає її крайню південно-західну частину. Верхів'я ріки розташоване на території Ужанського національного природного парку й частково у словацькому Народовому парку Полонини. Основними витокami є Уж і Ужок (1000–1250 м н.р.м.). Загальна довжина р. Уж – 133 км, площа басейну – 2750 км²

[10]. Дві третини цієї площі розташовані у Карпатах. Найбільшою притокою Ужа у верхів'ї є Уг.

Схили гір у верхів'ї Ужа різко знижуються від 1200 до 300–500 м н.р.м. і вкриті листяними чи мішаними лісами. По долинах рік простягаються кілька сіл, околиці яких зайняті пасовищами. Поміж лісових масивів і на гребенях хребтів трапляються невеликі за площею полонини й луки. Ландшафтні особливості не сприяють утворенню на цій території природних лентичних водойм, а наявні водойми мають переважно антропогенне походження та представлені калюжами, канавами і ставами. До природних водойм варто залучити низку джерел, болітець, калюж і боброві загати.

З верхів'я Ужа було відомо лише чотири види кладоцер і копепод (*Alona quadrangularis* (O. F. Müller, 1776), *Paracyclops imminuta* Kiefer, 1929, *Paracyclops chiltoni* (Thomson G.M., 1883) і *Paracyclops fimbriatus* (Fischer 1853)), яких знайшли у джерелах і болітці басейну р. Уг та джерелах полонини Руна й с. Жорнава [5, 6, 9].

Представників Cladocera й Copepoda досліджували загальноприйнятими в гідроекології методами [1, 7]. Проби відбирали сіткою Апштейна з млинового газу № 64. Об'єм профільтрованої води з калюж і болітець сягав 5–10 л, зі ставів і канав – 20–100 л, із джерел – 50–100 л. Систематику гіллястовусих ракоподібних приймали за А. Kotov [14], циклопід – за Т. Walter, G. Voxshall [15], каланоїд – за G. Voxshall, D. Defaye [11]. Чисельність видів гіллястовусих визначали для особин усіх вікових стадій розвитку, для веслоногих – тільки для дорослих особин (чисельність наупліальних і копеподитних стадій наведена сумарно для усіх видів копепод).

У верхів'ї р. Уж досліджено 48 лентичних водойм і два створи р. Уг (див. рисунок). Відібрано й опрацьовано 86 гідроекологічних проб. У верхів'ї р. Уг (вище Новостужицького ПНДВ) досліджено: 08.08.2014 р. – 14 калюж, чотири джерела, два болітця і створ р. Уг; 16.08.2016 – джерело, болітце і дві калюжі. На території Новостужицького ПНДВ: 08.08.2014 р. – чотири стави (з них два – бетонні басейни) і створ р. Уг; 18.04.2016 – три стави та каналу; 16.08.2016 – три стави. У с. Стужиця та його околицях: 08.08.2014 р. – ставок і калюжу в західній частині села та болітце в урочищі Чорні Млаки (метеоритний кратер); 18.04.2016 – став у східній частині, 16.08.2016 – став у східній частині, три калюжі біля впадіння Уга в Уж, болітце і дві калюжі в долині потоку Солосвинський. У с. Жорнава 16.08.2016 – три стави і калюжу. Біля дороги між селами Ставне й Луг 18.04.2016 – одну калюжу. В урочищі Водівкани (між селами Сухий і Тихий) 16.08.2016 досліджено два джерела й одну заболочену калюжу. На Ужоцькому перевалі 18.04.2016 і 16.08.2016 проби відбирали із двох бобрових загат і канами, що впадає у верхню з них.

Результати і їхнє обговорення

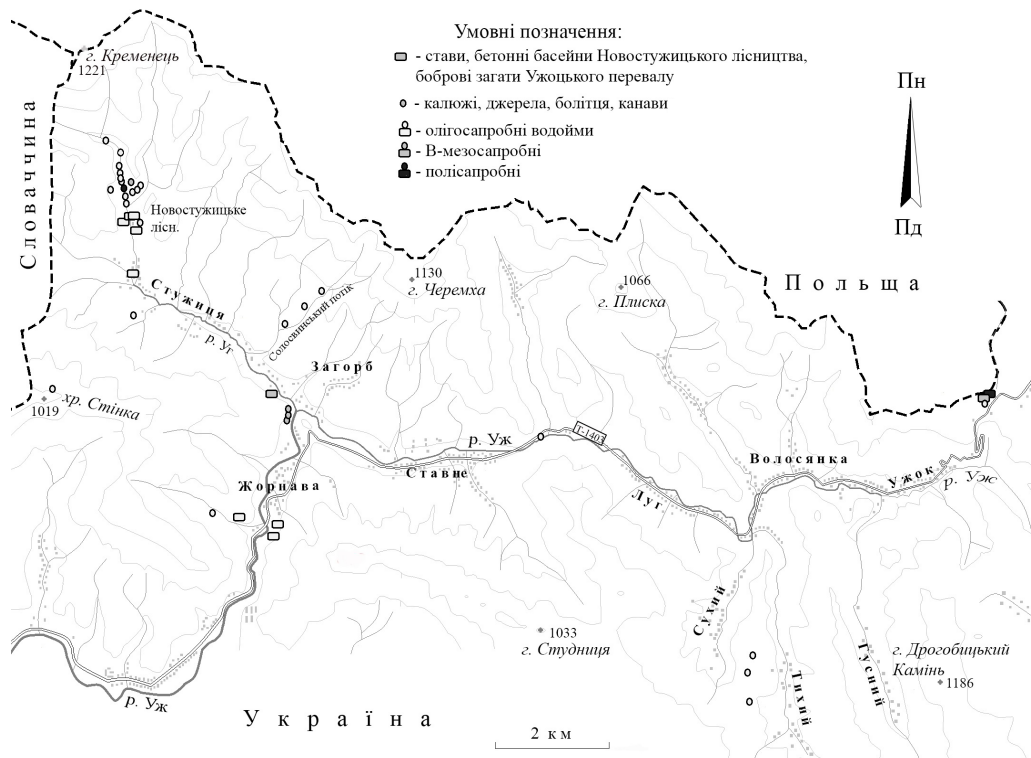
У досліджених водоймах виявлено 16 видів гіллястовусих ракоподібних, 22 види циклопод і один вид діатомід (див. таблицю). Найбільш різноманітними з гіллястовусих є родини Daphniidae і Chydoridae – по шість видів. Із дафніїд найбільш поширеним видом (частота трапляння у водоймах 25 %) є *Daphnia obtusa* Kurz, 1874 (калюжі, канами, болітця, стави). Інші види траплялися спорадично: *D. longispina* (O. F. Müller, 1776) – стави, *Simocephalus vetulus* (O. F. Müller, 1776) – стави і боброві загати, *Ceriodaphnia reticulata* (Jurine, 1820) – канами, калюжі, боброві загати, *C. megalops* Sars, 1890 – стави, *Scapholeberis mucronata* (O. F. Müller, 1776) – стави.

Із родини Moinidae відзначено два види: *Moina brachiata* (Jurine, 1820) – стави, *M. macroscopa* (Straus, 1820) – калюжі й болітця. З родини Macrothricidae зареєстровано лише поодинокі особини *Macrothrix hirsuticornis* Norman & Brady, 1867 в одному зі ставів.

Із родини Chydoridae найбільш поширеними видами у верхів'ї р. Уж є *Chydorus sphaericus* (O. F. Müller, 1776) – частота траплення у водоймах 11 % і *Peracantha truncata* (O. F. Müller, 1785) – 10 %. Особин *C. sphaericus* відзначено у калюжах, болітцях, ставах і бобрових загатах. Інший вид, *C. latus* Sars, 1862, – у калюжах, канавах, бобрових загатах. *P. truncata* заселяє калюжі, стави й боброві загати. Спорадично з Chydoridae траплялися *Alona quadrangularis* (O. F. Müller, 1776), *Disparalona rostrata* (Koch, 1841) і *Pleuroxus laevis* (Sars, 1862) – стави. З родини Bosminidae виявлено лише *Bosmina longirostris* (O. F. Müller, 1776) – калюжі й стави.

Найчастіше у водоймах верхів'я р. Уж із циклопід трапляється *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851) – частота траплення 25 %. Вид відзначено у калюжах, ставах, бобрових загатах і річці Уг. Лише у джерелі-криничці верхів'я р. Уг відзначено одну особину *E. subterraneus* (Graeter 1907).

Із роду *Diacyclops* для водойм верхів'я Ужа відомо чотири види. Частота траплення у досліджених водоймах *D. bicuspidatus* (Claus, 1857) сягає 23 % (калюжі, болітця, стави, канали). *D. bisetosus* (Rehberg, 1880) відзначено в калюжах, ставах, бобрових загатах.



Картосхема досліджених лентичних водойм верхів'я р. Уж

Особин *D. languidoides* (Lilljeborg 1901) знайдено в одній із калюж верхів'я р. Уг, *D. clandestinus* (Yetman, 1964) – в одному зі ставів с. Жорнава.

Звичайними у досліджених водоймах верхів'я р. Уж є представники *Macrocyclus*. Частота траплення *M. albidus* (Jurine, 1820) сягає 10 %, *M. fuscus* (Jurine, 1820) – 15 %, *M. distinctus* (Richard, 1887) – 8 %. Усі три види трапляються у калюжах, болітцях, ставах (крім *M. distinctus*), бобрових загатах.

