

ISSN 0206-5657

ВІСНИК ЛЬВІВСЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ

СЕРІЯ БІОЛОГІЧНА

Випуск 87

2022

VISNYK OF THE LVIV UNIVERSITY	ВІСНИК ЛЬВІВСЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ
--	--

Series Biology	Серія біологічна
-----------------------	-------------------------

Issue 87	Випуск 87
-----------------	------------------

Scientific journal	Збірник наукових праць
--------------------	------------------------

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

<i>Published since 1962</i>	<i>Видається з 1962 року</i>
-----------------------------	------------------------------

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

2022

ЗАСНОВНИК: ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Друкується за ухвалою Вченої ради
Львівського національного університету
імені Івана Франка
Протокол № 37/10 від 26 жовтня 2022 р.

Свідоцтво про державну реєстрацію серія
КВ № 14810-3581Р від 28 жовтня 2008 р.,
перереєстровано як фахове видання України
(наказ МОН № 409 від 17.03.2020 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 *А. Бабський*; 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*; д-р біол. наук, проф. *Л. Тасенкевич*; д-р біол. наук, проф. *О. Терек*; 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, доц. *В. Гончаренко*; 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@lnu.edu.ua

<http://publications.lnu.edu.ua/bulletins/index.php/biology/index>

<https://doi.org/10.30970/vlubs.2022.87>

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^{1/16}
Ум. друк. арк. 11,9
Наклад 100 прим. Зам.

© Львівський національний університет
імені Івана Франка, 2022

ЗМІНА ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ЕРИТРОЦИТІВ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ВПЛИВУ ГІСТАМІНУ І КВЕРЦЕТИНУ

Н. Гарасим¹, Н. Боднарчук¹, В. Отчич¹, О. Кінаш¹, Н. Мельник¹, А. Зинь²

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

²Львівський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр
Міністерства внутрішніх справ України
вул. Конюшинна, 24, Львів 79040, Україна
e-mail: garasymnataly@gmail.com; nataliya.harasym@lnu.edu.ua

Досліджено вплив гістаміну і кверцетину, а також їхню поєднану дію на вміст гістаміну в цільній крові, супероксид-аніон радикала, сіалових кислот, сульфгідрильних груп, активність каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази в еритроцитах щурів. Встановлено, що кверцетин у концентрації 0,1 мМ підвищує вміст гістаміну в цільній крові щурів, тоді як усі інші досліджувані концентрації зумовлюють значне зменшення вмісту біогенного аміну. Додавання до цільної крові гістаміну в концентрації 1 мкМ веде до зниження, тоді як у концентрації 10 мкМ – зумовлює підвищення вмісту ендogenous гістаміну у крові. Поєднана дія екзогенного гістаміну і кверцетину переважно підвищує кількість ендogenous гістаміну в цільній крові. В еритроцитах щурів кверцетин зумовлює генерацію супероксид-аніон радикала. Підвищення вмісту цього радикала відбувається за впливу гістаміну в концентрації 0,1; 1 і 10 мкМ, тоді як за дії біогенного аміну 0,01 мкМ знижується кількість досліджуваного продукту. Поєднана дія гістаміну і кверцетину інтенсифікує утворення супероксид-аніон радикала в еритроцитах, окрім дії флавоноїда в терапевтичній концентрації. Додавання до цільної крові кверцетину і гістаміну спричиняє підвищення вмісту сіалових кислот. Додавання до цільної крові кверцетину справляє підвищення вмісту сульфгідрильних груп, окрім концентрації 5 мМ, за якої вміст цього показника знижується. Гістамін у концентрації 0,01; 0,1 мкМ веде до підвищення вмісту SH-груп, а у концентрації 1 мкМ – до зниження. Гістамін на фоні впливу кверцетину зумовлює підвищення вмісту сульфгідрильних груп.

Кверцетин у концентрації 0,1; 3; 5 мМ знижує активність каталази, тоді як досліджуваний флавоноїд концентрацією 0,3; 1 мМ зумовлює зростання активності досліджуваного ферменту. Гістамін у концентрації 0,1 і 10 мкМ активує каталазу, а біогенний амін (концентрацією 0,01 і 1 мкМ) знижує активність ензиму. Поєднана дія гістаміну та кверцетину веде до зростання активності каталази в еритроцитах. Кверцетин лише у концентрації 5 мМ, гістамін у концентрації 0,1; 1; 10 мкМ посилює активність глутатіонпероксидази. Одночасне додавання до крові гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентрації 3 і 5 мМ, а також поєднана дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3; 5 мМ зумовлює інтенсифікацію роботи глутатіонпероксидази. Кверцетин у концентрації 0,5; 1; 3; 5 мМ спричиняє значне зростання активності глутатіон-S-трансферази. Гістамін у концентрації 0,01; 0,1; 1 та 10 мкМ значно дозозалежно активує глутатіон-S-трансферазу. Поєднана дія гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ веде до зниження активності ферменту в еритроцитах щурів порівняно зі зразками, до яких додавали тільки гістамін, проте показники глутатіон-S-трансферази не сягали меж контролю. Одночасний вплив гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину зумовлює значне зростання активності глутатіон-S-трансферази.

Ключові слова: еритроцити, гістамін, кверцетин, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіон-S-трансфераза, супероксид-аніон радикал, сіалові кислоти, сульфгідрильні групи

Відомо, що поліфеноли, які містять велику кількість фенольних структурних одиниць, поширені в рослинах, таких як овочі, соя та фрукти. Вони мають антигіпертензивні, протизапальні й антиоксидантні властивості. Поліфеноли виявляють протизапальну дію шляхом інгібування активності та/або вироблення ферментів, що викликають запалення, таких як циклооксигеназа, ліпоксигеназа і TNF- α тощо. Їхні антиоксидантні властивості виявляються завдяки взаємодії з антиоксидантними ферментами, зокрема, з гемоксигеназою-1. Поліфеноли підвищують активність різних антиоксидантних ферментів (таких як каталаза і глутатіонпероксидаза), здатність поглинати радикали, а також підвищують окислювально-відновну регуляцію шляхом зв'язування з β -актином, білком цитоскелета, і Keap1, білком каркаса, зв'язаним з актиновим цитоскелетом, який контролює гени цитопротекторного ферменту за допомогою сульфгідрильної модифікації. Поліфеноли регулюють роботу іонних транспортерів і каналів. Відомо, що кверцетин активує Na^+ - K^+ - 2Cl^- -котранспортер 1 (NKCC1), що приводить до підвищення концентрації Cl^- у цитозолі ($[\text{Cl}^-]_i$) і знижує експресію генів ENaC. У результаті таких дій поліфеноли виявляють різні сприятливі ефекти на функції організму, зокрема, регуляцію артеріального тиску за рахунок зменшення скорочення судин і реабсорбції Na^+ в нирках, впливаючи на експресію гена ENaC і активність Na^+ , K^+ -АТФази [30].

Кверцетин належить до класу поліфенолів. Він має погану розчинність і біодоступність за перорального прийому. До складу кверцетину входить п'ять гідроксильних груп у структурі скелета C6-C3-C6, зокрема, група 3-OH є на піроновому кільці.

Виявлено, що кверцетин може активувати апоптоз через мітохондріальний шлях, що включає активацію каспази-3 і каспази-9, а також вивільнення цитохрому c і розщеплення PARP за гострої лімфобластної лейкемії (HPB-ALL і HL-60) і в клітинах раку простати (DU-145 і PC-3). Крім того, безліч досліджень показали антиапоптотичну (Bcl-xL і Bcl-2) і проапоптотичну (Bax) білкову модуляцію кверцетином у клітинах товстої кишки людини, аденокарциноми стравоходу та лейкемії. Лікування кверцетином також призвело до зниження співвідношення Bcl-xL до Bcl-xS і збільшення транслокації білка Bax на мітохондріальну мембрану в клітинах раку простати людини LNCaP. Дослідження *in vitro* з кератиноцитами HaCaT ліній ракових клітин людини встановили протипухлинний ефект кверцетину через надмірну експресію Bax і вивільнення цитохрому c та транслокацію факторів, що індукують апоптоз у ядрі [23].

Показано, що кверцетин є потужним антиоксидантом *in vitro* та на мишачих моделях. Однак його вплив на окислювально-відновний статус є погано вивчений у людей. Було досліджено вплив тривалого споживання кверцетину на систему глутатіону, окисне пошкодження, антиоксидантну ферментну систему (каталаза, глутатіонпероксидаза, супероксиддисмутаза) та стійкість до лізису в еритроцитах. Встановлено, що у людей кверцетин значно знижує рівень пероксидного окислення ліпідів еритроцитів і здатність до гемолізу. Після фізичного навантаження додавання кверцетину покращило окислювально-відновний статус, що було оцінено за вмістом відновленого глутатіону та зменшення рівня ТБК-позитивних продуктів як в еритроцитах, так і у плазмі [24].

Кверцетин характеризується протиалергічними властивостями завдяки стимуляції імунної системи, протівірусної активності, пригнічення вивільнення гістаміну, знижує утворення прозапальних цитокінів, лейкотрієнів і пригнічує вироблення інтерлейкіну IL-4.

Він може покращити баланс Th1/Th2 і стримувати утворення антиген-специфічних антитіл IgE. Він також є ефективним у пригніченні таких ферментів як ліпоксигеназа, еозинофільна пероксидаза й у зниженні медіаторів запалення. Усі згадані механізми дії кверцетину можна ефективно використовувати у лікуванні пізньої фази реакції бронхіальної астми, алергічного риніту й обмеженні анафілактичних реакцій, спричинених арахісом. Рослинний екстракт кверцетину є основним інгредієнтом багатьох потенційних протиалергічних препаратів, добавок і збагачених продуктів, які більшою мірою інгібують IL-8, ніж кромолін (протиалергічний препарат динатрію кромоглікат), пригнічують IL-6 і підвищують рівень кальцію в цитозолі [26]. Кверцетин блокує речовини, що викликають алергію, і здатний діяти як інгібітор секреції тканинних базофілів, він зменшує вивільнення триптази, MCP-1 та IL-6 і забезпечує зниження регуляції мРНК гістидиндекарбоксилази з кількох ліній тканинних базофілів. Кверцетин – це природна сполука, яку можна використовувати як первинну терапію або в поєднанні зі звичайними методами [28].

Гістамін вивільняється з тканинних базофілів під час запальних процесів або за стимулювання алергенами. Активація гістамінових рецепторів і підвищення концентрації кальцію через TRPV1 можуть бути пов'язані зі сверблячкою та запаленням шкіри, зумовленими гістаміном. Відомо, що кверцетин має протизапальну та протисвербіжну дію. У науковій літературі показано, як впливає кверцетин на індуковане гістаміном підвищення внутрішньоклітинного вільного кальцію ($[Ca^{2+}]_i$) у кератиноцитах людини. Виявлено, що попередня обробка кверцетином зменшує індуковане гістаміном підвищення $[Ca^{2+}]_i$ залежно від концентрації. Інгібуючий ефект кверцетину на індуковане гістаміном підвищення $[Ca^{2+}]_i$ блокується JNJ7777120, селективним антагоністом H4, а також U73122, інгібітором PLC, та GF109203X, інгібітором PKC. Також встановлено, що індуковане агоністом H4 (4-метилгістамін) підвищення $[Ca^{2+}]_i$ може бути пригнічене кверцетином. Крім того, селективний блокатор TRPV1, капсазепін, суттєво пригнічує кверцетин-опосередковане інгібування індукованого гістаміном підвищення $[Ca^{2+}]_i$, тоді як блокатор TRPV4 GSK2193874 не має ефекту. Кверцетин знижує індуковану гістаміном і агоністом H4 експресію IL-8 в кератиноцитах та інгібує індуковану подряпинами сполуку 48/80 у мишей BALB/c. Кверцетин демонструє високу спорідненість з H4-рецепторами (для H4 = -8,7 ккал/моль). Ці дані свідчать про те, що кверцетин може зменшити індуковане H4 рецептором до гістаміну надходження кальцію через канал TRPV1 і може забезпечити молекулярний механізм впливу кверцетину у протисвербіжних, протизапальних і неприємних відчуттях [22].

На сьогодні залишається невідомою дія вільного гістаміну і його поєднаний вплив з кверцетином на ендогенний вміст біогенного аміну в крові та на структурно-функціональні параметри еритроцитів.

Мета: вивчити вплив гістаміну та кверцетину на вміст сіалових кислот, сульфгідрильні групи, супероксид-аніон радикала та стан антиоксидантної системи в еритроцитах крові щурів, а також на вміст гістаміну в цільній крові.

Матеріали та методи

У досліджах використовували цільну кров безпородних білих щурів-самців масою тіла 180 ± 10 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. До цільної крові додавали кверцетин, щоб кінцеві концентрації становили 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ. Слід зазначити, що концентрації кверцетину 1 та 3 мМ є терапевтичними дозами цієї речовини у фармацевтичних препаратах («Quercetin», «Квертин»). Кверцетин розчиняли у теплому фізіологічному розчині (37 °C). У другій серії дослідів до крові додавали розчин гістаміну (0,01; 0,1;

1; 10 мкМ). Ці концентрації нами обрано, спираючись на літературні дані, в яких йдеться про ефекти посилення вивільнення активних форм Оксигену нейтрофілами [8]. Розчини готували, використовуючи 0,9 % NaCl. У третьому випадку до цільної крові додавали і гістамін (у концентраціях 0,01 і 10 мкМ), і кверцетин (у концентраціях 0,1; 0,5; 3; 5 мМ). Зокрема, поєднували мінімальну концентрацію гістаміну із зазначеними концентраціями кверцетину. Те ж стосується і максимальної концентрації гістаміну. Таким чином, було сформовано ще вісім експериментальних груп. Для комбінованої дії препаратів було обрано концентрації гістаміну 0,01 і 10 мкМ та кверцетину 0,1, 0,5, 3 і 5 мМ. Як контроль ми використовували кров, до якої додавали 0,01 мл фізіологічного розчину. Інкубували 5 хв, після чого центрифугували за 3000 об/хв (1000 g) упродовж 10 хв для осадження еритроцитів. Для аналізу відбирали цільну кров і еритроцити. У відібраних зразках цільної крові визначали вміст гістаміну [2], у зразках гемолізованих еритроцитів досліджували вміст супероксид-аніон радикала [4], сіалових кислот [13], SH-груп білків [19], активність каталази [9], глутатіонпероксидази [12], глутатіон-S-трансферази [25]. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [27].

Дані досліджень статистично обробляли з обчисленням середніх арифметичних значень (M), стандартної похибки (m) і ступеня вірогідності різниці (p) між показниками. Проводили дисперсійний аналіз (Anova: Two-Factor With Replication). Біометричну обробку всіх даних результатів досліджень проводили з використанням програми «Excel-2010» для Windows.