Максимальна чисельність (тис.ос./м³) гіллястовусих (Cladocera)
і веслоногих (Copepoda: Cyclopoidea, Calanoida) ракоподібних у водоймах верхів'я р. Уж

№	Таксони	Досліджені місцевості					
		Верх. р. Уг	Ново- стужицьке ПНДВ	Стужиця	Жорнава	Водів- каня	Ужок
1	<i>Alona quadrangularis</i>	–	0,1	–	0,1	–	–
2	<i>Bosmina longirostris</i>	36,9	1281,8	–	–	–	–
3	<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	1,0	0,2	–	–	–	3,3
4	<i>C. megalops</i>	–	265,3	–	–	–	–
5	<i>Chydorus latus</i>	0,5	9,0	–	–	–	0,1
6	<i>C. sphaericus</i>	0,2	–	0,1	0,5	–	1,6
7	<i>Daphnia longispina</i>	–	0,4	–	–	–	–
8	<i>D. obtusa</i>	23,0	2,2	2,2	75,9	–	–
9	<i>Disparalona rostrata</i>	–	–	–	0,3	–	–
10	<i>Macrothrix hirsuticornis</i>	–	0,1	–	–	–	–
11	<i>Moina brachiata</i>	–	0,1	–	–	–	–
12	<i>M. macrocopa</i>	2,9	–	–	–	–	–
13	<i>Peracantha truncata</i>	13,2	0,8	–	0,3	–	11,4
14	<i>Pleuroxus laevis</i>	–	–	–	0,3	–	–
15	<i>Simocephalus vetulus</i>	–	–	–	4,6	–	1,5
16	<i>Scapholeberis mucronata</i>	–	–	–	0,1	–	–
	Кількість видів Cladocera	7	10	2	8	0	5
17	<i>Acanthocyclops americanus</i>	–	–	–	0,3	–	–
18	<i>A. venustus</i>	–	–	–	–	0,2	7,0
19	<i>A. vernalis</i>	–	2,5	23,6	0,4	0,8	–
20	<i>Cyclops insignis</i>	–	–	–	–	–	0,2
21	<i>C. strenuus</i>	0,2	0,5	5,1	–	–	10,4
22	<i>C. vicinus</i>	–	–	–	–	–	0,2
23	<i>Diacyclops bicuspidatus</i>	2,3	0,6	1,3	–	–	0,1
24	<i>D. bisetosus</i>	2,4	–	0,1	–	–	0,3
25	<i>D. clandestinus</i>	–	–	–	0,1	–	–
26	<i>D. languidoides</i>	0,4	–	–	–	–	–
27	<i>Ectocyclops phaleratus</i>	–	0,1	–	–	–	–
28	<i>Eucyclops serrulatus</i>	0,8	0,3	–	0,2	–	2,1
29	<i>E. subterraneus</i>	>0,1	–	–	–	–	–
30	<i>Macrocyclops albidus</i>	0,6	0,5	–	1,3	–	1,8
31	<i>M. distinctus</i>	1,7	–	–	–	–	0,1
32	<i>M. fuscus</i>	2,2	2,4	–	–	–	0,8
33	<i>Megacyclops viridis</i>	0,2	4,1	–	–	–	2,5
34	<i>M. oligotrochus</i>	–	–	–	–	–	0,6
35	<i>Mesocyclops leuckarti</i>	0,3	2,2	0,1	–	–	–
36	<i>Microcyclops varicans</i>	2,0	–	–	–	–	–
37	<i>Paracyclops chiltoni</i>	>0,1	–	–	–	0,1	–
38	<i>P. fimbriatus</i>	0,8	1,1	–	0,5	–	–
39	<i>P. imminuta</i>	–	–	–	*	–	–
40	<i>Sinodiaptomus sarsi</i>	0,1	0,4	–	–	–	–
	Кількість видів Copepoda:	15	11	5	7	3	12
	Кількість видів загалом:	22	21	7	15	3	17

Примітка: * – вид виявлено у джерелі с. Жорнава А. Ковальчуком, Н. Ковальчук та співавторами [5]

Paracyclops fimbriatus (Fischer, 1853) трапляється у 17 % лентичних водойм (калюжі й болітця, стави) й у р. Уг. Вид *P. chiltoni* (Thomson, 1882) знайдено лише в джерелах урочища Водівканя й басейну р. Уг, а вид *P. imminuta* виявлено в джерелі Жорнави [5].

Рід *Cyclops* представлений трьома видами, із яких лише *Cyclops strenuus* Fischer, 1851 трапляється в кількох місцевостях (калюжі, стави, боброві загати). Поодинокі особини *C. vicinus* Ulyanin, 1875 і *C. insignis* Claus, 1857 знайдено лише у загатах Ужка.

З роду *Acanthocyclops* найбільш поширеним на дослідженій території є *A. vernalis* (Fischer, 1853) – частота трапляння у водоймах 8 % (стави, калюжі, джерела). Особин

A. americanus (Marsh, 1893) зареєстровано лише в одному зі ставів Жорнави. *A. venustus* (Norman et Scott, 1906) відзначено у джерелах Водівкані та каналі Ужоцького перевалу.

Доволі поширеним у верхів'ї р. Уж є *Megacyclops viridis* (Jurine, 1820) – частота трапляння у водоймах – 13 % (калюжі, канали, загати). Поодинокі особини *M. oligotrohus* Monchenko, 1979 знайдено лише в Ужоцьких загатах.

У басейні р. Уг звичайним видом циклопод є *Mesocyclops leuckarti* (Claus, 1857) – частота трапляння 15 % (калюжі та стави). Одну особину *Ectocyclops phaleratus* (Koch, 1838) відзначено у каналі Новостужицького ПНДВ, *Microcyclops varicans varicans* (G.O. Sars, 1863) – в одній із калюж верхів'я Уга.

Деякі особини *Sinodiaptomus sarsi* (Rylov, 1923) виявлено в калюжі на закинутих форельних ставах у верхів'ї р. Уг, бетонному басейні та ставі Новостужицького ПНДВ.

Наупліальні й копеодитні стадії веслоногих відзначено у пробах майже зі всіх водойм. Науплії найбільшої чисельності досягали у бетонному ставі Новостужицького ПНДВ у квітні 2016 р. – 42,4 тис.ос./м³, копеодити – 94,6 тис.ос./м³ у верхній бобровій загаті Ужоцького перевалу (квітень 2016 р.). Копеодити діапомід відзначено лише у трьох водоймах р. Уг (тих, що й для адультих особин) із чисельністю 0,1–0,6 тис.ос./м³.

У різних типах лентичних водойм верхів'я Ужа найрізноманітніша фауна Cladocera і Соперода (без Harpacticoida) властива ставам (22 види) і калюжам (18). Висока різноманітність притаманна також двом бобровим загатам Ужка (14 видів). У болітцях і джерелах відзначено по сім видів, у канавах – шість.

Максимальну чисельність планктонних ракоподібних відзначено в одному з бетонних басейнів Новостужицького ПНДВ – 1288,5 тис.ос./м³ (09.08.2014). Цей показник є максимальним з-поміж усіх водойм, досліджених нами в Українських Карпатах. Єдиним еудомінантом угруповання у цей період була *B. longirostris* (99,5 % від загальної чисельності). Високу чисельність планктонних ракоподібних зареєстровано також 16.08.2016 у великому ставі цього ПНДВ – 267,1 тис.ос./м³ (еудомінант *C. megalops* – 99,3 %). У інших ставах загальна чисельність угруповань сягала 0,5–85,9 тис.ос./м³ у різні періоди. Окремим типом досліджених водойм є боброві загати. Найбільша сумарна чисельність планктонних ракоподібних тут відзначена 18.04.2016 – 113,2 тис.ос./м³ (копеодитні стадії – 83,6 %). В інших пробах із цих водойм чисельність коливалась у межах 0,5–85,9 тис.ос./м³. У калюжах максимальна чисельність відзначена 16.08.2016 у с. Жорнава – 77,5 тис.ос./м³ (*D. obtusa* – 97,9 %), у інших калюжах – 0,1–55,2 тис.ос./м³. У болітцях чисельність перебувала в межах 0,1–1,3 тис.ос./м³, максимум – 09.08.2014 у болітці верхів'я р. Уг (*M. macrocopa* – 30,8 %). Високої чисельності гіллястовусі та планктонні веслоногі ракоподібні досягають у меліоративних канавах: 18.04.2016 у каналі Новостужицького ПНДВ – 37,8 тис.ос./м³ (копеодитні стадії – 83,6 %), 16.08.2016 у каналі Ужоцького перевалу – 31,1 тис.ос./м³ (копеодити – 56,0 % і *A. venustus* – 22,5 %). У джерелах і в р. Уг траплялися тільки представники циклопід – до 0,1 тис.ос./м³.

Співвідношення кладоцер і копеод (% від загальної чисельності) у ставах верхів'я р. Уж у середньому сягає 55:45, у бобрових загатах – 18:82, у калюжах – 38:62, у болітцях – 26:74, у канавах – 16:74, у джерелах і річці Уг – 0:100. Навесні кількісно переважають циклопиди, особливо представники роду *Cyclops*. Більшість досліджених водойм живляться водами джерел, струмків, потоків і рік та формують переважно копеодопланктоценози.

Найбільша кількість видів відзначена у великому ставі Жорнави та верхній бобровій загаті Ужка (по 11). Серед досліджених місцевостей найбільше різноманіття планктонних ракоподібних виявили у верхів'ї р. Уг (22 види) і на території Новостужицького ПНДВ

(21 вид). З одного боку, це пояснюється триразовими відборами проб у досліджуваних водоймах (серпень 2014, квітень і серпень 2016 р.), з іншого – великою кількістю антропогенних водойм (переважно калюжі лісових доріг і стави) й особливістю фізико-географічних умов долини р. Уг (широка та замкнута гірськими схилами долина, якій властивий особливий мікроклімат). Ще одним центром різноманіття цієї території є боброві загати Ужоцького перевалу (17 видів) і водойми с. Жорнава та його околиць (15 видів).

На відміну від інших басейнів рік Українських Карпат, у водоймах верхів'я Ужа немає загальнопоширених видів, що свідчить про специфічну й унікальну фауну ракоподібних у басейнах різних приток Ужа.

Подібність фаун водойм місцевостей верхів'я Ужа за показниками індексу Серенсе-на-Чекановського сягає 0,22–0,39. Такі показники подібності на території одного річкового басейну для Карпат є вкрай низькими, оскільки навіть для сусідніх гірських масивів вони переважно є вищими: наприклад, для Чорногори і Свидівця – 0,58, Чивчин і Гриняв – 0,70, Чивчин і Чорногори – 0,35 (дані автора). У різні періоди склад угруповань ракоподібних однієї водойми має істотні відмінності: наприклад, у ставах Новостужицького ПНДВ подібність між угрупованнями за серпень 2014 р., квітень і серпень 2016 р. становить всього 0,22–0,26, тобто лише 19 % видів траплялися тут постійно під час трьох періодів відбору проб.

На дослідженій території олігосапробні лентичні водойми становлять 71 % (див. рисунок), що свідчить про чистоту води місцевих лентичних водойм навіть порівняно з більш високогірними районами Українських Карпат (Чорногора – 27 %, Свидівець – 57 %, Чивчини – 27 %, Гриняви – 29 %). β-Мезосапробними є верхня боброва загата Ужка, болітце у верхів'ї Уг, став і калюжі у східній частині с. Стужиця, полісапробними – нижня боброва загата і калюжа верхів'я р. Уг у закинутому форельному ставі.

Особливо важливою із зоогеографічної точки зору є знахідка *S. sarsi* (Rylov, 1923) у трьох водоймах басейну р. Уг (серпень 2014 р.). Природний ареал виду покриває центрально-східну Азію [2]. Єдина попередня знахідка роду в Європі зроблена кілька десятиліть тому у водоймі ботанічного саду Софії в Болгарії [13], проте зі зникненням цієї водойми рід для Європи більше не наводили. Найближча сучасна знахідка *S. sarsi* зроблена в Туреччині [12]. Вид у світі вважається інвазійним, оскільки його також знайдено у водоймах Ірану, Нової Зеландії та Каліфорнії. Є ймовірність антропогенного занесення виду у водойми Ужа з кормами чи молодняком лососевих риб (інтродукція яких має місце у водотоках Ужанського НПП), проте не варто відкидати і ймовірність нативності виду в Карпатському регіоні.

У районі досліджень відзначено декілька оселищ *A. venustus*, єдиних в Українських Карпатах. Досі достовірні знахідки виду в Україні наведено лише для Криму [8]. Визначення виду для Шацького поозер'я [3] і для рівнинних водойм басейну р. Стрий [4], на думку авторів, є помилковими. Таким чином, сусідні верхів'я двох карпатських річок, Уж і Жденієвка (притока р. Латориці), є ареалом виду в Західній Україні.

Своєрідність місцевої фауни планктонних ракоподібних підкреслюють знахідки гіпогейного виду *E. subterraneus* (третя знахідка в Україні), аркто-альпійського виду *D. obtusa* (у межах України відомий тільки з Українських Карпат), уперше наведених для Українських Карпат *C. megalops*, *C. insignis*, *A. venustus* та регіонально-рідкісних чи маловивчених видів *C. latus*, *P. laevis*, *D. rostrata*, *M. macropora*, *D. cladesinus*, *D. languidoides*, *E. phaleratus*, *M. distinctus*, *M. oligotrochus*, *P. chiltoni*.

У лентичних водоймах верхів'я р. Уж відзначено 40 видів кладоцер, циклопід (один вид наведено з літературних джерел) і каланоїд, що становить 38 % загального різноманіття цих груп в Українських Карпатах. Серед них новий вид для Європи (*Sinodiaptomus sarsi*),

один для України (*Eucyclops subterraneus*) і три для Українських Карпат (*Ceriodaphnia megalops*, *Cyclops insignis*, *Acanthocyclops venustus*). Новизна фауністичних досліджень для Українських Карпат становить 5 %. Це перший видовий список планктонних гіллястовусих і веслоногих ракоподібних для території Ужанського національного природного парку й один із найбільш повних списків цих груп трилатерального міжнародного парку (Ужанський, Полонини й Бещадський). За умови проведення більш детальних географічних і сезонних досліджень, припускаємо, що видове різноманіття планктонних ракоподібних цієї території виявиться більшим щонайменше удвічі. У верхів'ї Ужа відзначено найвищу чисельність планктонних гіллястовусих і веслоногих ракоподібних в Українських Карпатах – 1288,5 тис.ос./м³. Водоймам окремих урочищ, долин рік і потоків цієї території притаманна відмінна та специфічна фауна гідробіонтів. За рахунок різких перепадів висот і замкненості річкових долин, незважаючи на відсутність природних озер і боліт, водойми верхів'я р. Уж є одним із основних центрів гідробіорізноманіття Українських Карпат.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Арсан О. М., Давидов О. А., Дьяченко Т. М. та ін. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод. К.: ЛОГОС, 2006. 408 с.
2. Боруцкий Е. В., Степанова Л. А., Кос М. С. Определитель Calanoida пресных вод СССР. Л.: Наука, 1991. 504 с.
3. Думич О. Я., Савицька О. М. Зоопланктон озер Шацького національного природного парку // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону: міжвід. зб. наук. праць. Донецьк: Вид-во ДонНУ, 2006. Вип. 6. С. 106–112.
4. Іванець О. Р., Леснік В. В., Микитчак Т. І. Гідробіологічна характеристика штучних водойм басейну р. Стрий // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. Львів, 2001. Вип. 3. С. 92–97.
5. Ковальчук А. А., Ковальчук Н. Є., Пляшечник В. І., Стегун В. І. Деякі дані по фауні найпростіших та мікробезхребетних водойм Ужанського НПП (Закарпаття) // Матеріали конф., присв. 10-річчю створення НПП “Подільські Товтри”. Кам’янець-Подільський: Аксіома, 2006. С. 150–155.
6. Ковальчук Н. Є. Нижчі ракоподібні (Entomostraca) Українських Карпат // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2006. Вип. 19. С. 171–178.
7. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зоопланктон и его продукция. Л.: ГосНИОРХ, ЗИН АН СССР, 1984. 33 с.
8. Монченко В. И. Свободноживущие циклопообразные копеподы Понто-Каспийского бассейна. К.: Наук. думка, 2003. 350 с.
9. Пляшечник В. І., Ковальчук Н. Є., Ковальчук А. А. Попередні дані по видовому складу бентосу джерел поблизу полонини Рівної (басейн річки Уж) // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2006. Вип. 19. С. 199–201.
10. Природа Закарпатської області. Львів: Вища школа. 1981. 156 с.
11. Boxshall G., Defaye D. Calanoida / World checklist of freshwater Copepoda species. 2009. Access mode: <http://fada.biodiversity.be/group/show/19>
12. Gündüz E. *Sinodiaptomus sarsi* (Rylov 1923) (Copepoda Calanoida) in Turkey // Hydrobiologia. 1998. Vol. 380. P. 9–13.
13. Kiefer F. Eine neue Diaptomidenform (Crustacea, Copepoda) aus Bulgarien. Zoologischer Anzeiger. 1938. Vol. 123. P. 265–270.

14. Kotov A. Cladocera / World checklist of freshwater Cladocera species. 2014. Access mode: <http://fada.biodiversity.be/group/show/17>.
15. Walter T., Boxshall G. Cyclopidae Rafinesque, 1815 / World of Copepods database. 2014. Access mode: <http://www.marinespecies.org/aphia>.

Стаття: надійшла до редакції 20.06.17

доопрацьована 17.10.17

прийнята до друку 06.12.17

CLADOCERA AND COPEPODA CRUSTACEANS OF THE UPPER UZH RIVER (UKRAINIAN CARPATHIANS)

T. Mykitchak¹, N. Koval²

¹*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine
e-mail: tarasmykitchak@yahoo.com*

²*Uzh National Park
7, Nezalezhnosti St., Velykyi Bereznyi 89000, Ukraine
e-mail: nelya.koval@gmail.com*

There are noted 39 species of plankton crustaceans (16 – Cladocera and 23 – Copepoda (Calanoida and Cyclopoida)) from 48 lentic water bodies of the upper Uzh river. One more species of Cyclopoida is given from the publications of other authors. Faunistic novelty of these groups is 5 % for the Ukrainian Carpathians. One new species for Europe – *Sinodiaptomus sarsi* (Rylov, 1923), one more for Ukraine – *Eucyclops subterraneus* (Graeter 1907), three ones for the Ukrainian Carpathians – *Ceriodaphnia megalops* Sars, 1890, *Cyclops insignis* Claus, 1857 and *Acanthocyclops venustus* (Norman et Scott, 1906), and nine regionally rare or insufficiently known species were found during the investigations. The rarity of plankton Cladocera and Copepoda fauna is 38 % on the investigated area. Specific fauna is inherent for all the basins of the tributaries of the upper Uzh as common species are absent there. Maximal density (1288.5 thous. exampl./m³) of the plankton's Cladocera and Copepoda communities in the Ukrainian Carpathians is noted for concrete pond of the Novostuzhytske forestry. 71 % of lentic water bodies of the area of the upper Uzh have oligosaprobic status. This is the highest rate in the Ukrainian Carpathians. The fact points out the local water purity and minimal anthropogenic eutrophication. The investigations of planktonfauna of the beaver ponds (Uzhok pass) in Carpathians was conducted for the first time in Ukraine. The ponds are important centre of the hydrobiodiversity at present time.

Keywords: Cladocera, Copepoda, zooplankton, Uzh river, Ukrainian Carpathians

ЖУКИ-ПЛІСНЯВИКИ РОДУ *CRYPTOPHAGUS* (COLEOPTERA, CUCUJOIDEA, CRYPTOPHAGIDAE) ГІРСЬКОГО МАСИВУ ПОЛОНИНА БОРЖАВА

К. Ляшина

*Інститут зоології імені І.І. Шмальгаузена НАН України
вул. Б. Хмельницького, 15, Київ 01601, Україна
e-mail: kateryna_ocheretna@ukr.net*

Дослідження присвячене вивченню жуків-пліснявиків роду *Cryptophagus* фауни Українських Карпат у межах гірського масиву Полонина Боржава на території Воловецького району Закарпатської області. Досліджувана група на 90 % складається з облигатних мікофагів, зокрема, і еудомінанти обраної території дослідження – *Cryptophagus lapponicus*, *C. montanus*, *C. scanicus* (< 40 % усіх зібраних особин). В обраному районі протягом 2015–2017 рр. проведено фауністичні дослідження, які доповнюють наявні відомості. Матеріал було зібрано за допомогою ґрунтових пасток Барбера-Гейлера з використанням однотипного фіксатора. Зібрано й ідентифіковано 419 особин, що належать до 22 видів твердокрилих із роду *Cryptophagus*. Визначено представників пліснявиків із родів *Atomaria*, *Antherophagus*, *Caenoscelis*, *Telmatophilus* родини *Strophagidae*. Відзначено представників, що належать до екологічних груп міцетофагів і сапрофагів, які становлять переважну більшість серед представників родини, рідше – копрофагів і фітофагів.