Результати і їхнє обговорення

Додавання до крові шурів кверцетину в концентрації 0,1 мМ зумовлює збільшення вмісту гістаміну на 38 % (рис. 1). Значне зниження вмісту гістаміну відбувається за дії концентрацій кверцетину 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ на 75, 60, 86, 64, 68 % відповідно (рис. 1). Отже, кверцетин у концентраціях 0,3–5 мМ виявляє антигістамінні властивості. Кверцетин у найнижчій досліджуваній концентрації сприяє вивільненню гістаміну базофілами крові. Зниження вмісту ендogenousного гістаміну в цільній крові за дії кверцетину у концентраціях 0,3–5 мМ відбувається, ймовірно, за рахунок активації гістамінази – ферменту, який руйнує гістамін в організмі. У науковій літературі є повідомлення, що кверцетин має антигістамінну дію, знижуючи вироблення гістаміну, серотоніну, лейкотрієнів [20]. Встановлено, що флавоноїди пригнічують вивільнення хімічних медіаторів; додатково пригнічують синтез інтерлейкіну (IL)-4 та IL-13 (цитокіни типу Th2) за допомогою стимульованих алергеном або анти-IgE антитіл клітин, що експресують рецептори (наприклад, базофілів периферичної крові або тканинних базофілів). Кверцетин інгібує вивільнення гістаміну з тканинних базофілів, впливаючи на пригнічення надходження іонів кальцію до цих клітин [26]. Проте, враховуючи наші дослідження, а саме те, що відбувається зниження вмісту гістаміну за додавання до цільної крові кверцетину в дослідях *in vitro*, є підстави вважати, що кверцетин діє на механізми знешкодження гістаміну (тобто на гістаміназу).

Нами встановлено підвищення вмісту гістаміну в цільній крові за впливу екзогенного гістаміну в концентрації 10 мкМ на 34 % (рис. 1). Проте у концентрації 1 мкМ екзогенний гістамін зумовлює незначне зниження вмісту ендogenousного гістаміну на 9 %. Екзогенний гістамін у концентраціях 0,01; 0,1 мкМ не змінює вмісту біогенного аміну в цільній крові. Якщо порівнювати з дією кверцетину, то можна виявити суттєву різницю показників: кверцетин у переважній більшості суттєво знижує вміст ендogenousного гістаміну, тоді як екзогенний гістамін змінює показник у малому діапазоні. Також варто відзначити, що ендogenousний гістамін за впливу біогенного аміну в концентрації 10 мкМ перебуває на

одному рівні з ендogenousним біогенним аміном за впливу кверцетину в концентрації 0,1 мМ. Тобто у цих концентраціях вони чинять однаковий вплив на вміст гістаміну у крові.

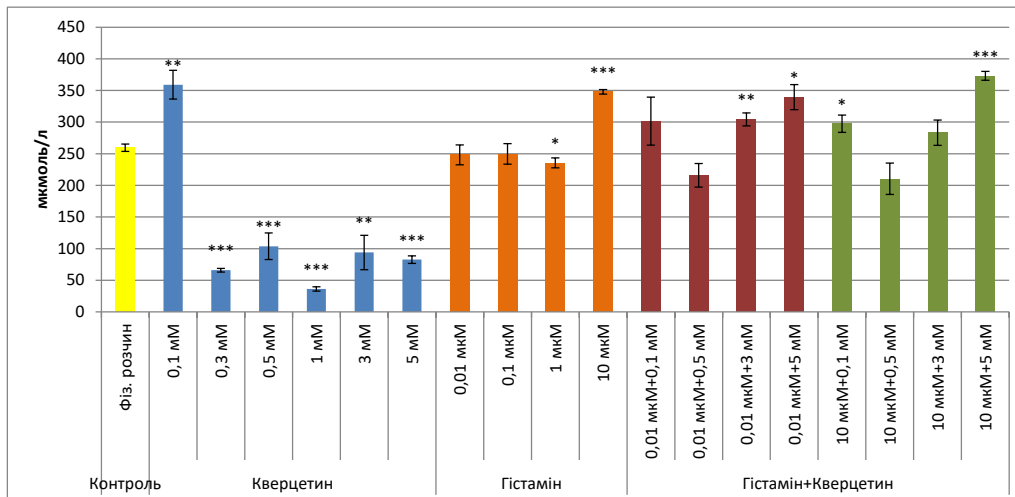


Рис. 1. Вміст ендogenousного гістаміну в цільній крові щурів за дії кверцетину, гістаміну та їхнього поєднаного впливу (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Відомо, що гістамін діє на вивільнення ендogenousного гістаміну з базофілів крові, тканинних базофілів. Також гістамін діє і на інші клітини крові, зумовлюючи регуляцію вмісту цього біогенного аміну у кровотоці.

Зокрема, гістамін може втягуватися еозинофілами крові й накопичуватися в них, а також і знешкоджуватися там гістаміназою. До гістаміну мають причетність і нейтрофіли. На клітинах є чотири типи рецепторів до гістаміну. І, залежно від того, які рецептори активовані, буде проявлятися та чи інша біологічна відповідь, зокрема, пригнічення вивільнення чи активація вивільнення гістаміну базофілами. Нами встановлено, що максимальна досліджувана концентрація гістаміну спричиняє підвищення вивільнення гістаміну в кров, а трохи нижча концентрація (1 мкМ) справляє антигістамінний ефект, можливо, через знешкодження цього біогенного аміну гістаміназою або сорбцією еозинофілами.

Нами встановлено, що кверцетин у концентрації 0,1 і 5 мМ на фоні дії екзогенного гістаміну в концентрації 10 мкМ зумовлює зростання вмісту гістаміну на 15 і 44 %, порівняно з контролем (рис. 1). Кверцетин у концентрації 0,5 і 3 мМ на тлі дії екзогенного гістаміну (10 мкМ) не змінює вмісту біогенного аміну. Поєднана дія екзогенного гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентраціях 3 мМ і 5 мМ зумовлює підвищення ендogenousного гістаміну в крові щурів на 17 і 31 % відповідно (рис. 1). Сумісна дія екзогенного гістаміну в концентрації 0,01 мкМ на фоні впливу кверцетину в концентрації 0,1 і 0,5 мМ достовірно не змінює вмісту гістаміну у крові щурів. Отже, загалом поєднана дія екзогенного гістаміну і кверцетину переважно веде до підвищення кількості ендogenousного гістаміну в цільній крові щурів. За поєднаної дії кверцетину і гістаміну не зафіксовано провідного впливу того чи іншого чинника у певній концентрації (якщо порівнювати поєднану дію і незалежний вплив). Видається, що відбувається синергетична дія гістаміну і кверцетину, спрямована на посилення вивільнення ендogenousного гістаміну з базофілів крові.

Додавання до крові щурів біофлавоноїду кверцетину в концентрації 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3 і 5 мМ зумовлює значне посилення генерації супероксид-аніон радикала у червоних

кров'яних тільцях на 130, 99, 377, 158, 141 і 445 % відповідно (рис. 2). Отже, кверцетин виступає прооксидантом у цих клітинах, що суперечить загальновідомим твердженням. Варто зазначити, що в науковій літературі є повідомлення про прооксидантні властивості кверцетину. Так, пероральне введення кверцетину (20 мг/кг щурів) викликало зміни окисно-відновного балансу в еритроцитах і статистично значуще зниження кислотної стійкості. Кверцетин, діючи як прооксидант, сприяв посиленому розпаду еритроцитів у кровоносному руслі, що супроводжувалося значним ретикулоцитозом [14].

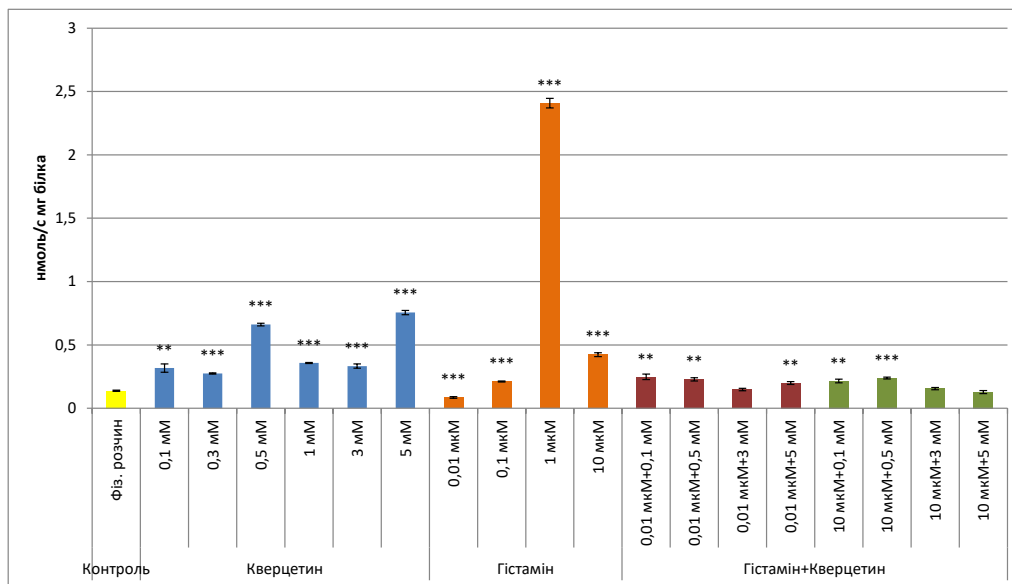


Рис. 2. Вміст супероксид-аніон радикала в еритроцитах крові щурів за дії кверцетину, гістаміну та їхнього поєднаного впливу (** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Підвищення вмісту досліджуваної активної форми Оксигену відбувається за впливу гістаміну в концентрації 0,1; 1 і 10 мкМ на 53, 1638 (у 17 разів), 206 % відповідно (рис. 2). Отже, найбільш інтенсивно зростає вміст супероксид-аніон радикала за дії біогенного аміну в концентрації 1 мкМ. Нижча на два порядки концентрація гістаміну (0,01 мкМ) зумовлює спадання інтенсивності накопичення супероксид-аніон радикала, порівняно з контролем. Ймовірно, гістамін у мінімальній досліджуваній концентрації (0,01 мкМ) виступає протектором вільнорадикальних процесів. Механізм дії гістаміну на еритроцити невідомий. Проте є повідомлення, що гістамін посилює швидкість осідання еритроцитів у вагітних жінок [7].

Нами встановлено, що кверцетин у концентрації 0,1 і 0,5 мМ на фоні дії гістаміну в концентрації 10 мкМ зумовлює зростання вмісту супероксид-аніон радикала на 56 і 73 % (рис. 2). Проте кверцетин у вищих концентраціях 3 і 5 мМ на тлі дії біогенного аміну (10 мкМ) не змінює вмісту супероксид-аніон радикала. Нами виявлено зниження генерації активної форми Оксигену за впливу кверцетину всіх досліджуваних концентрацій і гістаміну в максимальній концентрації, порівняно зі зразками, до яких було додано лише гістамін у відповідній концентрації. Такий ефект є позитивним і свідчить про синергію сполук. Синергізм лікарських речовин – це наслідок дії спільного використання лікарських речовин, що проявляється в сумарній або потенційованій ефекту окремо взятих речовин. Відбувається під час одночасного або послідовного використання лікарських речовин. В осно-

ві синергізму лежить вплив однієї речовини на фармакокінетику та/або фармакодинаміку іншої. Синергізм базується на фармакокінетичній взаємодії ліків, може бути результатом: прискорення всмоктування (наприклад, прискорення всмоктування алкалоїдів у шлунково-кишковому тракті за сукупного використання їх з антацидними ліками); затримки всмоктування; витіснення однієї речовини іншою у зв'язку з білками плазми крові (наприклад, глюкокортикоїдів саліцилатами); збільшення проникності гістогематичних бар'єрів для однієї речовини під впливом іншої (наприклад, хлорпромазин підвищує проникність гематоенцефалічного бар'єру для манітолу); інгібування ферментів, що метаболізують іншу речовину; уповільнення виділення нирками однієї речовини іншою. Синергізм, що ґрунтується на фармакодинамічній взаємодії, може бути результатом незалежної дії речовини на різні функціонально значущі біосубстрати (ферменти, мембранні й цитоплазматичні рецептори, іонофори). Синергізм може бути наслідком дії ліків на одні й ті самі макромолекулярні субстрати клітин. Залежно від збігу або незбігу ділянок макромолекули, з якими взаємодіють ліки, спостерігається адитивний або потенціювальний синергізм. Потенціювальний синергізм широко використовують у клінічній практиці, оскільки він дає змогу досягти терапевтичного ефекту за вживання препаратів у низьких дозах, що комбінуються, у зв'язку з чим знижуються ймовірність і ступінь вираженості побічної дії та ускладнень [5].

Поєднана дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентрації 0,1; 0,5 і 5 мМ зумовлює інтенсифікацію накопичення супероксид-аніон радикала в еритроцитах крові на 80, 65 і 44 % відповідно (рис. 2). Сумісна дія гістаміну як у концентрації 0,01 мкМ, так і у концентрації 10 мкМ на фоні впливу кверцетину в концентрації 3 мМ не зумовлює генерації досліджуваної активної форми кисню. Кверцетин у цій концентрації застосовують у медицині з терапевтичною метою.

Отже, поєднана дія гістаміну і кверцетину інтенсифікує утворення супероксидного аніон-радикала в еритроцитах, крім дії флавоноїда в терапевтичній концентрації (3 мМ).

Провівши експеримент, ми встановили вплив кверцетину, гістаміну на вміст сіалових кислот в еритроцитах крові щурів.

Додавання до крові щурів біофлавоноїда кверцетину в концентрації 0,3; 0,5; 1; 3 і 5 мМ зумовлює значне підвищення вмісту сіалових кислот в еритроцитах на 89, 222, 195, 180, 177 % відповідно, тоді як за концентрації 0,1 мМ показник сіалових кислот є в межах контролю (рис. 3). Підвищення вмісту сіалових кислот є позитивним явищем, оскільки відомо, що сіалові кислоти виконують рецепторну функцію в еритроцитах. Десіалювання призводить до дегенеративних змін у червоних кров'яних тільцях [29]. За приєднання до глікопротеїнів сіалових кислот відповідає сіалілтрансфераза.

Підвищення вмісту сіалових кислот в еритроцитах відбувається за впливу екзогенного гістаміну в концентраціях 0,01 мкМ на 23 %, 0,1 мкМ – на 37 %, 1 мкМ – на 69 %, 10 мкМ – на 77 % (рис. 3). Отже, нами встановлено чітку дозозалежну зміну вмісту сіалових кислот в еритроцитах щурів. Чим вища концентрація гістаміну в цільній крові, тим вищий вміст сіалових кислот в еритроцитах щурів. Якщо порівняти показники впливу кверцетину і гістаміну, то можна виявити, що кверцетин суттєво збільшує вміст сіалових кислот у еритроцитах крові щурів.

Ми не очікували, що гістамін буде справляти протекторний вплив на наявність сіалових кислот. Відомо, що еритроцити відіграють важливу функцію в імунитеті. Еритроцити за допомогою електричного заряду притягують і фіксують бактерії на своїй поверхні. Після цього кисень, що виділяється з оксигемоглобіну, руйнує бактерії [18]. Саме поверх-

невий заряд (негативний) у клітинах, зокрема, і в еритроцитах, створюють сіалові кислоти. Отже, наші дослідження виявили, що підвищений рівень гістаміну справляє позитивний ефект на сіалові кислоти еритроцитів шурів.

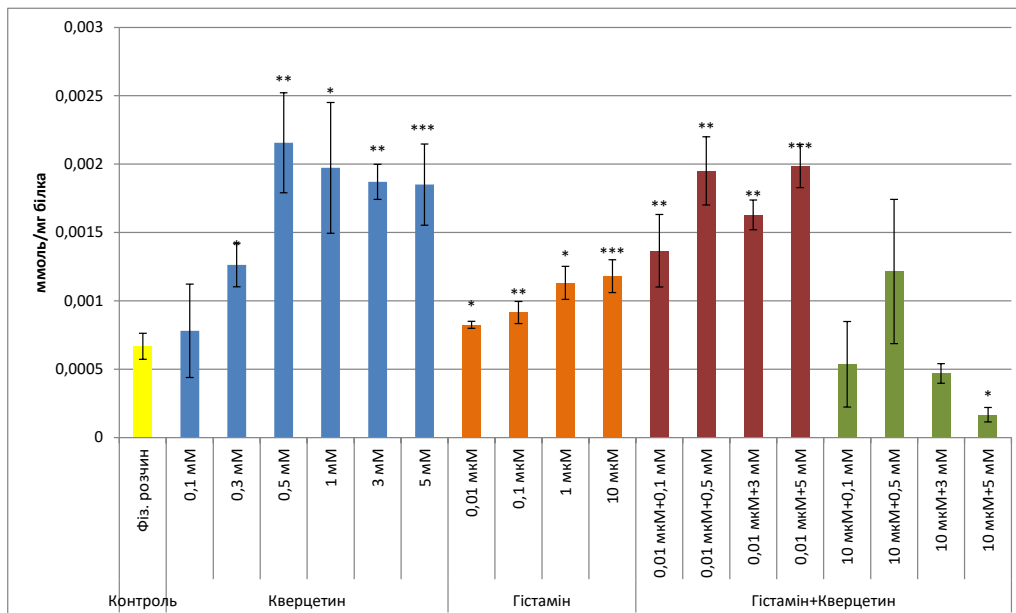


Рис. 3. Вміст сіалових кислот в еритроцитах крові шурів за дії кверцетину, гістаміну та їхнього поєднаного впливу (* – $p \geq 0.95$; ** – $p \geq 0.99$; *** – $p \geq 0.999$)

Ми з'ясували, що за поєднаної дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ відбувається підвищення вмісту сіалових кислот в еритроцитах шурів на 105, 192, 144, 197 % відповідно (рис. 3). Варто зазначити, що за поєднаної дії гістаміну в максимальній досліджуваній концентрації (10 мкМ) та кверцетину лише в концентрації 5 мМ відбувається зниження вмісту сіалових кислот на 75 % у червоних кров'яних тільцях, порівняно з контролем. За інших концентрацій кверцетину в поєднанні з гістаміном (10 мкМ) вміст досліджуваного показника є у межах контролю (рис. 3). Отже, висока концентрація кверцетину (яка є вищою від терапевтичної дози) у комплексі з гістаміном чинить негативний ефект на вміст сіалових кислот в еритроцитах.

Відомо, що зниження вмісту сіалових кислот відбувається за участю сіалідаз (нейрамінідаз Neu1 (лізосомна форма), Neu2 (цитозольна форма), Neu3 (зв'язана з плазматичною мембраною), Neu4 (нейрональна форма) [10]. Отже, в еритроцитах може активуватися Neu2 чи Neu3 сіалідаза за поєднаного впливу гістаміну (10 мкМ) і кверцетину (5 мМ).

Інкубація крові в розчині з кверцетином у концентраціях 0,3; 0,5; 3 мМ зумовлює підвищення вмісту сульфгідрильних груп на 153, 99, 106 % у червоних кров'яних тільцях. Проте додавання до крові кверцетину в концентрації 5 мМ, яка є вищою від терапевтичної, веде до зниження вмісту SH-груп в еритроцитах (рис. 4). Зниження вмісту SH-груп в еритроцитах шурів свідчить про накопичення ковалентних зв'язків за участю цистеїну та метіоніну, а також про окиснення SH-груп [1].

Нами встановлено, що гістамін у низьких концентраціях (0,01; 0,1 мкМ) веде до підвищення вмісту сульфгідрильних груп в еритроцитах на 109 і 117 %, тоді як гістамін у концентрації 1 мкМ зумовлює зниження вмісту SH-груп у досліджуваних клітинах на 69 %

(рис. 4). Гістамін у концентрації 10 мкМ не спричиняє достовірних змін вмісту сульфгідрильних груп.

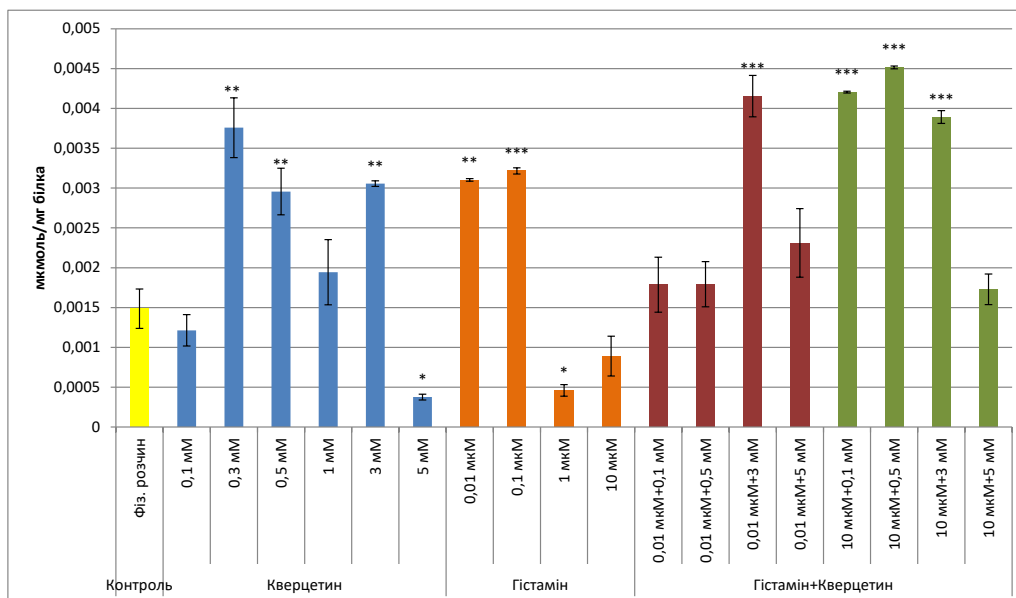


Рис. 4. Вміст сульфгідрильних груп в еритроцитах крові щурів за дії кверцетину, гістаміну та їхнього поєднаного впливу (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Вважаємо, що гістамін чинить опосередкований вплив на вміст сульфгідрильних груп, зокрема, на вільнорадикальні процеси. У той час, як за дії гістаміну в концентрації 1 мкМ відбувається підвищення вмісту супероксид-аніон радикала (показник прооксидантної ланки), вміст сульфгідрильних груп знижується, що свідчить про їхнє окиснення. Відомо, що гістамін діє на нейтрофіли, спричиняючи посилення чи пригнічення вивільнення цими клітинами вільних радикалів. Еритроцити перебувають у середовищі з нейтрофілами, тому можливий вплив вільних радикалів і на еритроцити.

Поєднана дія гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5 і 3 мМ спричинює інтенсифікацію накопичення SH-груп в еритроцитах крові щурів на 183, 204 і 162 % відповідно. За концентрації гістаміну у 10 мкМ і кверцетину 5 мМ вміст сульфгідрильних груп перебуває на рівні контролю (рис. 4). Поєднана дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і біофлавоноїда в концентрації 3 мМ зумовлює підвищення SH-груп на 180 %. Гістамін у концентрації 0,01 мкМ на фоні впливу кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5 та 5 мМ не змінює вмісту сульфгідрильних груп в еритроцитах щурів.

Отже, поєднана дія гістаміну і кверцетину справляє позитивний ефект на вміст сульфгідрильних груп в еритроцитах щурів. SH-групи є у білках, а також і у відновленому глутатіоні, який виконує провідну роль у захисті еритроцитів від оксидативного стресу. Підвищення вмісту сульфгідрильних груп опосередковано свідчить і про підвищення вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах.

Провівши двофакторний дисперсійний аналіз, ми встановили, що частка впливу гістаміну і кверцетину на вміст супероксид-аніон радикала в еритроцитах крові щурів становить 35 і 14 % відповідно (рис. 5). Ці результати дослідження свідчать, що гістамін чинить більш виражений вплив на вміст досліджуваного показника, порівняно з кверцетином.

Значна частка впливу (49 %) припадає на поєднану дію гістаміну і кверцетину (рис. 5), що свідчить про їхній потужний вплив на накопичення супероксид-аніон радикала.

Розраховані частки впливу є високо достовірними. Частка впливу неврахованих чинників дуже низька (2 %). Це дає змогу твердити, що саме гістамін, кверцетин і їхня поєднана дія впливають на генерацію активних форм кисню, зокрема, супероксид-аніон радикал (рис. 5).

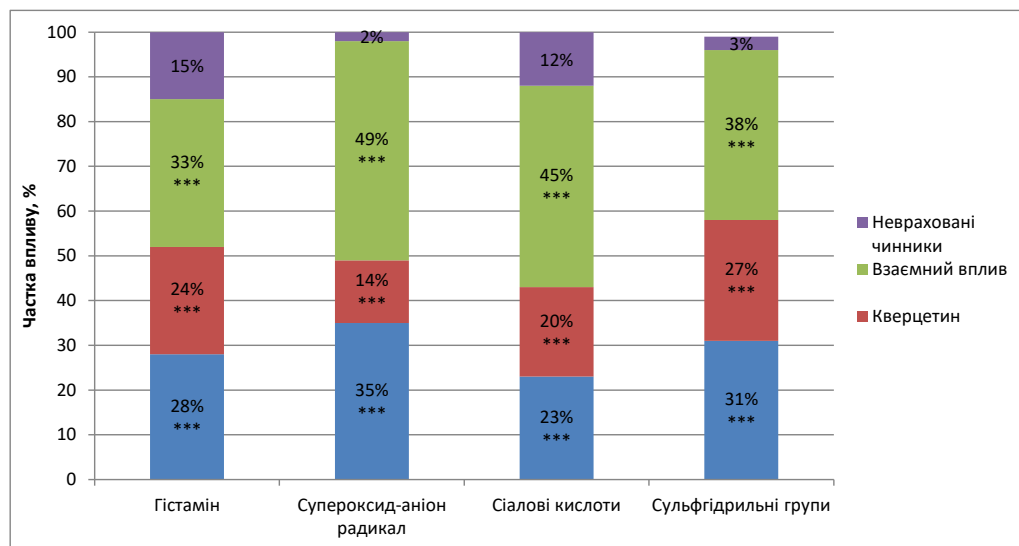


Рис. 5. Результати дисперсійного аналізу впливу гістаміну і кверцетину, а також їхньої поєднаної дії на вміст ендogenous гістаміну в крові, супероксид-аніон радикала, сіалових кислот, сульфгідрильних груп в еритроцитах шурів (***) – $p \geq 0,999$

Нами виявлено, що ступінь впливу гістаміну і кверцетину, а також їхньої поєднаної дії, на вміст ендogenous гістаміну в крові, сіалових кислот, сульфгідрильних груп в еритроцитах приблизно однаковий. Так, частка впливу гістаміну на вміст гістаміну, сіалових кислот, SH-груп становить 28, 23, 31 % відповідно. На частку впливу кверцетину припадає відповідно 24, 20, 27 %. Тоді як частка впливу за поєднаної дії гістаміну і кверцетину становить 33, 45, 38 % відповідно. На невраховані чинники припадає 15, 12, 3 %. Отже, незалежна дія гістаміну і кверцетину спричиняє слабкий вплив на зазначені показники крові й еритроцитів, що свідчить про їхній опосередкований вплив на ендogenous гістамін, сіалові кислоти і сульфгідрильні групи. Більш виражений вплив справляє поєднана дія гістаміну і кверцетину на вміст досліджуваних показників, що підтверджує думку синергії цих двох речовин у крові (рис. 5).

Найбільш суттєвий вплив поєднаної дії гістаміну і кверцетину виявлений на вміст супероксид-аніон радикала і сіалових кислот. У цьому разі можна твердити про безпосередню дію сполук на утворення зазначених показників еритроцитів.

Загалом, аналізуючи поєднаний вплив гістаміну і кверцетину, ми виявили позитивний ефект лише за концентрації біогенного аміну 10 мкМ і флавоноїда 3 мМ (терапевтична концентрація) на вміст ендogenous гістаміну, супероксид-аніон радикала, сіалових кислот, сульфгідрильних груп у крові й еритроцитах, показники яких у переважній більшості сягають контрольних значень.

Нами також досліджено активність ензимів антиоксидантної системи. Встановлено,

що за дії кверцетину в концентрації 0,1; 3; 5 мМ активність каталази знижується на 30, 4, 64 % відповідно, а за концентрації 0,3; 1 мМ відбувається збільшення активності цього ферменту на 19 і 129 % відповідно (рис. 6). Важливо відмітити, що 1 та 3 мМ є терапевтичними концентраціями кверцетину. У тих випадках, коли активність каталази зростає, ми припускаємо, що біофлавоноїд виявляє прооксидантні властивості й підвищується вміст H_2O_2 , а там, де знижується, – пероксид водню перехоплюється кверцетином. У літературі опубліковано відомості, що кверцетин є антиоксидантом [17], і, ймовірно, він стимулює роботу каталази. Також відомо, що кверцетин має високу реакційну здатність, виявляє відновні властивості, чим і пояснюють антиоксидантні властивості цієї сполуки [6]. Проте у наукових працях є повідомлення, що під час модифікації флавоноїдів можуть утворюватися проміжні сполуки зі значною ушкоджувальною здатністю [21].