Ключові слова: твердокрилі, пліснявики, *Cryptophagus*, Карпати, Україна

Родина *Cryptophagidae* – жуки-пліснявики (Coleoptera) – невелика родина твердокрилих, що включає в себе близько 700 описаних на даний момент видів, які належать до 54 родів, поширених у більшості зоогеографічних регіонів [1].

Літературних відомостей про точний видовий склад родини жуків-пліснявиків, зокрема, з роду *Cryptophagus*, на території Українських Карпат небагато [3, 11–13], тому важливим є проведення низки тривалих фауністичних досліджень, які могли би доповнити вже наявні відомості.

Найбільш численними компонентами лісових екосистем у трофічному плані є хижакі-зоофаги і сапрофаги: саме останні здійснюють деструкцію органічних решток, повернення неорганічних речовин у ґрунт і підтримання нормального функціонального стану угруповань [4, 5]. Більшість видів родини *Cryptophagidae* є міцетофагами – деструкторами плодових тіл і міцелію грибів.

Твердокрилих із різних систематичних груп, які живуть у лісовій підстилці, досліджували чимало вчених. Зокрема, багато відомостей про фауну й екологічні особливості та преференції досліджуваної групи твердокрилих Закарпатської обл. містить каталог Я. Роубала [11–13], виданий протягом 1930-х рр., втім, сучасні тривалі комплексні моніторингові дослідження твердокрилих родини *Cryptophagidae* і, зокрема, роду *Cryptophagus* даного регіону наразі не проводились.

Матеріали та методика

Роботу виконано на основі матеріалів, зібраних з 26 вересня 2015 по 26 червня 2017 року (включно з зимовим періодом, однак видів роду з грудня по лютий включно зафіксовано не було) у трьох біотопах гірського масиву Полонина Боржава: А – гірські

прирічкові луки; В – мішані гірські ліси: бук лісовий (*Fagus sylvatica*) і формація ялиці білої (*Abies alba*) та ялини європейської (*Picea abies*) з переважанням останньої; С – субальпійські луки. Для аналізу біотопічного розподілу було обрано стації, розміщені в околицях г. Темнатик.

1) Гірські прирічкові луки досліджено в долині р. Вича на висоті 510 м н.р.м.

2) Ялиново-буковий ліс досліджували в стації на схилі г. Темнатик на висоті 1050 м н.р.м. Збір комах у цій стації проводили у переважно буковому, зі значними домішками ялини та ялиці, лісі (вік дерев 60–120 років, діаметр стовбура 25–55 см).

3) На вторинних субальпійських луках збір проводили на висоті 1250 м н.р.м. на траві косинням на ділянці схилів г. Темнатик.

Щоб дати характеристику структури домінування окремих видів жуків-пліснявиків роду *Cryptophagus*, для даного угруповання визначали частку виду у складі фауни як відношення (%) кількості особин окремого виду до загальної кількості зібраних особин представників роду [5].

Вивчення фауни жуків-пліснявиків роду *Cryptophagus* проводили за використання методу ґрунтових пасток Барбера-Гейлера – модифікації ловчих ям, які слугують для відловлювання комах-епігеобіонтів, що живуть на поверхні ґрунту. Для цього скляну банку об'ємом 500 мілілітрів вкопували у землю так, щоб її вхідний отвір перебував на рівні поверхні ґрунту, але перехід між отвором і власне поверхнею ґрунту був згладжений [3].

Усередину посудини наливали фіксатор – 6–9 % розчин оцтової кислоти. Зверху склянку закривали шматком фанери чи жерсті, щоб запобігти потраплянню в ємність дощової води, залишаючи проміжок між кришкою та краєм посудини. Пастки розташовували, максимально охоплюючи досліджувану ділянку: п'ять пасток (одна по центру, а інші чотири – у кутах квадрата). Площа ділянки становила 4 м². Закладено було дві пробні ділянки на кожен із біотопів. У 2014 р. пастки перебували у ґрунті від початку вересня до кінця листопада, у 2015 р. – з кінця лютого до кінця липня. Оглядали та відбирали матеріал із пасток один раз на тиждень.

Визначення видів проводили за стандартною методикою. Визначення матеріалу жуків-пліснявиків для території дослідження проведено за ключами Е. Райтера [10], з уточненням номенклатури та класифікації – за каталогом жуків І. Льюбля та А. Сметани [8] і працями К. Отеро, Г. Любарського, Р. Лешена та Г. Фройде [1, 6, 7, 9].

Результати і їхнє обговорення

Загалом було зібрано 419 особин жуків роду *Cryptophagus* з родини Cryptophagidae, що належать до 22 видів, із яких 210 за 2015, 175 за 2016 та 82 особини за 2017 рік.

Аналіз структури домінування (див. таблицю) показав наявність у складі фауни 22 види роду, в тому числі еудомінантів (ED), частка яких від загальної кількості зібраних особин роду перевищувала 10 %, домінантів (D) – 5,1–10,0 %, субдомінантів (SD) – 1,1–5,0 %, рецентів (R) – 0,51–1,00 % і субрецентів (SR) – менше 0,5 %.

У роді *Cryptophagus* значно переважають за уловистістю *Cryptophagus lapponicus*, *C. montanus*, *C. scanicus*, вони є еудомінантами на обраній досліджуваній території.

Нижче на графіках (рис. 1–3) наведено динаміку чисельності домінантів на обраних ділянках лісу, де зазначено кількість зібраних особин виду на кожен місяць збору.

Переважає більшість видів має два піки уловистості, що припадають відповідно на весняний і осінній період, здебільшого це квітень-травень і вересень-жовтень: у виду *Cryptophagus lapponicus* (один восени – середина жовтня у 2015 та кінець жовтня у 2016 р., другий навесні – початок квітня у 2016, середина квітня у 2017 р.), а у деяких видів

спостерігаються різкі перепади уловистості в осінній період із піком у жовтні, зокрема, у *Cryptophagus montanus* і *C. lapponicus*, а в інших, зокрема, виду *Cryptophagus scanicus* маємо відносно плавне зменшення уловистості з вересня по листопад у 2016 р. Це відрізняє дане угруповання від території передгірних широколистяних лісів [2], де більшість видів роду, за винятком *Cryptophagus quercinus*, має один пік уловистості, який, залежно від виду, припадає на весняний або осінній період. Причини цих відмінностей полягають у різниці температурних режимів, атмосферних тисків, рівні опадів, що впливають на інтенсивність розвитку плодових тіл аско- та базидіомікотових грибів, які є основним субстратом і джерелом поживних речовин для даної групи твердокрилих.

Структура домінування видів роду *Cryptophagus* за період з 2015 по 2017 рр.

№	Вид	Рік збору			Домінування	
		2015	2016	2017	%	Позначення*
1.	<i>C. acutangulus</i> Gyllenhal, 1827	9	11	2	5,25	SD
2.	<i>C. axillaris</i> Reitter	1	1	0	0,48	SR
3.	<i>C. dentatus</i> (Herbst, 1793)	12	7	2	5,01	SD
4.	<i>C. dilutus</i> Reitter, 1874	2	1	0	0,72	R
5.	<i>C. distinguendus</i> Sturm, 1845	3	4	2	2,15	SD
6.	<i>C. fuscicornis</i> Sturm, 1845	12	11	6	6,92	D
7.	<i>C. lapponicus</i> Gyllenhal, 1827	12	27	17	13,37	ED
8.	<i>C. laticollis</i> Lucas, 1846	5	5	1	2,63	SD
9.	<i>C. lycoperdi</i> (Scopoli, 1763)	3	4	0	1,67	SD
10.	<i>C. micaceus</i> Rey, 1889	3	1	0	0,95	R
11.	<i>C. montanus</i> C. Brisout de Barneville, 1863	15	33	12	14,32	ED
12.	<i>C. nitidulus</i> Miller, 1858	4	3	2	2,15	SD
13.	<i>C. pallidus</i> Sturm, 1845	12	7	0	4,53	SD
14.	<i>C. punctipennis</i> Brisout, 1863	9	10	4	5,49	D
15.	<i>C. quercinus</i> Kraatz, 1852	1	0	1	0,48	SR
16.	<i>C. reflexicollis</i> Reitter, 1876	1	1	1	0,72	R
17.	<i>C. reflexus</i> Rey, 1889	11	7	6	5,73	D
18.	<i>C. scanicus</i> Linnaeus, 1758	17	32	19	16,23	ED
19.	<i>C. scutellatus</i> Newman, 1834	18	9	2	6,92	D
20.	<i>C. subdepressus</i> Gyllenhal, 1827	2	0	1	0,72	R
21.	<i>C. subfumatus</i> Kraatz, 1856	1	4	1	1,43	SD
22.	<i>C. uncinatus</i> Stephens, 1830	1	5	3	2,15	SD

Примітка: * – стандартне буквене позначення, що вказує на групу домінування, зокрема, ED – судомініантний вид (розшифрування подано вище)

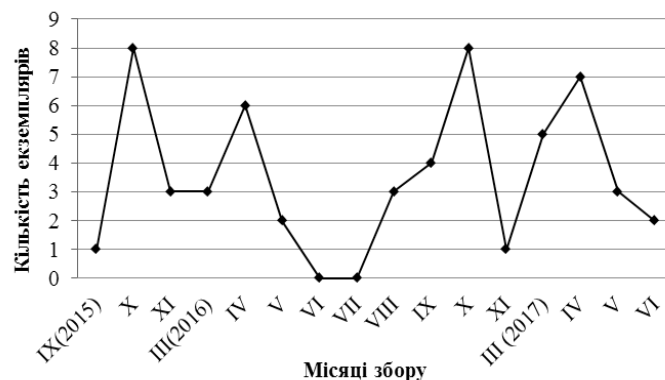
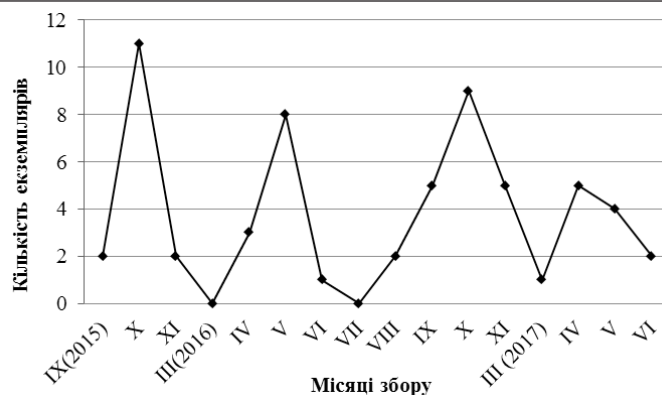
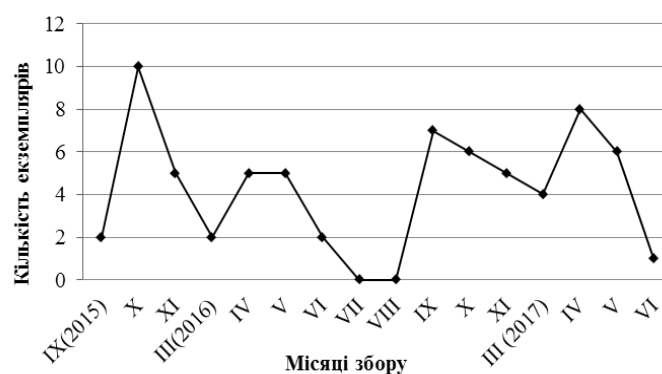


Рис. 1. Сезонна динаміка уловистості *C. lapponicus*

Рис. 2. Сезонна динаміка уловистості *C. montanus*Рис. 3. Сезонна динаміка уловистості *C. scanicus*

Висновки:

1. Рід *Cryptophagus* представлений 22 видами родини Cryptophagidae на території досліджуваних біотопів гірського масиву Полонина Боржава, зокрема, ялиново-букових лісів із переважанням бука лісового (*Fagus sylvatica*), субальпійських і гірських прирічкових лук.

2. Під час аналізу структури домінування було визначено, що 7 видів роду *Cryptophagus* досліджуваної території належать до групи домінантів (більше 5,0 % від загальної кількості особин).

3. Піки уловистості еудомінантів *Cryptophagus lapponicus*, *C. montanus*, *C. scanicus* припадають на весняний і осінній періоди: максимуми у квітні та жовтні відповідно.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Любарский Г. Ю. Филогенетика жуков семейства Cryptophagidae (Coleoptera): градиентический анализ // Зоологические исследования. М., 1998. № 1. 92 с.
2. Ляшина К. В. Поширеність та сезонна динаміка чисельності видів родини Cryptophagidae (Cucujidae, Coleoptera) широколистяних лісів передгір'їв Українських Карпат // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2016. Вип. 72. С. 161–167.
3. Мателешко О. Ю., Фаринець С. І. Наземні безхребетні дубових лісів в умовах південно-західних передгір'їв Українських Карпат // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 23. С. 237–242.
4. Стриганова Б. Р. Питание почвенных сапрофагов. М.: Наука, 1980. 244 с.

5. *Hättenschwiler S., Tunov A. V., Scheu S.* Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems // *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2005. Vol. 36. P. 191–218.
6. *Leschen R. A.* Phylogeny and revision of the genera of Cryptophagidae (Coleoptera: Cucujoidea) // *The University of Kansas Science Bulletin.* 1996. Vol. 55. N 15. P. 549–634.
7. *Freude H., Harde K. W., Lohse G. A.* Die Käfer Mitteleuropas. Familie: Cryptophagidae // *Goecke & Evers.* – Krefeld.: 1967. Band 7. 55. P. 110–158.
8. *Löbll, Smetana A.* Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 4. Elateroidea – Derodontoidea – Lymexyloidea – Cleroidea – Cucujoidea. Apollo Books, Stenstrup. 2007. 935 p.
9. *Otero J. C.* Cryptophaginae (Coleoptera) de la región Paleártica Occidental // *Asociación europea de coleopterología. Coleopterological monographs.* Barcelona: 2013. Vol. 4. 299 p.
10. *Reitter E.* Cryptophagidae // *Fauna Germanica. Die Käfer des Deutschen Reiches.* Stuttgart: K. G. Lutz Verl. 1909. Bd. 3. P. 54–73.
11. *Roubal J.* Katalog Coleopter (broûku) Slovenska a Podkarpatska. Praha, 1930. T. 1. 527 p.
12. *Roubal J.* Katalog Coleopter (broûku) Slovenska a Podkarpatské Rusi. Praha, 1936. T. 2. 434 p.
13. *Roubal J.* Katalog Coleopter (broûku) Slovenska a Východních Karpat. Praha, 1937–1941. T. 3. 321 p.

Стаття: надійшла до редакції 28.08.17

доопрацьована 09.02.18

прийнята до друку 13.02.18

SILKEN-FUNGUS BEETLES OF THE GENUS *CRYPTOPHAGUS* (COLEOPTERA, CUCUJOIDEA CRYPTOPHAGIDAE) OF THE BORZHAVA RIDGE OF UKRAINIAN CARPATHIANS

K. Liashyna

*The I.I. Schmalhausen Institute of Zoology, NAS of Ukraine
15, B. Khmelnytsky St., Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: kateryna_ocheretna@ukr.net*

Studies are examining the fauna of silken-fungus beetles of the genus *Cryptophagus* on the territory of beech-fir forests of the Ukrainian Carpathians, especially within the territory of Borzhava ridge in Volovets district of Transcarpathian region, which constitute mountain forests of significant weight, next to the beech and spruce forests. Coleoptera which are encountered in the forest litter have been investigated by many scientists. It is not eligible to get a comprehensive information about the fauna and ecological features of life of beetles from the Cryptophagidae family of Transcarpathian region and Ukraine in the scientific literature because these data are available only in the works of foreign researchers of late XIX till mid XX century. To establish the species composition of the family in the Ukrainian Carpathians this is not enough, so we need to make careful monitoring of beetles' fauna and complement currently available research results. The research of species diversity of Coleoptera conducted during 2015–2017. Collection of material was carried out using ground Barber-Geilers' traps. In general, 22 species of the genus *Cryptophagus* of the silken-fungus beetles of the subfamily Cryptophaginae were identified. Other species of the same family were representatives of the genera *Atomaria*, *Antherophagus*, *Caenoscelis*, *Telmatophilus*. In trophic terms in collected material mycetophagous, saprophagous beetles were dominant and, to a lesser extent, coprophagous and phytophagous beetles.

Keywords: beetles, silken-fungus beetles, *Cryptophagus*, Carpathians, Ukraine

ПРОСТОРОВА МІНЛИВІСТЬ ЧИСЕЛЬНОСТІ КАЛЮЖНИЦЬ У СУЧАСНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ УМОВАХ УКРАЇНСЬКОГО ПОЛІССЯ

О. Уваєва

Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. В. Бердичівська, 40, Житомир 10008, Україна
e-mail: bio-2016@ukr.net

Досліджено чисельність молюсків родини Viviparidae в літній період у водних об'єктах Українського Полісся. З'ясовано, що кількісний розвиток Viviparidae має значну просторову неоднорідність, а це насамперед пов'язано з великою різноманітністю умов середовища (температурним режимом, швидкістю течії, прозорістю води, рівнем рН, концентрацією розчиненого у воді кисню та ін.). Щільність поселення *Viviparus viviparus* (Linné, 1758) варіює у межах 15–108, *V. contectus* (Millet, 1813) – 14–52 екз./м². Виявлено поселення Viviparidae, чисельність яких відхиляється від нормального розподілу. Трансформовані логарифмуванням дані про щільність поселення мають здебільшого нормальний розподіл. Найбільша чисельність *V. viviparus* зареєстрована у водотоках, а *V. contectus* – у стоячих водоймах. У сучасних українських водних об'єктах найсприятливіші умови влітку Viviparidae знаходять на глибині 0,3–1,0 м. Тут щільність поселення у *V. viviparus* становить 54–108 екз./м², у *V. contectus* – 23–52 екз./м². Більш глибоководні (1–2 м) поселення молюсків родини Viviparidae відзначаються значно меншими значеннями чисельності: 15–28 екз./м² – для калюжниць річкової та 14–23 екз./м² для калюжниць болотяної. Восени калюжниць мігрують на глибину до 2–3 м і більше, відповідно й чисельність їхня тут у цю пору зростає. Демекологічні зрушення калюжниць (насамперед, пониження їхньої щільності поселення та й загалом частоти трапляння) у водних об'єктах Українського Полісся – це відображення змін, які свідчать про порушення гомеостазу у окремих особин і популяцій загалом, а також тих гідроекосистем, складовою частиною яких вони є. Сучасний стан зябродишних калюжниць Українського Полісся можна покращити регулярним втіленням у життя всебічних охоронних заходів, спрямованих на поліпшення стану водного середовища, а в подальшому – на підтримання його стабільності. Насамперед, це контроль різних державних структур за складом стічних вод від промислових, сільськогосподарських і комунальних підприємств, що надходять до природних водних об'єктів.

Ключові слова: Viviparidae, Українське Полісся, щільність поселення

Одним із актуальних завдань сучасної біології є збереження біорізноманіття [5] за умов посилення трансформації довкілля, обумовленої як впливом природних чинників, так і антропогенним тиском. В останні десятиріччя більшість річок і озер, ставків на території Українського Полісся забруднюється промисловими, сільськогосподарськими та побутовими відходами, що, безперечно, впливає на якісний і кількісний склад гідробіонтів. За таких умов важливо моніторити зміни у структурі популяцій прісноводних молюсків – важливої складової макрозообентосу, зокрема, представників родини Viviparidae – калюжниць річкової (*Viviparus viviparus* (Linné, 1758)) і калюжниць болотяної (*V. contectus* (Millet, 1813)).