За впливу гістаміну виявлено зміни в активності каталази, що зумовлено впливом біогенного аміну, ймовірно, на нейтрофіли, які зумовлюють викид активних форм кисню [8]. Залежно від того, які гістамінові рецептори активуються, – будуть проявлятися антиоксидантні або прооксидантні властивості. Отже, гістамін у концентрації 0,1 і 10 мкМ зумовлює зростання активності КАТ на 27 % і 22 % відповідно, а біогенний амін у концентрації 0,01 і 1 мкМ спричиняє зниження активності ферменту на 15 і 7 % відповідно (рис. 6). У науковій статті О. М. Радченка зазначено, що дія гістаміну супроводжується рецепцією усіх типів гістамінорецепторів із розвитком складних клінічних проявів [15]. Ці прояви залежать від кількості вивільненого гістаміну, кількості наявних рецепторів і їхньої спорідненості. Дослідниця А. Распопіна виявила, що в еритроцитах крові самок щурів наявний гістамін, а додавання екзогенного гістаміну спричиняє недостовірне зниження ендогенного гістаміну [16]. Ця інформація є важливою з огляду на те, що гістамін в еритроцитах має виконувати рецепторну функцію, а самі еритроцити можуть відігравати роль депо для цього біогенного аміну.

За одночасного введення гістаміну концентрацією 10 мкМ і кверцетину концентрацією 0,1; 0,5; 3; 5 мМ відбувається значне зростання активності каталази на 93, 154, 63, 115 % відповідно (рис. 6).

Менш інтенсивне зростання активності каталази виявлено за поєднаного впливу гістаміну в мінімальній концентрації (0,01 мкМ) та кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ (на 19, 20, 31, 8 % відповідно; рис. 6).

Ці результати дослідження свідчать, що кверцетин на фоні впливу гістаміну високих концентрацій справляє прооксидантний ефект в еритроцитах крові щурів, тоді як за одночасного впливу кверцетину й гістаміну мінімальної досліджуваної концентрації цей ефект менш виражений. Відомо, що у крові можуть утворюватися метаболіти кверцетину, які мають ушкоджувальні властивості. Відомо також, що під час дії гістамінази (ферменту, який знешкоджує гістамін) утворюються аміноальдегід, NH_3 та H_2O_2 . Крім того, ймовірно, гістамін вступає в реакцію з кверцетином. Сукупність цих тверджень дає змогу припустити наявність явища синергізму за одночасної дії гістаміну і кверцетину у крові щурів.

Отже, поодиноке додавання до крові щурів гістаміну чи кверцетину змінює активність каталази в еритроцитах, проте поєднана дія спричиняє зростання активності досліджуваного ферменту. Це свідчить про наявність значних кількостей пероксиду водню, на який реагує каталаза.

Досліджуючи активність ферментів глутатіонової ланки в еритроцитах щурів, виявили, що кверцетин лише в концентрації 5 мМ спричиняє зростання активності глутатіонпероксидази у 4,7 разу (рис. 7). Підвищення активності цього ферменту свідчить про

зростання вмісту гідропероксидів ліпідів і пероксиду водню в еритроцитах. Поряд із цим, можна зробити висновок, що глутатіонпероксидаза є стійкою до метаболітів кверцетину, тому і не відбувається ушкодження її структури. Відомо, що високу активність глутатіонпероксидази спостерігають у печінці, еритроцитах, середню активність - у легенях і серцевому м'язі, тоді як низьку активність - у м'язах. Спорідненість глутатіонпероксидази до пероксиду водню вища, порівняно з каталазою, тому глутатіонпероксидаза захищає від H_2O_2 низької концентрації. Активність ферменту залежить від кількості утворених пероксидів. Глутатіонпероксидаза за наявності GSH є стійкою до ціаніду, азиду [11]. У плазмі крові щурів кверцетин у концентрації 1 і 5 мМ зумовлює зростання вмісту гідропероксидів ліпідів [3]. Ці результати узгоджуються з нашими дослідженнями.

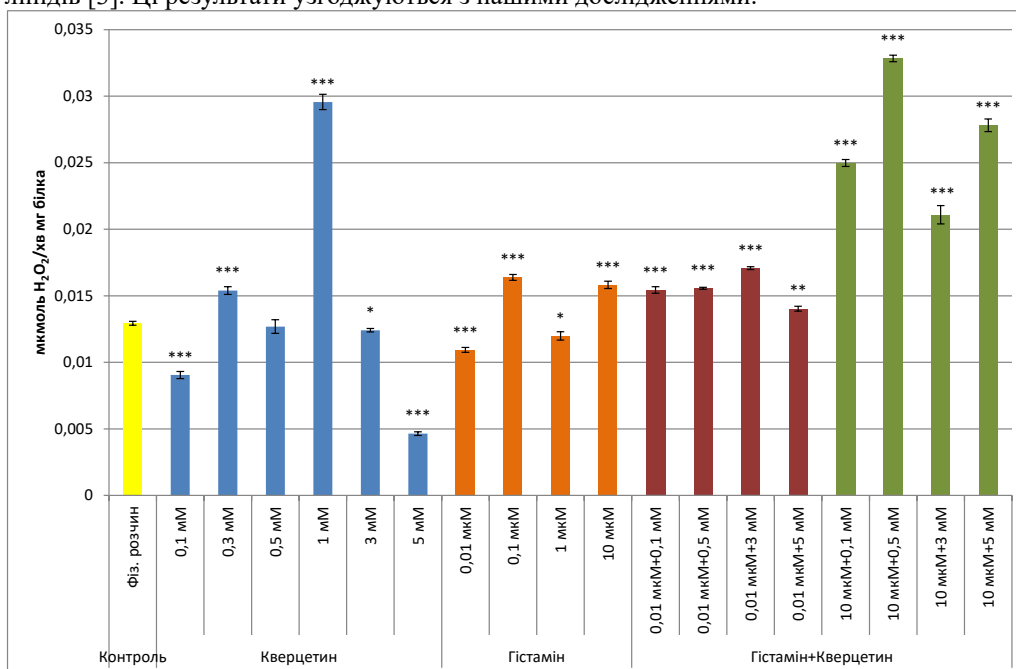


Рис. 6. Активність каталази в еритроцитах крові щурів за впливу кверцетину, гістаміну та їхньої поєднаної дії (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Нами виявлено, що гістамін у концентрації 0,1; 1; 10 мкМ зумовлює значне зростання активності глутатіонпероксидази в 12, 15 і 11 разів відповідно, тоді як біогенний амін у найнижчій досліджуваній концентрації (0,01 мкМ) не спричиняє змін у роботі ферменту (рис. 7). Зростання активності глутатіонпероксидази свідчить про підвищення нею утилізації гідропероксидів ліпідів і пероксиду водню в еритроцитах щурів. У попередній нашій статті [3] зазначено, що гістамін у діапазоні концентрацій 0,01–10 мкМ у плазмі крові спричиняє зростання вмісту гідропероксидів ліпідів.

Поєднана дія гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентрації 3 і 5 мМ зумовлює інтенсифікацію активності глутатіонпероксидази у 3,7 і 5,3 разу відповідно (рис. 7). Одночасне додавання до цільної крові гістаміну зазначеної концентрації та кверцетину в концентрації 0,1 і 0,5 мМ веде до повернення активності глутатіонпероксидази до меж норми. Варто відзначити, що такі зміни відбуваються поряд із зростанням активності каталази (за впливу гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1; 0,5;

3; 5 мМ). Отже, кверцетин у низьких досліджуваних концентраціях на фоні дії гістаміну максимальної експериментальної концентрації позитивно впливає на глутатіонпероксидазу, про що свідчить перебування активності цього ензиму на рівні контролю. Кверцетин у високих концентраціях на фоні впливу гістаміну (10 мМ) зумовлює значне зростання активності як каталази, так і глутатіонпероксидази, що свідчить про наявність високих концентрацій пероксиду водню і утворення гідропероксидів ліпідів.

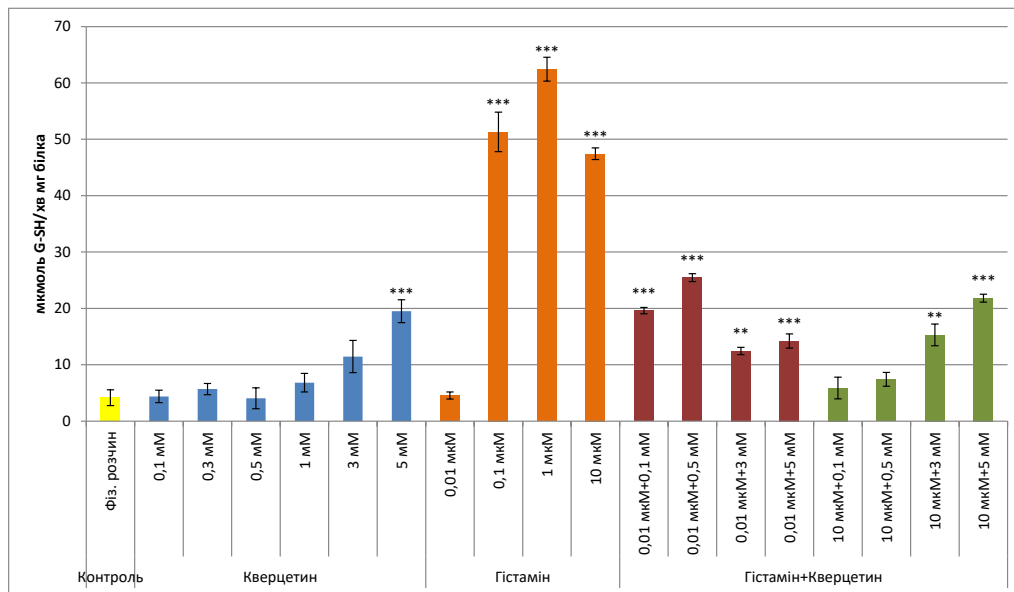


Рис. 7. Активність глутатіонпероксидази в еритроцитах крові щурів за впливу кверцетину, гістаміну та їхньої поєднаної дії (** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

За поєднаного впливу гістаміну в мінімальній концентрації (0,01 мМ) та кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ відбувається зростання активності глутатіонпероксидази на 372, 513, 199, 242 % відповідно (рис. 7). Незалежна дія гістаміну в концентрації 0,01 мМ не зумовлювала змін активності глутатіонпероксидази в еритроцитах щурів, тоді як кверцетин лише в концентрації 5 мМ приводив до підвищення активності цього ферменту. Тому можна зробити висновок, що одночасна наявність гістаміну в низьких концентраціях і кверцетину посилює вільнорадикальні процеси в еритроцитах щурів, на що реагує фермент глутатіонпероксидаза.

Отже, кверцетин лише в концентрації 5 мМ, гістамін у концентрації 0,1; 1; 10 мМ посилюють активність глутатіонпероксидази в гемолізатах еритроцитів щурів. Одночасне додавання до крові гістаміну в концентрації 10 мМ та кверцетину в концентрації 3 і 5 мМ, а також поєднана дія гістаміну в концентрації 0,01 мМ та кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3; 5 мМ зумовлює інтенсифікацію роботи глутатіонпероксидази. За незалежної, а також поєднаної дії гістаміну і кверцетину всіх досліджуваних концентрацій активність глутатіонпероксидази не знижується, що свідчить про нечутливість цього ферменту до досліджуваних речовин, а також і їхніх метаболітів у еритроцитах щурів.

Нами встановлено, що за дії кверцетину в концентрації 0,1 і 0,3 мМ активність глутатіон-S-трансферази перебуває на рівні контролю, а за концентрації 0,5; 1; 3 та 5 мМ відбувається збільшення активності цього ферменту в 14; 13,5; 11,7 і 7,3 рази відповідно (рис. 8).

Важливо відмітити, що кверцетин у концентраціях 1 та 3 мМ є терапевтичним. З літератури відомо, що кверцетин є антиоксидантом [17], і, ймовірно, він стимулює роботу антиоксидантної системи. Також відомо, що кверцетин має високу реакційну здатність, виявляє відновні властивості, чим і пояснюють антиоксидантні властивості цієї сполуки [6]. Отже, високі концентрації кверцетину зумовлюють зростання активності глутатіон-S-трансферази. Таке зростання можна трактувати як захисне явище, оскільки цей фермент знешкоджує лікарські речовини, шкідливі сполуки, ксенобіотики. Тому за наявності у середовищі кверцетину високих концентрацій глутатіон-S-трансфераза знешкоджує його.

Гістамін у концентрації 0,01; 0,1; 1 та 10 мкМ зумовлює зростання активності глутатіон-S-трансферази у 1,9; 4,4; 11 та 14,6 разу (рис. 8). Отже, гістамін дозозалежно суттєво активує роботу даного ферменту. В еритроцитах активність глутатіон-S-трансферази є високою, що пов'язано з захисною функцією. Цей фермент знищує шкідливі речовини, тоді як гістамін знешкоджується гістаміназою у шурів. Тому, ймовірно, активація глутатіон-S-трансферази за дії гістаміну, яка нами зафіксована, відбувається за рахунок утворення метаболітів цього біогенного аміну.

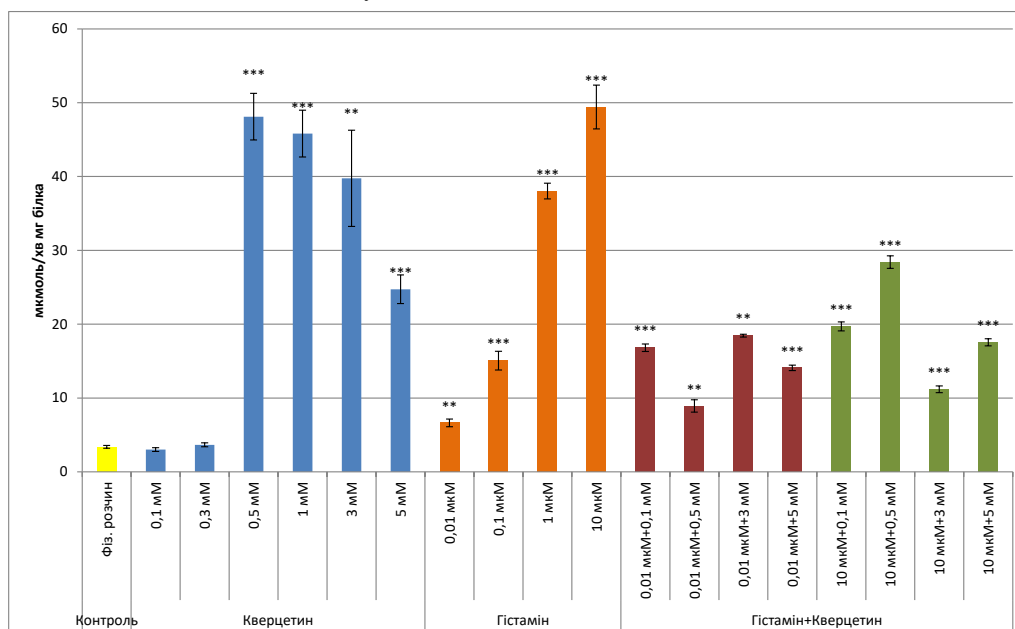


Рис. 8. Активність глутатіон-S-трансферази в еритроцитах крові шурів за впливу кверцетину (** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$)

За одночасного введення гістаміну концентрацією 10 мкМ і кверцетину концентрацією 0,1; 0,5; 3; 5 мМ відбувається суттєве зростання активності глутатіон-S-трансферази на 482, 739, 230 та 418 % відповідно (рис. 8). Порівняно з впливом гістаміну в концентрації 10 мкМ, кверцетин на тлі дії біогенного аміну (у зазначеній концентрації) знижує активність глутатіон-S-трансферази. Найбільш інтенсивне спадання активності ферменту зафіксовано за концентрації кверцетину 3 мМ. Однак таке зниження все ж не досягає меж контролю. Кверцетин у концентрації 3 мМ є терапевтичною дозою.