Чисельність калюжниць – це показник не лише стану їхніх популяцій, але й важлива характеристика, яка визначає видовий склад і поширення організмів, що входять до складу бентосу. Адаже поселення калюжниць мають біоценологічні зв'язки з іншими гідробіонтами, і зміни в кількісному розвитку цієї групи молюсків призводять до змін таксономічного

складу, чисельності й біомаси інших бентосних угруповань. У літературі є інформація, що у ділянках водних об'єктів, де калужниці мають велику чисельність, спостерігається певне зниження видового різноманіття (за індексом Шеннона) бентосних угруповань і зростання чисельності й біомаси зообентосу, порівняно з незаселеними Viviparidae біотопами [15].

На сьогодні деякі дослідники [1, 8] реєструють тенденцію до зменшення трапляння та чисельності Viviparidae у європейській частині їхнього ареалу і навіть у майбутньому передбачають потребу в охороні цієї групи молюсків. Малакологи чим далі, тим впевненіше висловлюють занепокоєння з приводу ймовірних негативних біологічних наслідків антропогенної трансформації середовища і їхнього впливу на біоту [13].

Мета роботи – дослідити просторову мінливість чисельності молюсків родини Viviparidae в сучасних водних об'єктах Українського Полісся.

Матеріали та методи

Матеріалом для роботи слугували вибірки *V. viviparus* і *V. contectus*, зібрані влітку 2017 р. з 20 місць, розташованих у басейні Середнього Дніпра у межах Українського Полісся (див. таблицю). Збір матеріалу здійснювали за загальноприйнятою методикою [2, 4] на глибині до 2 м. На кожній станції брали не менше 3 проб. Щільність поселення (N, екз./м²) калужниць визначали за допомогою дерев'яної рамки з площею покриття 1 м² [2, 4]. Видову належність молюсків ідентифікували за [16]. У місці збору матеріалу визначали температуру води, швидкість течії, глибину та прозорість води [9], рН, концентрацію розчиненого у воді кисню [11]. Температуру води встановлювали калібрувальним ртутним термометром із ціною поділки 0,1–0,5 °С. Швидкість течії вимірювали за допомогою поплавка та секундоміра [9], глибину перебування молюсків – складометром. Для визначення прозорості води використовували диск Секкі. Рівень рН встановлювали потенціометричним методом (рН-150М), концентрацію розчиненого у воді кисню – методом Вінклера [11]. Статистичний аналіз проведено із застосуванням програм Excel і Statgraphics Plus for Windows.

Чисельність молюсків родини Viviparidae у водних об'єктах Українського Полісся влітку 2017 р.

№	Місце збору	N, екз./м ²	
		min–max	x±m _x
<i>V. viviparus</i>			
1.	ставок (с. Раків Ліс Волинської обл.)	29–40	33±3
2.	р. Случ (м. Сарни Рівненської обл.)	80–108	87±10
3.	ставок (с. Бистричі Рівненської обл.)	20–26	23±2
4.	р. Жерев (с. Білорочівці Житомирської обл.)	19–28	26±3
5.	р. Уборть (с. Рудня-Іванівська Житомирської обл.)	15–22	20±2
6.	р. Ірша (м. Хорошів Житомирської обл.)	21–32	29±4
7.	р. Тетерів (м. Житомир)	59–72	67±4
8.	р. Дніпро (м. Київ)	39–48	43±3
9.	р. Сейм (м. Батурич Чернігівської обл.)	35–50	42±5
10.	р. Десна (м. Новгород-Сіверський Чернігівської обл.)	50–59	54±3
<i>V. contectus</i>			
11.	заплави р. Вижівка (м. Стара Вижівка Волинської обл.)	29–39	34±2
12.	ставок (м. Любешів Волинської обл.)	17–27	24±2
13.	болото (с. Валер'янівка Волинської обл.)	22–31	29±3
14.	ставок (м. Острог Рівненської обл.)	26–36	28±2
15.	заплави р. Тня (с. Несолонь Житомирської обл.)	38–52	44±5
16.	ставок біля р. Уж (м. Коростень Житомирської обл.)	24–34	31±4
17.	ставок (с. Першотравневе Житомирської обл.)	29–41	36±3
18.	р. Тетерів (м. Коростишів Житомирської обл.)	14–25	20±3
19.	ставок (с. Небрат Київської обл.)	31–39	36±3
20.	ставок (с.мт Олішівка Чернігівської обл.)	18–28	22±3

Результати і їхнє обговорення

Проаналізувавши кількісний розвиток калюжниць у водних об'єктах Українського Полісся (див. таблицю), виявили значну просторову його неоднорідність, що насамперед пов'язано із великою різноманітністю умов середовища. Чисельність *V. viviparus* змінювалася від 15 до 108 екз./м², *V. contectus* – від 14 до 52 екз./м², а розподіл її значень не відповідав нормальному.

На рис. 1 видно, що значення чисельності *V. viviparus* поділяються на три групи. Перша характеризується значним відхиленням від лінії нормального розподілу і об'єднує поселення калюжниць зі середньою щільністю менше 25 екз./м². Друга група – це поселення молюсків із чисельністю 30–60 екз./м², де розподіл більшості значень чисельності молюсків близький до нормального. Третя група знову характеризується значним відхиленням від лінії нормального розподілу й об'єднує поселення *V. viviparus* зі середньою щільністю понад 60 екз./м².

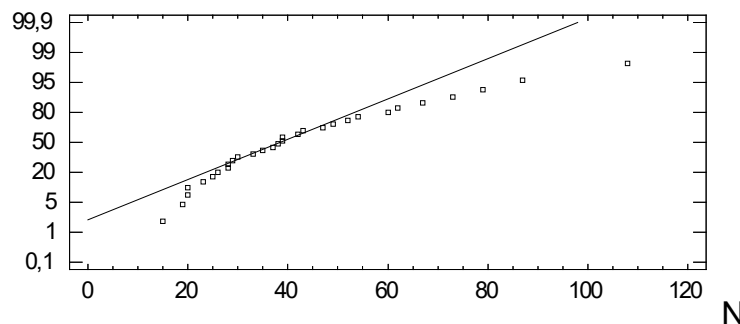


Рис. 1. Функція нормального розподілу (вісь ординат) значень чисельності (N, екз./м²) у поселеннях *V. viviparus* у водоймах Українського Полісся влітку 2017 р.

Відхилення чисельності від лінії нормального розподілу реєструється і у *V. contectus* (рис. 2).

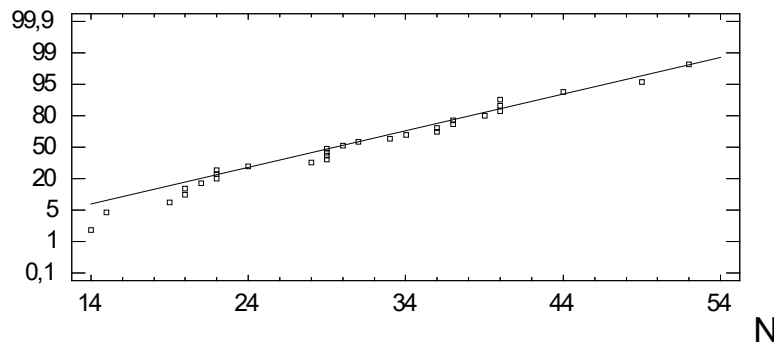


Рис. 2. Функція нормального розподілу (вісь ординат) значень чисельності (N, екз./м²) у поселеннях *V. contectus* у водних об'єктах Українського Полісся влітку 2017 р.

Просторовий розподіл Viviparidae, як і багатьох інших бентосних тварин, часто характеризується агрегованістю, яку необхідно брати до уваги для отримання статистично достовірних характеристик молюсків. За агрегованого розподілу гідробіонтів як математичну модель розподілу зазвичай використовують від'ємний біном [7], за якого вихідні дані про чисельність молюсків трансформують за допомогою їхнього логарифмування. Після використання такої моделі розподіл перетворених даних щодо чисельності *V. viviparus* уже

відповідає нормальному (рис. 3). При цьому середні геометричні значення цих показників значно менші (до 50 %) від середніх арифметичних, але відносна похибка логарифму середньої чисельності молюсків навіть за мінімальної кількості облікових рамок (зазвичай трьох) не перевищує 15 %.

Аналогічна ситуація розподілу чисельності, трансформованої логарифмуванням, спостерігається і у *V. contectus*, хоча високі її значення незначно відхилилися від лінії нормального розподілу (рис. 4).

Отже, за порушення нормального розподілу чисельності у поселенні калужниць, коли похибка щільності поселення має великі значення (більше 20 %), для подальших коректних досліджень доцільно використовувати трансформовані логарифмуванням дані.

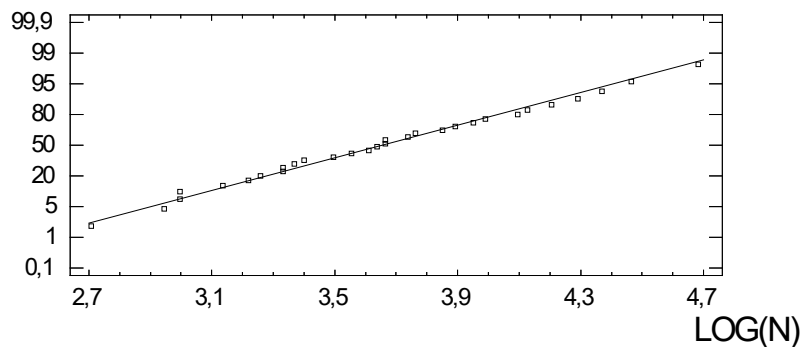


Рис. 3. Функція нормального розподілу (вісь ординат) значень чисельності, трансформованих логарифмуванням (LOG(N)), у поселеннях *V. viviparus* у водних об'єктах Українського Полісся влітку 2017 р.