Менш інтенсивне зростання активності глутатіон-S-трансферази виявлено за поєданого впливу гістаміну в мінімальній концентрації (0,01 мкМ) та кверцетину в концен-

трації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ (на 396 %, 163 %, 445 % та 316 % відповідно) порівняно з контролем (рис. 8). Варто зазначити, що активність глутатіон-S-трансферази за дії гістаміну в концентрації 0,01 мМ зростала тільки на 96 %. Додавання до крові кверцетину на фоні дії гістаміну (зазначеної концентрації) зумовлює більш інтенсивне зростання активності ферменту, що є негативним явищем.

Отже, кверцетин зумовлює зниження активності глутатіон-S-трансферази в еритроцитах крові щурів на фоні дії гістаміну в концентрації 10 мМ порівняно зі зразками, у які вносили тільки гістамін. Поєднаний вплив гістаміну в концентрації 0,01 мМ та кверцетину зумовлює значне зростання активності глутатіон-S-трансферази.

Відомо, що за природою біофлавоноїди є яскраво вираженими антиоксидантами, виявляють цитопротекторний, гепатозахисний, антигіпоксичний та інші ефекти [6]. Тому на тлі дії високих концентрацій гістаміну кверцетин виявляє захисні властивості, й активність глутатіонзалежних ферментів зростає з меншою інтенсивністю.

Провівши дисперсійний аналіз, ми виявили, що гістамін спричиняє значний вплив на активність каталази (68 %), тоді як кверцетин і кверцетин у поєднанні з гістаміном мають слабкий вплив (частка впливу – 10 та 21 % відповідно; рис. 9). Варто відзначити, що на невраховані чинники припадає лише 1 % впливу.

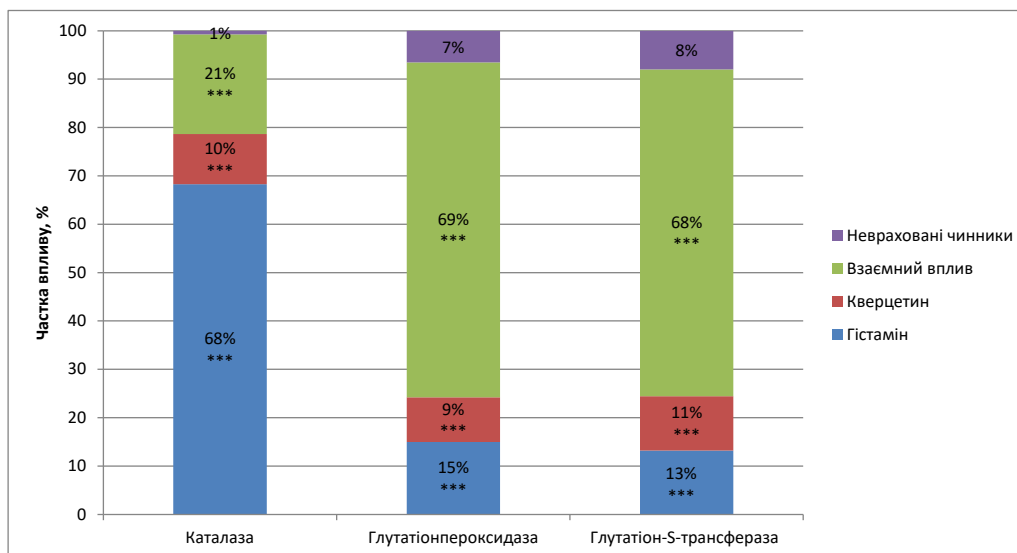


Рис. 9. Результати дисперсійного аналізу впливу гістаміну, кверцетину, а також їхньої поєднаної дії на активність каталази, глутатіонпероксидази та глутатіон-S-трансферази в еритроцитах крові щурів (***) – $p \geq 0,999$

Порівнюючи результати дисперсійного аналізу і результати активності каталази в еритроцитах за впливу досліджуваних сполук, виявили, що гістамін у всіх досліджуваних концентраціях спричиняє зміну роботи ферменту. Проте біогенний амін у концентрації 0,1 та 10 мМ веде до інтенсифікації активності, а в концентрації 0,01 і 1 мМ – до сповільнення активності каталази. Отже, результати дисперсійного аналізу підтвердили нашу думку, що гістамін діє на утворення пероксиду водню і не впливає на структуру каталази в еритроцитах щурів. Значна частка впливу могла би свідчити і про активацію чи уповільнення утворення самого ферменту. Проте в еритроцитах відсутнє ядро, а, відповідно, і біосинтетичний апарат. Тому гістамін в еритроцитах щурів не впливає на біосинтез каталази.

Потужний вплив на активність глутатіонпероксидази виявлено за поєднаної дії кверцетину і гістаміну (частка дії становить 69 %; рис. 9). Відбувається активація роботи глутатіонпероксидази. Отже, сумісна дія активує роботу ферменту в еритроцитах крові щурів. Незначний, проте високостовірний вплив чинить і незалежне додавання до крові кверцетину й гістаміну (частка впливу 9 % і 15 % відповідно).

Значний (68 %) сумісний вплив гістаміну та кверцетину на активність глутатіон-S-трансферази виявлено в еритроцитах крові щурів і слабкий незалежний вплив гістаміну та кверцетину – 13 % і 11 % відповідно (рис. 9). Частка впливу 50 % і більше відсотків свідчить про пряму дію чинника на показник. Тому можна твердити, що поєднане додавання до крові кверцетину і гістаміну зумовлює активацію роботи глутатіон-S-трансферази.

Результати двофакторного аналізу свідчать, що на глутатіонпероксидазу і глутатіон-S-трансферазу в еритроцитах значну дію чинить поєднане додавання до крові гістаміну і кверцетину. Отже, за таких умов утворюються субстрати для глутатіонпероксидази і глутатіон-S-трансферази. Відомо, що субстратами для глутатіонпероксидази є гідропероксиди ліпідів, а також H_2O_2 ; тоді як для глутатіон-S-трансферази – лікарські речовини (зокрема, кверцетин), метаболіти (гістаміну і кверцетину), альдегіди, гідропероксиди. Ймовірно, ці дві речовини за одночасної наявності у крові посилюють свій негативний вплив на прооксидантно-антиоксидантний стан еритроцитів.

Отже, гістамін чинить значний вплив на активність каталази в еритроцитах щурів, тоді як на роботу глутатіонпероксидази і глутатіон-S-трансферази потужно впливає поєднане введення у кров гістаміну і кверцетину.

Таким чином, встановлено, що кверцетин у концентрації 0,1 мМ зумовлює підвищення вмісту гістаміну в цільній крові щурів, тоді як усі інші досліджувані концентрації зумовлюють суттєве зменшення вмісту біогенного аміну. Додавання до крові гістаміну в концентрації 1 мкМ веде до зниження вмісту ендogenousного гістаміну, тоді як у концентрації 10 мкМ – підвищує його вміст. Поєднана дія екзогенного гістаміну і кверцетину підвищує кількість ендogenousного гістаміну. В еритроцитах щурів кверцетин, а також гістамін у концентрації 0,1; 1 і 10 мкМ підвищує вміст супероксид-аніон радикала. За дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ знижується вміст супероксид-аніон радикала. Поєднана дія гістаміну і кверцетину посилює утворення супероксид-аніон радикала в еритроцитах. Додавання до цільної крові кверцетину і гістаміну, а також їхня поєднана дія у переважній більшості спричиняє підвищення вмісту сіалових кислот. Додавання до цільної крові кверцетину та гістаміну в концентрації 0,01; 0,1 мкМ веде до підвищення вмісту SH-груп. Гістамін на фоні дії кверцетину підвищує вміст сульфгідрильних груп. За допомогою дисперсійного аналізу встановлено значний вплив поєднаної дії гістаміну і кверцетину на вміст супероксид-аніон радикала і сіалових кислот.

Кверцетин і гістамін залежно від концентрації змінюють активність каталази в еритроцитах, а їхня поєднана дія зумовлює зростання її активності. Кверцетин лише у концентрації 5 мМ, гістамін у концентрації 0,1; 1; 10 мкМ посилюють активність глутатіонпероксидази. Одночасне додавання до крові гістаміну та кверцетину зумовлює інтенсифікацію роботи глутатіонпероксидази. Кверцетин у концентрації 0,5; 1; 3; 5 мМ та гістамін у концентрації 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ суттєво посилюють активність глутатіон-S-трансферази. Поєднана дія гістаміну та кверцетину зумовлює зростання активності глутатіон-S-трансферази. Гістамін значно впливає на активність каталази, тоді як на активність глутатіонпероксидази і глутатіон-S-трансферази сильну дію спричиняє поєднане введення у кров кверцетину і гістаміну.

Таким чином, поєднана дія гістаміну та кверцетину зумовлює підвищення вмісту

ендогенного біогенного аміну в еритроцитах щурів, приводить до незначного зниження генерації супероксид-аніон радикала, порівняно з незалежною дією цих сполук, хоча показники все ж вищі за контрольні значення, що є позитивним ефектом. Таку тенденцію зафіксовано і щодо активності глутатіон-S-трансферази. Кверцетин на фоні дії гістаміну мінімальної досліджуваної концентрації підвищує вміст сіалових кислот, активність глутатіонпероксидази. Гістамін у максимальній досліджуваній концентрації (10 мкМ) на тлі дії кверцетину унормовує вміст сіалових кислот і активність глутатіонпероксидази (залежно від концентрації кверцетину). Вважаємо, що в подальшому варто повторити ці досліді в умовах *in vivo*. Є ймовірність, що позитивний ефект поєднаної дії гістаміну і кверцетину буде більш виражений, оскільки в організмі працюватимуть системи інактивації сполук, і їхня негативна дія на досліджувані показники буде менш вираженою.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Блохіна О., Короткий О., Кот Л. та ін. Окисна модифікація білків у сироватці крові щурів в умовах карагінан-індукованого запалення задньої кінцівки та тривалого профілактичного введення хондроїтину сульфату // Вісн. Київ. ун-ту. 2018. № 2 (76). С. 62–65.
2. Вороніна Л. М., Десенко В. Ф., Загайко А. Л. Лабораторні та семінарські заняття з біологічної хімії. Харків: НФаУ «Оригінал», 2004. С. 197–199.
3. Гарасим Н., Вербецук М., Боднарчук Н. та ін. Інтенсивність вільнорадикальних процесів у плазмі крові щурів за впливу гістаміну і кверцетину // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2020. Вип. 82. С. 36–52.
4. Денисенко С. В., Костенко В. А. Изменения продукции активных форм кислорода в семенниках белых крыс в условиях хронической интоксикации нитратом натрия // Сучасні проблеми токсикології. 2005. № 4. С. 44–46.
5. Деримедведь Л. В., Перцев И. М., Шуванова Е. В. и др. Взаимодействие лекарств и эффективность фармакотерапии // 2002. Грэхам-Смит Д. Г., Аронсон Дж. К. Оксфордский справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии / пер. с англ. А. Я. Ивлевой. М., 2000. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/533/sinergizm-likarskix-rechovin>.
6. Дутка В., Ковальський Я., Деркач Ю., Панас О. Електронні властивості та будова молекул кверцетину, лютеоліну та морину // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. хім. 2014. Вип. 55. Ч. 2. С. 501–507.
7. Душина Е. Э., Бушкова Е. Н., Дмитриева С. Л. и др. Гистаминореактивность эритроцитов беременных женщин и рожениц, определяемая по скорости оседания эритроцитов, и влияние на нее дидрогестерона // Мед. альманах. 2017. № 6. С. 44–48.
8. Искусных А. Ю., Башарина О. В., Артюхов В. Г., Алабовский А. А. Влияние гистамина на функциональные свойства нейтрофилов и интенсивность процесса пероксидного окисления липидов в крови доноров // Вестн. ВГУ. Сер.: химия, биология, фармация. 2008. № 1. С. 93–96.
9. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.
10. Маслак Г. С., Костюк О. В., Мінченко Д. О. та ін. Сіальованість глікопротеїнів і рівень експресії нейрамінідази NEU1 та сіалілтрансферази ST6GAL1 у лімфоцитах хворих на еритремію // Фізіол. журнал. 2014. Т. 60. № 5. С. 14–22.
11. Матейкович П. А. Глутатионпероксидаза как фермент системы антиоксидантной защиты клеток // Междунар. науч. журнал. 2016. Т. 3. № 6. С. 21–24.

12. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. 1986. № 2. С. 724–727.
13. Морозенко Д. В., Леонтьева Ф. С. Методи дослідження маркерів метаболізму сполучної тканини у сучасній клінічній та експериментальній медицині // Молодий вчений. 2016. № 2 (29). С. 168–172.
14. Новожиллов А. В., Тавровская Т. В., Войтенко Н. Г. и др. Влияние антиоксидантов на состояние эритроцитов крыс в условиях истощающей беговой нагрузки // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. 2013. Т. 99. № 10. С. 1223–1232.
15. Радченко О. М. Гістамін як життєвоважливий універсальний регулятор // Раціональна фармакотерапія. 2017. №4 (45). С. 5–9.
16. Распопина А., Гарасим Н., Зинь А., Санагурський Д. Дія гістаміну на еритроцити щурів // Молодь і поступ біології: зб. тез доповідей XVI Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів, присв. 75-й річниці створення біол. ф-ту Львів. нац. ун-ту ім. І. Франка та 90-й річниці від дня народж. проф. М. П. Деркача (м. Львів, 27–29 квітня 2020 р.). Львів, 2020. С. 18–19.
17. Роговский В. С., Матюшин А. И., Шимановский Н. Л. Перспективы применения препаратов кверцетина для профилактики и лечения атеросклероза // Междунар. мед. журнал. 2011. № 3. С. 114–118.
18. Солошенко Е. М., Кондакова Г. К., Шаповалова О. В. Щодо можливої участі еритроцитів у розвитку імунних реакцій // Дерматологія та венерологія. 2019. № 3 (85). С. 8–12.
19. Фоломеев В. Ф. Фотоколориметрический ультрамикрометод количественного определения сульфгидрильных групп белка и небелковых соединений крови // Лаб. дело. 1981. № 1. С. 33–35.
20. Христич Т. М., Телекі Я. М. До питання про лікування оксидативного стресу при хронічному обструктивному захворюванні легенів у поєднанні з хронічним панкреатитом // Сучасна гастроентерологія. 2006. № 4 (30). С. 80–84.
21. Червяковский Е. М., Власова Т. М., Гилев А. А. та ін. Хроматографический анализ и идентификация основных продуктов окисления кверцетина // Труды Белорус. гос. ун-та. Сер.: физиол., биохим. и молекулярные основы функционирования биосистем. 2006. Т. 1. № 1. С. 159–170.
22. Chung-Chi Yang, Yen-Ling Hung, Hsin-Ju Li et al. Quercetin inhibits histamine-induced calcium influx in human keratinocyte via histamine H4 receptors // Int. Immunopharmacol. 2021. 96. 107620. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107620. Epub 2021 Apr 13.
23. Dharambir Kashyap, Vivek Kumar Garg, Hardeep Singh Tuli et al. Fisetin and Quercetin: Promising Flavonoids with Chemopreventive Potential // Biomolecules. 2019. N 9 (174). doi:10.3390/biom9050174.
24. Guglielmo Duranti, Roberta Ceci, Federica Patrizio et al. Chronic consumption of quercetin reduces erythrocytes oxidative damage: Evaluation at resting and after eccentric exercise in humans // Nutr Res. 2018. N 50. P. 73–81. doi: 10.1016/j.nutres.2017.12.002.
25. Habig W. H., Parst M. J., Jakobv W. B. Glutathione-S-Transferases. The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation // J. Biol. Chem. 1974. Vol. 249 (22). P. 7130–7139.
26. Jiri Mlcek, Tunde Jurikova, Sona Skrovankova. Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response // Molecules. 2016. 21 (623). P. 1–15. doi:10.3390/molecules21050623.
27. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Boil. Chem. 1951. Vol. 193 (1). P. 404–415.
28. Shaik Y. B., Castellani M. L., Perrella A. Role of quercetin (a natural herbal compound) in allergy and inflammation // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. 2006. N 20 (3–4). P. 47–52.

29. Victor Yu. Glanz, Veronika A. Myasoedova, Andrey V. Grechko, Alexander N. Orekhov. Inhibition of sialidase activity as a therapeutic approach // *Drug Design, Development and Therapy*. 2018. N 12. P. 3431–3437.
30. Yoshinori Marunaka, Rie Marunaka, Hongxin Sun. Actions of Quercetin, a Polyphenol, on Blood Pressure // *Molecules*. 2017. Vol. 22 (209). doi:10.3390/molecules22020209.

Стаття надійшла до редакції 19.07.22

доопрацьована 29.09.22

прийнята до друку 02.10.22

CHANGES IN CERTAIN INDICATORS OF RAT BLOOD ERYTHROCYTES UNDER THE INFLUENCE OF HISTAMINE AND QUERCETIN

N. Harasym¹, N. Bodnarchuk¹, V. Otchych¹, O. Kinash¹, N. Melnyk¹, A. Zyn²

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

²Lviv Research Forensic Center of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine
24, Konyushinna St., Lviv 79040, Ukraine

e-mail: garasymnataly@gmail.com; nataliya.harasym@lnu.edu.ua

The influence of histamine and quercetin, as well as their combined effect on the content of histamine in whole blood, the content of the superoxide anion radical, sialic acids, sulfhydryl groups, the activity of catalase, glutathione peroxidase, and glutathione transferase in rat erythrocytes was studied. It was established that quercetin at a concentration of 0.1 mM causes an increase in the content of histamine in the whole blood of rats, while all other studied concentrations cause a significant decrease in the content of biogenic amine. Adding histamine to whole blood at a concentration of 1 μ M leads to a decrease in the content of endogenous histamine in the blood, while at a concentration of 10 μ M, it causes an increase in the content of this biogenic amine. The combined effect of exogenous histamine and quercetin mainly leads to an increase in the amount of endogenous histamine in the whole blood of rats. In rat erythrocytes, quercetin causes the generation of the superoxide anion radical. An increase in the superoxide anion radical content occurs under the influence of histamine at a concentration of 0.1; 1 and 10 μ M, while under the action of biogenic amine 0.01 μ M, the amount of the studied product decreases. The combined effect of histamine and quercetin intensifies the formation of superoxide anion radical in erythrocytes, in addition to the effect of flavonoid in therapeutic concentration. Adding quercetin and histamine to whole blood causes an increase in the content of sialic acids. Such an effect was also found under the combined action of histamine at a concentration of 0.01 μ M and quercetin at a concentration of 0.1; 0.5; 3; 5 mM. The combined effect of histamine at a concentration of 10 μ M and quercetin at a concentration of 5 mM leads to a decrease in the content of sialic acids in erythrocytes. Addition of quercetin to whole blood causes an increase in the content of sulfhydryl groups, except for a concentration of 5 mM, at which the content of this indicator decreases. Histamine in a concentration of 0.01; 0.1 μ M leads to an increase in the content of SH-groups, and at a concentration of 1 μ M – to a decrease. Histamine against the background of exposure to quercetin leads to an increase in the content of sulfhydryl groups. The degree of influence of histamine and quercetin, as well as their combined effect, is the same on the content of endogenous histamine in the blood, sialic acids, sulfhydryl groups in erythrocytes. The independent effect of histamine and quercetin causes a weak effect on the indicated indicators of blood and erythrocytes. The combined effect of histamine

and quercetin on the content of the studied indicators has a more pronounced effect. The most significant effect of the combined effect of histamine and quercetin was found on the content of the superoxide anion radical and sialic acids.

Quercetin in a concentration of 0.1; 3; 5 mM leads to a decrease in catalase activity, while the studied flavonoid, with a concentration of 0.3; 1 mM, leads to an increase in the activity of the studied enzyme. Histamine at a concentration of 0.1 and 10 μ M activates catalase, while biogenic amine (at a concentration of 0.01 and 1 μ M) reduces the activity of the enzyme. The combined action of histamine and quercetin leads to an increase in the activity of catalase in hemolysates of erythrocytes of rats. Quercetin only at a concentration of 5 mM, histamine at a concentration of 0.1; 1; 10 μ M enhances the activity of glutathione peroxidase. Simultaneous addition to the blood of histamine at a concentration of 10 μ M and quercetin at a concentration of 3 and 5 mM, as well as the combined effect of histamine at a concentration of 0.01 μ M and quercetin at a concentration of 0.1; 0.5; 3; 5 mM results in the intensification of glutathione peroxidase. Quercetin at a concentration of 0.1 and 0.3 mM does not change the activity of glutathione-S-transferase, while the studied flavonoid (at a concentration of 0.5; 1; 3; 5 mM) causes a significant increase in the activity of the studied enzyme. Histamine in a concentration of 0.01; 0.1; 1 and 10 μ M significantly dose-dependently activate glutathione-S-transferase. The combined action of histamine, at a concentration of 10 μ M, and quercetin, at a concentration of 0.1; 0.5; 3; 5 mM, leads to a decrease in enzyme activity in rat erythrocyte hemolysates compared to samples to which only histamine was added, but glutathione-S-transferase values did not reach control limits. Compared to the control, the activity of glutathione-S-transferase increases under the simultaneous action of histamine and quercetin. Simultaneous exposure to histamine at a concentration of 0.01 μ M and quercetin causes a significant increase in the activity of glutathione-S-transferase. Histamine has a significant effect on catalase activity in rat erythrocytes, while the combined administration of quercetin and histamine into the blood has a powerful effect on the work of glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase.

Keywords: erythrocytes, histamine, quercetin, catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, superoxide anion radical, sialic acids, sulfhydryl groups

**ВИЩА ВОДЯНА РОСЛИННІСТЬ
ЛЕСОВИХ «ОСТРОВІВ» ЧЕРНІГІВСЬКОГО ПОЛІССЯ**

О. Яковенко

*Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів 14013, Україна
e-mail: ajakov2@gmail.com*

Наведено результати наукових досліджень вищої водної рослинності водних об'єктів лесових «островів» Чернігівського Полісся. На лесових «островах» вища водна рослинність займає невеликі площі (до 6 %). Рослинні угруповання мають типовий для Полісся видовий склад і структуру. Представлено класифікаційну схему, складену на основі еколого-флористичного методу. Встановлено, що вища водна рослинність водних об'єктів лесових «островів» Чернігівського Полісся представлена трьома класами: *Lemnetea*, *Potametea* і *Phragmito-Magnocaricetea*, в межах яких виділено 34 асоціації, що належать до 10 союзів і п'яти порядків. З'ясовано поширення рослинних угруповань і проведено порівняння репрезентативності класів вищої водної рослинності водойм лесових «островів» Чернігівського Полісся. Найбільшою різноманітністю відзначається клас *Phragmito-Magnocaricetea*, за ним ідуть *Lemnetea* і *Potametea*. Угруповання класу *Lemnetea* трапляються переважно на мілководді у водоймах усіх лесових «островів». Рослинність вільноплаваючих водних рослин, що належить до класу *Lemnetea*, найбільше представлена на території Березнянсько-Менсько-Сосницького та Ріпкинсько-Чернігівського лесових «островів». Це пов'язано з густішою гідрологічною мережею на цих лесових «островах». Угруповання класу *Potametea* поширені лише на трьох лесових «островах» Чернігівського Полісся. Михайло-Коцюбинський лесовий «острів» має найменшу площу серед «островів». Його ландшафти є найбільш трансформованими і найменш обводненими, тому угруповань класу *Potametea* тут немає. В умовах підвищеної вологості й високого мінерального живлення розвиваються угруповання багаторічних трав *Phragmito-Magnocaricetea*, насамперед порядку *Magnocaricetalia*. Значне поширення угруповань класу *Phragmito-Magnocaricetea* пов'язане з наявністю сприятливих умов для їхнього розвитку: знижені ділянки заплав, які періодично підтоплюються, прибережні мілководдя зі значним коливанням рівня води протягом вегетації. Проведено порівняння синтаксономічної різноманітності класів вищої водної рослинності й визначено осередки фітоценотичного багатства. Водойми Михайло-Коцюбинського лесового «острова» вирізняються найменшою синтаксономічною різноманітністю і не мають осередків фітоценотичного багатства.

Ключові слова: водойми, вища водна рослинність, лесовий «острів», Полісся, синтаксономія, фітоценотична різноманітність

Трансформація ландшафтів призводить до змін рослинності. Зміна водного режиму та гідрохімічних показників насамперед накладає відбиток на водяну рослинність [3, 5]. Проте, з іншого боку, вища водна рослинність здійснює стабілізуючий вплив на порушені ландшафти [4].

Серед ландшафтів Чернігівського Полісся лесові «острови» є суттєво трансформованими внаслідок інтенсивного сільськогосподарського використання і

високої частки урбанізованих територій. Вплив господарської діяльності на ландшафти супроводжується просторовими змінами рослинності. Загалом ступінь представленості природної рослинності на лесових «островах» невисокий [7].

Результати досліджень вищої водної рослинності територій, прилеглих до лесових «островів» Чернігівського Полісся, висвітлено у монографічних зведеннях [1] та [2]. Проте геоботанічні дослідження гідрологічної мережі власне лесових «островів» не проводилися. Тому нашою метою було з'ясувати синтаксономічний склад і поширення вищої водної рослинності водойм лесових «островів».

Матеріали та методи

В основу аналізу вищої водної рослинності покладено 95 стандартних геоботанічних описів, виконаних автором протягом 2015–2021 рр.

Ідентифікацію угруповань проведено на основі праць Д. В. Дубини та W. Matuszkiewicz [2, 8], а також бази даних «Синтаксономія ...» [5]. Назви синтаксонів наведено за згаданою вище базою [5] та зведенням L. Mucina et al. [9].

Досліджувана територія

Ландшафтні комплекси лесових «островів» у Чернігівському Поліссі трапляються фрагментарно. Водні ландшафтні комплекси займають незначні площі. Це переважно річки, які оточують лесові рівнини, рідше перебувають у їхніх межах. Михайло-Коцюбинський лесовий «острів» має найменшу площу серед «островів». Тут протікають річки Руда і Струга та річка Вереб. У межах Ріпкинсько-Чернігівського лесового «острова» протікає річка Стрижень, а болотний масив «Замглай» розташований по східному краю. Річки Седнівсько-Тупичівського «острова» обходять його по периметру – р. Снов, Крюкова і Замглай. Найбільші площі річок лежать у межах Березнянсько-Менсько-Сосницького лесового «острова» – р. Мена, Дягівка, Красилівка, Ровчак, Майдан, Убідь. До поверхневих вод лесових «островів» належать також озера і ставки. Їхні площі в межах «островів» невеликі (охоплюють до 1–2 % території). Це переважно ставки, утворені на малих річках, і тимчасово заповнені водою западини (блюдця).

Результати і їхнє обговорення

На лесових «островах» Чернігівського Полісся площі, зайняті вищою водною рослинністю, не перевищують 6 %, а на деяких «островах» – менше 2 % (табл. 1).

Таблиця 1

Частка (%) ділянок, зайнятих вищою водною рослинністю (у ранзі класів), стосовно площ загального рослинного покриву лесових «островів» [7]

Клас рослинності	Михайло-Коцюбинський	Ріпкинсько-Чернігівський	Седнівсько-Тупичівський	Березнянсько-Менсько-Сосницький
<i>Lemnetea</i> O. de Bolòs et Masclans 1955	<1	4	1	3
<i>Potametea</i> Klika in Klika et Novák 1941	0	<1	<1	<1
<i>Phragmito-Magnocaricetea</i> Klika in Klika et Novak 1941	<1	1	2	3

У складі вищої водної рослинності водойм лесових «островів» Чернігівського Полісся виділено 34 синтаксони рангу асоціацій, які належать до 10 союзів, 5 порядків і 3 класів. Рослинні угруповання мають типові для Полісся видовий склад і структуру [2].