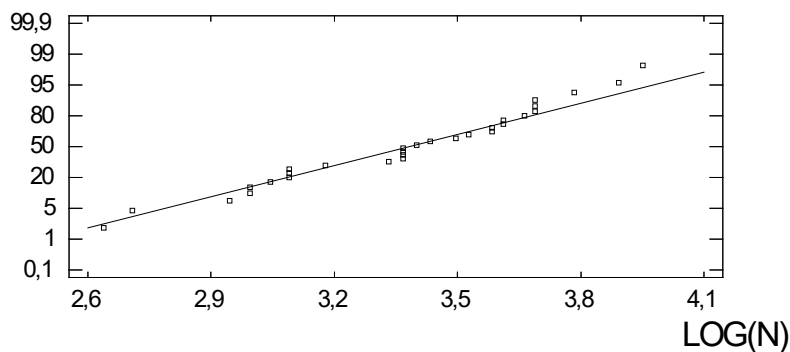


Рис. 4. Функція нормального розподілу (вісь ординат) значень чисельності, трансформованих логарифмуванням (LOG(N)), у поселеннях *V. contectus* у водних об'єктах Українського Полісся влітку 2017 р.

Вивчення розподілу молюсків по різних типах водних об'єктів має як теоретичний, так і практичний інтерес. Згідно з класифікацією В.Д. Романенка [10], континентальні водні об'єкти щодо швидкості течії поділяються на водотоки (водні об'єкти прискореного стоку – водосховища, річки, канали) і водойми (водні об'єкти уповільненого стоку – озера, ставки, болота, заплави річок). Ставок – це мілководна водойма, яка доступна для проникнення світлових променів до дна без суттєвих відмінностей у термічному режимі й сольовому складі, внаслідок чого по всій його акваторії можливий розвиток літоральної рослинності [14].

Нами досліджено кількісний розвиток калюжниць у водотоках і водоймах. За гідробіологічним, гідрологічним і гідрохімічним режимом водотоки відрізняються від водойм. Ці відмінності виражаються в тому, що дія одних чинників послаблюється або зникає зовсім, а інших – посилюється або змінюється (вміст розчиненого кисню і вуглекислого газу у воді, освітлюваність, температура, швидкість течії та ін.) [10]. Так, у червні 2017 р. в основному руслі р. Случ (м. Сарни) температура води становила 20 °С, швидкість течії – 0,5–1,0 м/с, прозорість води – повна, рН 7,5, концентрація розчиненого у воді кисню – 6,5 мгО₂/дм³. Водночас у ставку поблизу р. Случ (с. Бистричі) температура води становила 22 °С, швидкість течії – відсутня, прозорість води – 80 см, рН 7,0, концентрація розчиненого у воді кисню – 5,0 мгО₂/дм³.

Калюжниця *V. viviparus* надає перевагу реофільному способу життя, тому здебільшого і поселяється у річках. Течія забезпечує надходження кисню, поживних речовин до гідробіонтів. Це має особливо важливе значення для зябродихаючих молюсків, які дихають розчиненим у воді киснем.

Нами здійснено порівняльний аналіз кількісного розвитку *V. viviparus* у водотоках і водоймах, де він також зрідка трапляється. З'ясовано, що у річках цей вид набагато численніший, ніж у стоячих водоймах. Так, у р. Случ (м. Сарни) щільність поселення *V. viviparus* становить 87 екз./м², а поряд у ставку – 43 екз./м². Для реофільного і оксифільного виду такий кількісний розподіл є цілком закономірним.

Протилежна ситуація спостерігається у *V. contectus*, який надає перевагу стоячим водоймам. Найчастіше цей вид поселяється в озерах, ставках, болотах, заплавах річок, де ми відмічали найбільші значення його кількісного розвитку. Зрідка трапляється *V. contectus* і у водотоках із невеликою чисельністю. Так, у р. Уж (м. Коростень) щільність поселення цього виду становить 19 екз./м², а поряд у ставку – 31 екз./м². Для стагнофільного виду, який менш вибагливий до кисню, порівняно з *V. viviparus*, такий кількісний розподіл є цілком очевидним.

Нами досліджено вплив глибини на кількісні показники розвитку калюжниць. Усі водяні молюски, як і інші гідробіонти, добре пристосовані до дії на них гідростатичного тиску [3, 10]. Тому сама по собі глибина для них не є обмежувальним чинником. Однак від неї залежать умови температурного, газового, світлового режимів, характер і ступінь розвитку донних відкладень, якісний склад і кількісний розвиток водяної рослинності, тобто майже всі умови існування молюсків. Усе це певним чином відбивається на руховій активності тварин, їхньому живленні, диханні, розмноженні.

Відомо, що калюжниця поселяється у водних об'єктах від прибережної зони і до глибини 14 м [16]. За нашими даними, найсприятливіші умови влітку Viviparidae знаходять на глибині 0,3–1,0 м, адже тут реєструються найбільші значення їхньої щільності поселення: 54–108 екз./м² у *V. viviparus* і 23–52 екз./м² у *V. contectus*. Більш глибоководні (1–2 м) поселення молюсків родини Viviparidae, як правило, відзначаються невисокими значеннями щільності поселення: 15–28 екз./м² для калюжниця річкової і 14–23 екз./м² для калюжниця болотяної. А ще глибше траплялися тільки поодинокі особини молюсків.

У момент відбору проб у червні 2017 р. в р. Тетерів (м. Житомир) щільність поселення *V. viviparus* на глибині 0,3–1,0 м становила 54 екз./м², на 1–2 м – 24, ще глибше – 1–2 екз./м². Водночас у ХХ ст. у водосховищах Дніпровського каскаду на глибині 3–7 м реєструвалися численні поселення *V. viviparus* зі щільністю поселення 700–800 екз./м² [6]. Такі зміни біотопічного розподілу калюжниць ми вбачаємо, як і інші дослідники [12], у структурних змінах прісноводних біоценозів. Унаслідок зростання з року в рік евро-

фікації водних об'єктів у їхній бенталі накопичується велика кількість рослинного і тваринного детриту. Це супроводжується погіршенням умов кисневого режиму, утворенням і накопиченням у придонних шарах води вуглекислого газу, сірководню, аміаку. Через це Viviparidae перебираються на більш мілководні ділянки водних об'єктів зі сприятливішими умовами гідрохімічного режиму. Подібну тенденцію у XXI ст. відмічають малакологи і для інших груп прісноводних молюсків [12; 13].

Слід зазначити, що місцезнаходження калюжниць залежить і від пори року. У теплий період, як зазначалося вище, вони здебільшого зосереджуються на глибині 0,3–1,0 м. Восени калюжници опускаються на глибину до 2–3 м і більше, відповідно й чисельність їхня тут у цю пору зростає.

Чисельність калюжниць у водних об'єктах Українського Полісся має значну просторову неоднорідність, що насамперед пов'язано з великою різноманітністю умов середовища. Щільність поселення *Viviparus viviparus* варіює у межах 15–108, *V. contectus* – 14–52 екз./м². Виявлено поселення Viviparidae, чисельність яких відхиляється від нормального розподілу. Трансформовані логарифмуванням дані про щільність поселення мають здебільшого нормальний розподіл. Тому за порушення нормального розподілу чисельності у поселенні калюжниць для подальших коректних досліджень доцільно використовувати трансформовані логарифмуванням дані.

Чисельність *V. viviparus* у водотоках більша, ніж у водоймах. У *V. contectus* – навпаки: найбільші значення щільності поселення зареєстровано саме у стоячих водоймах. Найсприятливіші умови (температурний режим, прозорість води, рівень рН, газовий склад) влітку Viviparidae знаходять на глибині 0,3–1,0 м. Тут щільність поселення у *V. viviparus* становить 54–108 екз./м², у *V. contectus* – 23–52 екз./м². Більш глибоководні поселення молюсків родини Viviparidae відзначаються значно меншими значеннями щільності поселення: 15–28 екз./м² у калюжниці річкової та 14–23 екз./м² у калюжниці болотяної. Унаслідок антропогенної трансформації навколишнього середовища, насамперед забруднення гідросфери різними поллютантами, Viviparidae перебираються на більш мілководні ділянки водних об'єктів зі сприятливішими умовами гідрохімічного режиму.

Загалом зменшення кількісного розвитку калюжниць у водних об'єктах Українського Полісся, ймовірно, пов'язане з порушенням умов довкілля (кліматичних і спричинених антропогенним тиском) та є сигналом для впровадження всебічних охоронних заходів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Анистратенко В. В., Дегтяренко Е. В., Анистратенко О. Ю., Прозорова Л. А. Современное распространение брюхоногих моллюсков семейства Viviparidae (Caenogastropoda) в континентальных водоемах Евразии // Зоол. журнал. 2014. Т. 93. Вып. 2. С. 211–220.
2. Жадин В. И. Методы гидробиологических исследований. М.: Высш. школа, 1960. 189 с.
3. Зернов С. А. Общая гидробиология. 2 изд. М.; Л.: Изд-во АН СРСР, 1949. 523 с.
4. Кияшко П. В., Солдатенко Е. В., Винарский М. В. Класс Брюхоногие моллюски. Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России / под ред. С.Я. Цаллолихина. М.; СПб., 2016. Т. 2. Зообентос. С. 335–438.
5. Конвенція про охорону біологічного різноманіття від 05.06.1992 р., ратифіковано Законом № 257/94-ВР від 29.11.1994 р. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://zakon0.rada.gov.ua/laws/show/995_030/print1361280240144740.
6. Левина О. В. Моллюски семейства Viviparidae водохранилищ Днепровского каскада // Гидробиол. журнал. 1992. Т. 28. № 1. С. 60–65.