Синтаксономічний склад рослинності водойм лесових «островів» є таким:

Клас *Lemnetea* O. de Bolòs et Masclans 1955

Порядок *Lemnetalia minoris* O. de Bolòs et Masclans 1955

Союз *Lemnion minoris* R.Tx. 1955

Ас. *Lemnetum minoris* (Oberdorfer 1957) Th. Müller et Görs 1960

Ас. *Lemnetum trisulcae* Den Hartog 1963

Ас. *Callitricho-Lemnetum minoris* Weber 1969

Ас. *Lemno minoris-Spirodeletum polyrrhizae* W.Koch 1954

Союз *Utricularion vulgaris* Passarge 1964

Ас. *Lemno-Utricularietum vulgaris* Soó 1947

Союз *Stratiotion* Den Hartog et Segal 1964

Ас. *Hydrocharitetum morsus-ranae* Van Langendonck 1935

Ас. *Salvinio-Hydrocharitetum* (Oberdorfer 1957) Boşcaiu 1966

Ас. *Ceratophylletum demersi* (Soó) Eggler 1933

Клас *Potamogetonetea* Klika in Klika et Novák 1941

Порядок *Potamogetonetalia* Koch 1926

Союз *Potamogetonion* Libbert 1931

Ас. *Potametum perfoliati* (W.Koch 1926) Passarge 1964

Ас. *Potametum lucentis* Hueck 1931

Ас. *Potametum natantis* Hild 1959

Ас. *Elodeetum canadensis* Eggler 1933

Клас *Phragmito-Magnocaricetea* Klika in Klika et Novák 1941

Порядок *Pragmitetalia* Koch 1926

Союз *Phragmition communis* Koch 1926

Ас. *Phragmitetum australis* (Gams 1927) Schmale 1939

Ас. *Thelypterido palustris-Phragmitetum australis* Kuiper ex van Donselaar et al.

1961

Ас. *Scirpetum lacustris* Schmale 1939

Ас. *Typhetum angustifoliae* (Allorge 1922) Soó 1927

Ас. *Typhetum latifoliae* Soó 1927

Ас. *Glycerietum maximae* Hueck 1931

Ас. *Acoretum calami* Eggler 1933

Ас. *Equisetetum fluviatilis* Steffen 1931

Порядок *Oenanthetalia aquaticae* Hejný ex Balátová-Tuláčková et al. 1993

Союз *Eleocharito palustris-Sagittarion sagittifoliae* Passarge 1964

Ас. *Glycerio fluitantis-Oenanthetum aquaticae* (Eggler 1933) Hejný 1948 em. 1978

Ас. *Oenanthe aquaticae-Rorippetum amphibiae* Lohmeyer 1950

Ас. *Butomo-Alismetum plantaginis-aquaticae* Slavnić 1948

Ас. *Eleocharitetum palustris* Ubrizsy 1948

Ас. *Butometum umbellati* (Konczak 1963) Philippi 1973

Ас. *Butomo-Sagittarietum sagittifoliae* Losev in Losev et V. Golub 1988

Порядок *Magnocaricetalia* Pignatti 1953

Союз *Magnocaricion elatae* Koch 1926

Ас. *Caricetum rostratae* Rübel 1912

Союз *Carici-Rumicion hydrolapathi* Passarge 1964

Ас. *Cicuto-Caricetum pseudocyperis* Boer et Sissingh in Boer 1942

- Союз *Phalaridion arundinaceae* Kopecký 1961
Ас. *Phalaridetum arundinaceae* (Koch 1926) Lib. 1931
Союз *Magnocaricion gracilis* Géhu 1961
Ас. *Caricetum ripariae* Soó 1928
Ас. *Caricetum acutiformis* Sauer 1937
Ас. *Caricetum gracilis* Almquist 1929
Ас. *Caricetum vesicariae* Br.-Bl. et Denis 1926
Ас. *Caricetum vulpinae* Nowiński 1928.

Рослинність вільноплаваючих водних рослин, що належить до класу *Lemnetea*, найбільше представлена на території Березнянсько-Менсько-Сосницького та Ріпкинсько-Чернігівського лесових «островів». Це пов'язано з більш розвинутою гідрологічною мережею на цих лесових «островах». В умовах значного зволоження і високої родючості ґрунтів розвиваються угруповання багаторічних трав *Phragmito-Magnocaricetea*. Вони трапляються в комплексі з заболоченими угрупованнями чагарників (*Salicetea purpureae* Moor 1958) і дерев (*Alnetea glutinosae* Br.-Bl. et R.Tx. 1943). Такі комплекси найкраще представлені у заплавах річок та в інших зниженнях рельєфу в Березнянсько-Менсько-Сосницькому та Ріпкинсько-Чернігівському лесових «островах», часто формуються в місцях суфозій [7].

Угруповання класу *Lemnetea* часто трапляються на мілководді непротічних або слабкопротічних замкнутих водойм усіх лесових «островів». У межах класу виділено 1 порядок, 3 союзи і 8 асоціацій.

У межах лесових «островів» Чернігівського Полісся угруповання асоціації *Lemnetum minoris* трапляються повсюдно на прибережних мілководдях (зазвичай до 0,5–1 м глибини), в озерах, на заболочених ділянках і у ставках. У межах Ріпкинсько-Чернігівського лесового «острова» на водосховищі р. Стрижень (околиці села Роїще) трапляється і на більших глибинах (до 200 см). Як і попередня асоціація, угруповання ас. *Lemnetum trisulcae* трапляються у водоймах усіх лесових «островів». Найбільші площі вони займають у водоймах Березнянсько-Менсько-Сосницького лесового «острова». Це пов'язано не лише з великими площами водного покриття, а й з інтенсивнішим використанням території в сільському господарстві.

Угруповання асоціації *Callitricho-Lemnetum minoris* трапляються переважно у прибережній зоні річки Крюкова (Седнівсько-Тупичівський лесовий «острів») у місцях із товщею води до 50 см. Угруповання асоціації *Lemno minoris-Spirodeletum polyrrhizae* поширені в озерах річок Стрижень (Ріпкинсько-Чернігівський лесовий «острів»), Дягова, Мена (Березнянсько-Менсько-Сосницький), занедбаних меліоративних каналах (Седнівсько-Тупичівський лесовий «острів»). Асоціація *Lemno-Utricularietum vulgaris* у водоймах території дослідження трапляється зрідка, що може вказувати на негативні зміни гідрорежиму внаслідок антропогенного впливу на лесові «острови» Чернігівського Полісся. Асоціацію нами зафіксовано лише у двох описах на річці Крюкова.

У межах союзу *Stratotion* на лесових «островах» трапляються угруповання трьох асоціацій. *Hydrocharitetum morsus-ranae* часто трапляється у водоймах різних типів на всіх лесових «островах», формуючи вузькі смуги на прибережному мілководді. Найчастіше на угруповання можна натрапити в меліоративних каналах Замглаю, річки Мена, на прибережних ділянках річок Дяговка, Стрижень, заплавлених озер р. Снов. Очевидно, що поширеність цього угруповання пов'язана з підвищенням концентрації біогенних сполук у водоймах лесових «островів». Асоціацію *Salvinio-Hydrocharitetum* на території дослідження нами описано в межах Ріпкинсько-Чернігівського лесового «острова» у слабопроточних

водоймах, що добре прогриваються, зі слабкокислою реакцією середовища (у ставках на річці Стрижень). Угруповання ас. *Ceratophylletum demersi* поширені у прибережній зоні слабопроточних евтрофних водойм зі слаболужною чи нейтральною реакцією середовища. Зазначені водойми трапляються переважно в межах або поблизу населених пунктів (річки Снов, Мена, Дягова, Стрижень, Руда).

Угруповання класу *Potametea* на території лесових «островів» Чернігівського Полісся переважно поширені у центральній частині природних і штучних водойм – у місцях із глибиною води 0,3–2,5 м.

Порядок *Potametalia* у рослинності водойм представлений 1 союзом та 4 асоціаціями. Угруповання асоціації *Potametum perfoliati* ми описали у водоймах Березнянсько-Менсько-Сосницького лесового «острова» (річки Убідь, Красилівка) на мезоевтрофних і евтрофних ділянках, у ставках. Угруповання асоціації *Potametum natantis* займають ділянки евтрофних водойм завглибшки 60–80 см. Трапляються у водоймах Березнянсько-Менсько-Сосницького (р. Мена, Дягова, Убідь), Седнівсько-Тупичівського (р. Крюкова, Снов) і Ріпкинсько-Чернігівського (р. Стрижень) лесових «островів». Асоціація *Potametum lucentis* представлена фрагментарними заростями у водоймах р. Стрижень. Угруповання асоціації *Elodeetum canadensis* траплялися нам у межах Ріпкинсько-Чернігівського (р. Стрижень) і Березнянсько-Менсько-Сосницького (річки Убідь, Дяговка, Красилівка). Переважні умови оселищ (ставки, канали) – місця з мулистими донними відкладами завглибшки 0,2–0,8 м.

Клас *Phragmito-Magnocaricetea* представлений угрупованнями, які локалізуються на прибережному мілководді водойм різного типу, а іноді й у центральних зонах. У межах лесових «островів» Чернігівського Полісся він об'єднує 3 порядки, 6 союзів і 22 асоціації. Зазначений клас характеризується найбільшою ценорізноманітністю. Це пов'язано з наявністю сприятливих умов для розвитку його угруповань: знижені ділянки заплав, які періодично підтоплюються, прибережні мілководдя зі значним коливанням рівня води протягом вегетації.

Порядок *Pragmitetalia* представлений союзом *Phragmition communis*, що налічує 8 асоціацій. Найбільшою територіальною поширеністю характеризується асоціація *Phragmitetum australis*. Угруповання цієї асоціації утворюють значні зарості вздовж прибережних смуг річок лесових «островів». Характерні також для заростаючих ділянок русла, штучних водойм і каналів. Асоціація *Thelypterido palustris-Phragmitetum australis* приурочена до заболочених тривалозаливних прируслових ділянок водотоків і характерна для заводі річки Крюкова Седнівсько-Тупичівського лесового «острова». Угруповання *Typhetum angustifoliae* також є досить звичайними, але представлені менше. Трапляються на мілководді прибережних ділянок русел річок Стрижень, Дяговка і меліоративних каналів р. Мена. Асоціація *Typhetum latifoliae* трапляється спорадично, переважно в межах Седнівсько-Тупичівського лесового «острова». Характерні для мілководних заболочених прибережних ділянок р. Замглай. Угруповання *Scirpetum lacustris* у водоймах лесових «островів» не мають значного поширення. Характерні для мілководних ділянок русел річок Стрижень і Красилівка. Асоціація *Acoretum calami* має незначне поширення. Її угруповання трапляються на мілководді евтрофних слабопроточних водойм (річки Крюкова, Убідь, Стрижень). Асоціація *Glycerietum maximae* представлена угрупованнями, що переважно мають вигляд смуг на мілководдях мезоевтрофних і евтрофних водойм (річки Замглай, Крюкова, Мена). Угруповання асоціації *Equisetetum fluviatilis* трапляються спорадично, переважно по заболочених ділянках русел річок Замглай і Крюкова.

Порядок *Oenanthetalia aquaticae* об'єднує угруповання 1 союзу (*Eleocharito palustris-Sagittarion sagittifoliae*) та 6 асоціацій. Це угруповання повітряно-водяних і болотяних

видів на новоутворених мілководних ділянках. Угрупування асоціації *Glycerio fluitantis-Oenanthetum aquaticae* фрагментарно трапляються на прибережному мілководді р. Убідь. Асоціація *Oenantho aquaticae-Rorippetum amphibiae* в межах лесових «островів» Чернігівського Полісся трапляється рідко і характерна для мілководдя водойм басейну річки Мена та пересихаючих ділянок річки Убідь (Березнянсько-Менсько-Сосницький лесовий «острів»). Угрупування асоціації *Butometum umbellati* поширені у слабопроточних евтрофних водоймах із товщею води до 50 см. Виявлені у водоймах Березнянсько-Менсько-Сосницького лесового «острова» (річки Дягівка, Убідь). Асоціація *Butomo-Alismetum plantaginis-aquaticae* трапляється на мілководних ділянках русел річок Руда, Струга, Дягівка, Мена, Стрижень, які часто пересихають. Асоціація *Eleocharitetum palustris* характерна для прибережних смуг річок Крюкова і Замглай на тривалозаливних ділянках із незначною товщею води. Угрупування асоціації *Butomo-Sagittarietum sagittifoliae* фрагментарно трапляються у прибережній зоні ставків Березнянсько-Менсько-Сосницького лесового «острова», на прибережному мілководді річок Дягівка, Убідь, Майдан.

Порядок *Magnocaricetalia* в межах водойм лесових «островів» Чернігівського Полісся представлений 4 союзами: *Magnocaricion*, *Carici-Rumicion hydrolapathi*, *Magnocaricion gracilis* і *Phalaridion arundinaceae*. Асоціації перших 3 союзів (асс. *Caricetum rostratae*, *Cicuto-Caricetum pseudocyperi*, *Caricetum ripariae*, *Caricetum acutiformis*, *Caricetum gracilis*, *Caricetum vesicariae*, *Caricetum vulpinae*) трапляються переважно у тривалозаливних зниженнях р. Замглай (Седнівсько-Тупичівський лесовий «острів») і на ділянках із торф'яно-болотними ґрунтами болота Замглай (східні околиці Ріпкинсько-Чернігівського лесового «острова»). Угрупування ж асоціації *Phalaridetum arundinaceae* (союз *Phalaridion arundinaceae*) характерні для ділянок водойм Березнянсько-Менсько-Сосницького лесового «острова» з торф'яно-болотними й лучно-болотними ґрунтами і близьким заляганням ґрунтових вод (р. Мена, Майдан).

Синтаксономічне багатство класів вищої водної рослинності лесових «островів» різниться (табл. 2).