7. Максимович В. Б., Погребов В. Б. Анализ количественных гидробиологических материалов. Л., 1986. 97 с.
8. Межжерин С. В., Андрийчук Т. В., Бабко Р. В., Кузьмина Т. Н. Экологическая альтернативность близких видов пресноводных моллюсков живородок *Viviparus viviparus* и *V. contectus* (Gastropoda, Viviparidae): ретроспектива и современное состояние // Природничий альманах. Сер. Біологічні науки. 2014. Вип. 20. С. 105–113.
9. Методичний посібник з визначення якості води / В.І. Щербак та ін. К., 2002. С. 6–15.
10. Романенко В. Д. Основи гідроекології: підручник. К.: Обереги, 2001. 728 с.
11. Руководство по методам исследования качества вод / А.В. Яцык и др. К.: ТВіМС, 1995. Т. 1. 202 с.
12. Стадниченко А. П., Іваненко Л. Д. Малакобіота Українського Полісся та її зміни за умов антропогенного пресу // Вісн. Житомир. держ. ун-ту ім. І. Франка. 2006. Вип. 26. С. 221–224.
13. Стадниченко А. П., Богачова А. М., Шубрат Ю. В. Вплив антропогенної трансформації навколишнього середовища на стан прісноводної малакофауни України // Вісн. ЖНАЕУ. 2008. (1). С. 139–147.
14. Чеботарев А. И. Гидрологический словарь. Л.: Гидрометиздат, 1978. 308 с.
15. Яныгина Л. В. Роль *Viviparus viviparus* (L.) (Gastropoda, Viviparidae) в формировании сообществ макрозообентоса Новосибирского водохранилища // Росс. журнал биол. инвазий. 2011. № 4. С. 98–107.
16. Glöer P. Süßwassergastropoden. Mollusca I. Nord- und Mitteleuropas. Hackenheim: Conch-Books, 2002. 327 S.

Стаття: надійшла до редакції 09.01.18

доопрацьована 14.03.18

прийнята до друку 30.03.18

SPATIAL VARIABILITY OF VIVIPARIDAE NUMBERS IN CURRENT ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF UKRAINIAN POLISSIA

O. Uvaeva

*Zhytomyr Ivan Franko State University
40, Velyka Berdychivska St., Zhytomyr 10008, Ukraine
e-mail: bio-2016@ukr.net*

The population density of Viviparidae snails is studied in Ukrainian Polissia water bodies in summer. The spatial distribution of Viviparidae populations is uneven, which is mostly related to very varying environmental conditions (temperature regime, flow velocity, water transparency and pH levels, oxygen concentration, etc.). Population density of *Viviparus viviparus* (Linné, 1758) ranges from 15 to 108, and that of *V. contectus* (Millet, 1813) ranges from 14 to 52 specimens per m². In several Viviparidae populations, density does not follow normal distribution unless log-transformed. The distribution of log-transformed data on population density is almost normal. The highest density of *V. viviparus* is found in rivers, and that of *V. contectus* in stagnant waters. The best conditions in summer for the development of Viviparidae snails in Ukrainian water bodies are at the depth of 0.3–1.0 m. There the population density of *V. viviparus* is 54–108 specimens/m², that of *V. contectus* is 23–52 specimens/m². Viviparidae species which prefer deeper (1–2 m) water are not as abundant: 15–28 specimens of *V. viviparus* per m² and 14–23 specimens of *V. contectus*

per m². In winter, river snails descend to the depth of 2 to 3 m and their density increases accordingly. The unstable population structures of Viviparidae in water bodies of Ukrainian Polissia reflect the changes in homeostasis of single specimens and on the population level, and in their aquatic habitats. Current state of river snail populations in Ukrainian Polissia can be ameliorated using multifarious measures of protection, improving and sustaining aquatic environment. The major factor is the control of state authorities over waste waters of industrial, agricultural and communal enterprises entering the natural water bodies.

Keywords: Viviparidae, Ukrainian Polissia, population density

ЗМІСТ
БІОТЕХНОЛОГІЯ

О. Смуток, М. Карковська, Н. Стасюк, М. Гончар
Виділення, очищення, стабілізація та характеристика флавоцитохрому b_2 із клітин надпродуцента *Ogataea polymorpha* «tr1» (*gcr1 catX CYB2*) 3

БІОФІЗИКА

Н. Гарасим, О. Бішко-Москалюк, О. Кулачковський, М. Луцик, Д. Санагурський
Структурні зміни легень щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію 16

БІОХІМІЯ

Г. Андрейко, О. Коновалова
Елементоорганічний рівень як один із базових рівнів біохімічної адаптації до впливу важких металів 31

БОТАНІКА

Л. Безусько, З. Цимбалюк, С. Мосякін
Поширення *Kochia prostrata* (*Chenopodiaceae*) на рівнинній частині України впродовж пізнього дріасу–голоцену: палеофлористичний і паліноморфологічний аспекти 39

G. Angelov, I. Bednarska
Systematic relationships among six taxa of genus *Elymus* as revealed by electrophoresis of seed proteins 47

ГЕНЕТИКА

О. Карастан, Н. Мулюкіна, О. Паніна, Г. Плачинда
Оцінка генетичного різноманіття винограду (*Vitis vinifera* L.) з використанням мікросателітних маркерів 53

В. Балацький, Л. Мацевич, О. Півень
Кардіоспецифічна ембріональна делеція гену αE -катеніну призводить до гіпертрофії серця у дорослих мишей 62

О. Koshla, B. Ostash
A genetic assay system to study mistranslation of leucyl codon UUA in *Streptomyces* 70

N. Matiytsiv, Kh. Dronska, O. Makarenko
New nootropic preparation from blood plasma (Adement): lack of therapeutic influence on *Drosophila* neurodegenerative model 76

...

ЕКОЛОГІЯ

Є. Пука, В. Козловський
Хімічні елементи у ґрунтах і лізиметричних водах екосистем Чорногори (Українські Карпати) 83

Р. Власенко, О. Гарбар, Н. Пилипчук
Видове різноманіття дощових черв'яків в околицях с. Колочави Закарпатської області .. 93

С. Бешлей, Р. Соханьчак
Водний режим моху *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. на відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району 102

М. Чуба, З. Мамчур
Апофіти і адвентивні види у флорі м. Львова 109

С. Макогоненко, В. Баранов, О. Терек
Вплив гіберелової кислоти, Стимпо й Регопланту на вміст нітратів і аміаку в
проростках *Helianthus annuus* L. та *Brassica napus* L. за росту на субстратах
породного відвалу вугільних шахт 119

ЗООЛОГІЯ

І. Тумків, І. Шидловський, К. Назарук, А. Затушевський
Collection of bumblebees (Hymenoptera, Apidae, *Bombus latreille*, 1802) in Zoological
Museum of Ivan Franko National University of Lviv 124

Т. Микитчак, Н. Коваль
Гіллястовусі (Cladocera) й веслоногі (Copepoda: Cyclopoidea, Calanoida) ракоподібні
верхів'я р. Уж (Українські Карпати) 129

К. Ляшина
Жуки-пліснявики роду *Cryptophagus* (Coleoptera, Cucujoidea, Cryptophagidae)
гірського масиву Полонина Боржава 137

О. Узаєва
Просторова мінливість чисельності калужниць у сучасних екологічних умовах
Українського Полісся 142

CONTENS
BIOTECHNOLOGY

- O. Smutok, M. Karkovska, N. Stasyuk, M. Gonchar*
Isolation, purification, stabilization and characterisation of flavocytochrome b_2 from overproducing cells of *Ogataea polymorpha* "tr1" (*gcr1 catX CYB2*) 3

BIOPHYSICS

- N. Harasym, O. Bishko-Moskaliuk, O. Kulachkovsky, M. Lutsyk, D. Sanahursky*
Structural changes in rats lung under the influence of histamine and sodium hypochlorite .. 16

BIOCHEMISTRY

- H. Andreiko, O. Konovalova*
Element-organical level as one of the basic levels of biochemical adaptation to the impact of heavy metals 31

BOTANY

- L. Bezusko, Z. Tsybalyuk, S. Mosyakin*
Distribution of *Kochia prostrata* (*Chenopodiaceae*) in the plain part of Ukraine during the late dryas – holocene: paleofloristic and palinomorphological aspects 39
- G. Angelov, I. Bednarska*
Systematic relationships among six taxa of genus *Elymus* as revealed by electrophoresis of seed proteins 47

GENETICS

- O. Karastan, N. Mulyukina, O. Papina, G. Plachinda*
Evaluation of grapevines (*Vitis vinifera* L.) genetic diversity by using microsatellite markers 53
- V. Balatsky, L. Macewicz, O. Piven*
Embryonic cardiospecific knockout of a-E-catenin gene leads to adult heart hypertrophy ... 62
- O. Koshla, B. Ostash*
A genetic assay system to study mistranslation of leucyl codon UUA in *Streptomyces* 70
- N. Matiytsiv, Kh. Dronska, O. Makarenko*
New nootropic preparation from blood plasma (Adement): lack of therapeutic influence on *Drosophila* neurodegenerative model 76

ECOLOGY

- E. Puka, V. Kozlovsky*
Chemical elements content in soil and lysimetric waters of Chornogora mountain region ecosystems (Eastern Carpathians, Ukraine) 83
- R. Vlasenko, O. Harbar, N. Pylypchuk*
Species diversity of earthworms in the vicinity of Kolochava village of Zakarpattia region 93
- S. Beshley, R. Sokhanchak*
Water regime of the moss *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid. on the coal mines dumps of the Chervonohrad mining-industrial area 102
- M. Chuba, Z. Mamchur*
Apophytes and adventitious species in the Lviv city 109

<i>S. Makogonenko, V. Baranov, O. Terek</i> Influence of gibberellic acid, Stimpo and Regoplant on nitrate and ammonia content in sprouts of <i>Helianthus annuus</i> L. and <i>Brassica napus</i> L. at growth on the soil substrates of coal mine waste dumps	119
--	-----

ZOOLOGY

<i>I. Tymkiv, I. Shydlovskyy, K. Nazaruk, A. Zatushevskyy</i> Collection of bumblebees (Hymenoptera, Apidae, <i>Bombus latreille</i> , 1802) in Zoological Museum of Ivan Franko National University of Lviv	124
<i>T. Mykitchak, N. Koval</i> Cladocera and Copepoda crustaceans of the upper Uzh river (Ukrainian Carpathians)	129
<i>K. Liashyna</i> Silken-fungus beetles of the genus <i>Cryptophagus</i> (Coleoptera, Cucujoidea Cryptophagidae) of the Borzhava ridge of Ukrainian Carpathians	137
<i>O. Uvaeva</i> Spatial variability of viviparidae numbers in current environmental conditions of Ukrainian Polissia	142