Таблиця 2

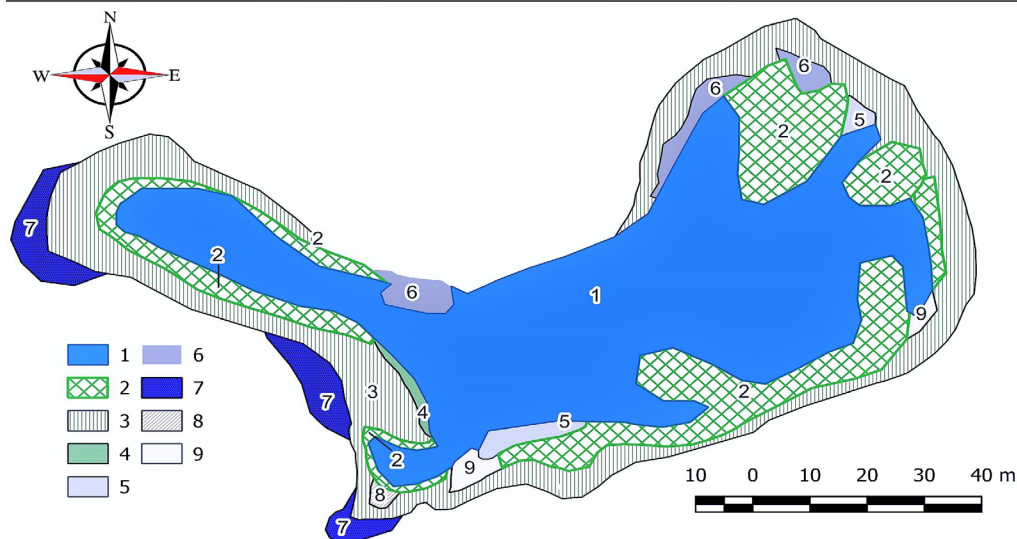
Синтаксономічна різноманітність класів вищої водної рослинності
(кількість асоціацій)

Клас рослинності	Михайло-Коцюбинський	Ріпкинсько-Чернігівський	Седнівсько-Тупичівський	Березнянсько-Менсько-Сосницький
<i>Lemnetea</i>	5	6	8	6
<i>Potametea</i>	0	3	1	4
<i>Phragmito-Magnocaricetea</i>	2	15	14	12
<i>Всього</i>	7	24	23	22

Найменшу кількість асоціацій вищої водної рослинності спостерігаємо у водоймах Михайло-Коцюбинського лесового «острова». Для решти ж трьох лесових «островів» кількість асоціацій приблизно однакова (23 ± 1 асоціація). Причина в тому, що ландшафти Михайло-Коцюбинського лесового «острова» є найбільш трансформованими [6].

Для лесових «островів» Чернігівського Полісся, водойми яких мають більшу синтаксономічну різноманітність, визначені як осередки фітоценотичного багатства вищої водної рослинності водойми басейну річки Мена (див. рисунок), заболочені ділянки русел річок Замглай і Крюкова та водосховища р. Стрижень.

Незначне поширення мають угруповання *Lemno-Utricularietum vulgaris*, *Salvinio-Hydrocharitetum*, *Scirpetum lacustris*, *Acoretum calami*, *Oenantho aquaticae-Rorippetum amphibiae*, які й характерні переважно для осередків фітоценотичного багатства.



Карта поширення асоціацій вищої водяної рослинності у водоймі в околицях с. Данилівка, басейн р. Мена: 1 – відкрита водна поверхня; 2 – *Lemnetum minoris*; 3 – *Phragmitetum australis*; 4 – *Lemno minoris-Spirodeletum polyrrhizae*; 5 – *Ceratophylletum demersi*; 6 – *Typhetum angustifoliae*; 7 – *Glycerietum maximae*; 8 – *Butomo-Alismetum plantaginis-aquaticae*; 9 – *Oenanthe aquatica-Rorippetum amphibiae*

Угрупування вищої водяної рослинності водойм лесових «островів» Чернігівського Полісся представлено 34 асоціаціями, які належать до 10 союзів, 5 порядків і 3 класів. Спостерігається значна ценозіноманітність *Phragmito-Magnocaricetea*, що зумовлено ширшою екологічною варіабельністю представників класу, які можуть витримувати характерні для водних об'єктів лесових «островів» Чернігівського Полісся коливання рівня води, ґрунтового і водне засолення. Більшість асоціацій класу *Lemnetea* поширена у водоймах усіх лесових «островів». Зрідка трапляється лише асоціація *Lemno-Utricularietum vulgaris*, видовий склад якої чутливий до антропогенних змін гідрорежиму. Угрупування класу *Potametea* представлені лише чотирма асоціаціями. Це пояснюється незначною кількістю водойм зі сприятливими умовами (зокрема, рівень води) для формування фітоценозів цього класу.

Межування Ріпкинсько-Чернігівського і Седнівсько-Тупичівського лесових «островів» із болотним масивом Замглай обумовлює багатство і подібність синтаксономічного складу їхньої вищої водяної рослинності. На території цих двох «островів» і Березнянсько-Менсько-Сосницького виявлено осередки фітоценотичного багатства. Водойми Михайло-Коцюбинського лесового «острова» вирізняються найменшою кількістю асоціацій (лише 7). Це пов'язано зі сильнішим антропогенним впливом на них і меншим обводненням ландшафтів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Анищенко Л. Н., Булохов А. Д., Дайнеко Н. М. и др. Прибрежно-водная растительность приграничных территорий Брянской (Россия), Гомельской (Беларусь) и Черниговской (Украина) областей. Чернигов: Десна Полиграф, 2014. 176 с.
2. Дубина Д. В. Вища водна рослинність. К.: Фітосоціоцентр, 2006. 412 с.

3. *Клименко О. М.* Вища водна рослинність як індикатор екологічного стану гідроєко-системи (на прикладі річки Вижівка) // Вісн. НУВГП. Сільськогосподарські науки: зб. наук. пр. Рівне: НУВГП, 2020. Вип. 2(90). С. 72–82.
4. *Климчик О. М.* Вплив територій сільськогосподарського використання на якість природних вод. Сучасний стан і перспективи ефективного використання земельних ресурсів Полісся: зб. статей наук-практ. конф. (м. Житомир, 19 травня 2018 р.). Житомир: Вид-во ЕЦ «Укрекобіокон», 2018. С.62–66
5. Синтаксономія рослинності України. Український геоботанічний сайт: веб-сайт. URL: <http://geobot.org.ua/syntaxonomy/>
6. *Яковенко А.* Антропогенная трансформация ландшафтов лессовых «островов» Черниговского Полесья. Природное асыроддзє Палесья: асаблівасці і перспективы развіцця: зб. наук. прац VIII Міжнар. наук. канф. (г. Брэст, 12–14 верасня 2018 г.). Брэст, 2018. С. 113–115.
7. *Lukash O., Yakovenko O., Miroshnyk I.* The mechanical degradation of land surface and the present state of the loess “islands” plant cover of Chernihiv Polesie (Ukraine) // Ecological Questions [online]. 2018. Vol. 29. # 4. P. 23–34. <https://doi.org/10.12775/EQ.2018.026>
8. *Matuszkiewicz W.* Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski. Warszawa: Wyd-wo PWN, 2001. 536 p.
9. *Mucina L., Bültmann H., Dierßen K.* et al. Vegetation of Europe: hierarchical floristic classification system of vascular plant, bryophyte, lichen, and algal communities // Applied Vegetation Science. 2016. Vol. 19. P. 3–264. <https://doi.org/10.1111/avsc.12257>

Стаття надійшла до редакції 05.07.22

доопрацьована 13.09.22

прийнята до друку 27.09.22

THE HIGHER WATER VEGETATION OF LOESS «ISLANDS» OF CHERNIHIV POLISSIA

O. Yakovenko

*T. Shevchenko National University “Chernihiv Collegium”
53, Hetman Polubotko St., Chernihiv14013, Ukraine
e-mail: ajakov2@gmail.com*

The results of research on the higher aquatic vegetation of the water bodies of the loess «islands» in Chernihiv Polissia are presented. Higher aquatic vegetation occupies small areas (up to 6 %) on loess «islands». The plant communities have been identified. Plant communities have typical species composition and structure for Polissia vegetation. The classification scheme of plant syntaxons is based on the floristic-ecological approach. It was established that the higher aquatic vegetation of the loess «islands» reservoirs is represented by three classes: *Lemnetea*, *Potametea* and *Phragmito-Magnocaricetea*, belonging to five orders, 10 unions and 34 associations. The distribution of plant communities was clarified. The comparison of the higher aquatic vegetation classes representation of the loess «islands» water bodies in the Chernihiv Polissia was carried out. The greatest phytocenotic richness and diversity is noted in the *Phragmito-Magnocaricetea* class, while the least is observed in the *Lemnetea* and *Potametea* classes. The *Lemnetea* class communities occur mainly in shallow water in the water bodies of all loess «islands». The vegetation of free-flowing aquatic plants belonging to the *Lemnetea* class is mostly represented on the territory of

the Berezna-Mena-Sosnytsia and Ripky-Chernihiv loess «islands». This is due to the larger hydrological network on these loess «islands». The *Potametea* class communities are distributed only on three loess «islands» of the Chernihiv Polissia. Mykhailo-Kotsyubinsky loess «island» has the smallest area among the «islands», the most transformed landscapes and a small number of water bodies. Therefore, there are no *Potametea* class communities here. In conditions of high humidity and high mineral nutrition, the communities of the *Phragmito-Magnocaricetea* perennial herbs develops, first of all, of the *Magnocaricetalia* order. The significant distribution of *Phragmito-Magnocaricetea* communities is due to the presence of favorable conditions for their development: low-lying areas of floodplains that are periodically flooded, coastal shallows with significant fluctuations in the water level during the growing season. A comparison of the syntaxonomic diversity of the higher aquatic vegetation classes was carried out. The centers of phytocenotic richness were determined. The reservoirs of the Mykhailo-Kotsyubinsky loess «island» are characterized by the least syntaxonomic diversity. There are no centers of phytocenotic opulence here.

Keywords: aquatic vegetation, syntaxonomy, phytocenotic diversity, water bodies, loess «islands», Polissia

РІЗНОМАНІТТЯ *Ppd-1* ГЕНОТИПІВ СОРТІВ ЯРОЇ ТА ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) УКРАЇНИ

В. Файт, І. Балашова

Селекційно-генетичний інститут
Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення
Овідіопольська дорога, 3, Одеса 65036, Україна
e-mail: faygen@ukr.net, ibalashova@ukr.net

Охарактеризовані за алелями генів *Ppd-D1*, *Ppd-B1* і *Ppd-A1* стародавні й сучасні 183 сорти озимого та 23 ярого типу розвитку пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.) селекції українських державних установ і приватних компаній. Для ідентифікації носіїв алелів *Ppd-D1a*, *Ppd-D1b*, *Ppd-D1c*, *Ppd-D1d*, *Ppd-B1a*, *Ppd-B1c*, *Ppd-A1b* застосовували запропоновані у науковій літературі відомі алель специфічні молекулярні маркери. За результатами ПЛІР-аналізу найбільше поширення серед досліджених озимих сортів спостерігали у домінантного алеля *Ppd-D1a* (91,9 %) з варіюванням від 80,0 % у вибірці сортів Північного Сходу (Харків, Суми) до 95,0 % у південних сортів (Одеса, Херсон), а у ярих – рецесивного *Ppd-D1c* (43,5 %). Частка носіїв різних рецесивних алелів гена *Ppd-D1* серед ярих сортів сягає 73,9 %, а серед озимих – 8,1 % та, за винятком сортів Боровиця і Талісман, складається зі сортів, що створені до кінця 60-х – початку 70-х років минулого сторіччя. Частоти алелів *Ppd-B1a* і *Ppd-B1c* досить малі. Алель *Ppd-B1a* виявлений тільки у 3 ярих, а алель *Ppd-B1c* – у 5 озимих і ярого сорту Струна миронівська та, за винятком останнього, у всіх випадках разом з алелем *Ppd-D1a*. Ген *Ppd-A1* у всіх досліджених сортів наявний у рецесивному стані.

У досліджуваних сортів ідентифіковано сім різних гомозиготних *Ppd-1* генотипів. Вибірki озимих і ярих сортів суттєво різняться за кількістю і частотами певних *Ppd-1* генотипів. У ярих виявлено сорти з моногенно домінантним *Ppd-D1a* або *Ppd-B1c* контролем ознаки і дигенно домінантні *Ppd-D1a Ppd-B1a* генотипи, а у озимих – моногенно домінантні за *Ppd-D1a* і дигенно домінантні за *Ppd-D1a Ppd-B1c* генотипи. У ярих сортів більша у кілька разів, ніж у озимих, частка сортів – носіїв рецесивних алелів генів *Ppd-1* (69,6 %), а у вибірці озимих сортів, навпаки, – домінантних алелів (91,9 %). Такі відмінності частот генотипів зумовлені строками сівби і тривалістю природного дня на широті регіону вирощування під час вегетації озимих та ярих сортів.

Ключові слова: озима м'яка пшениця, фотоперіод, *Ppd-1* гени, генотип

Фотоперіодизм – реакція організмів на співвідношення світлого (тривалість дня) і темного (тривалість ночі) періодів доби, що має своє відображення у зміні процесів росту й розвитку відповідно до зміни комплексу сезонних умов клімату. Багато видів злаків, у тому числі пшениця м'яка, реагують на зміну тривалості дня прискоренням або затримкою розвитку. Сорти озимої та ярої пшениці можуть бути фотоперіод чутливими або фотоперіод нечутливими. Сорти, нечутливі до фотоперіоду, рано колосяться в умовах як скороченого, так і подовженого дня, на відміну від чутливих до фотоперіоду сортів, які затримують розвиток в умовах скороченого дня і потребують подовженого дня протягом тривалого часу для колосіння [25, 46]. Час колосіння у озимої пшениці безпосередньо

впливає на її здатність до адаптації та пов'язаний із формуванням урожаю зерна і його компонентів [43]. Вплив часу колосіння як чинника адаптації багато в чому залежить від регіональних кліматичних умов. Раннє колосіння сприяє більш ефективному використанню запасів вологи ранньою весною [8], униканню високих температур і посухи під час наливу зерна [12, 28], а в окремих випадках – ураження збудниками хвороб грибної етіології [44]. Навпаки, у регіонах із відносно вологим прохолодним літом пізнє колосіння буде сприяти максимальному урожаю [29, 47].

Реакція на фотоперіод рослин м'якої пшениці, в основному, контролюється генами ортологічної серії *Ppd-1*: *Ppd-D1*, *Ppd-B1* і *Ppd-A1*, що локалізовані на коротких плечах хромосом 2-ї гомологічної групи [38]. При цьому домінантні алелі генів *Ppd-1* зумовлюють нечутливість, а рецесивні – навпаки, сильну чутливість до тривалості дня. Розробка алель специфічних ДНК-маркерів дала змогу ефективно виявляти широкі алельні варіації, наявні серед генів *Ppd-1*. У наш час ідентифіковано щонайменше п'ять різних алелів гена *Ppd-A1*, чотири з яких *Ppd-A1a.1*, *Ppd-A1a.2*, *Ppd-A1a.3*, *Ppd-A1a.4* зумовлюють нечутливість до фотоперіоду і характеризуються наявністю делеції розміром 1085 п.н. або 1027 п.н., або 1117 п.н., або 680 п.н. відповідно, у промоторній області [35, 36, 45]. При цьому тільки перший із них притаманний генотипам м'якої пшениці. Рецесивний алель *Ppd-A1b* подібних делецій не має. Аналогічним чином шість різних алелів гена *Ppd-B1* було ідентифіковано, що пов'язані з CNV мутаціями, які зумовлюють збільшення кількості копій функціонального гена й інсерцією в промоторній області. Відомі домінантні дво-, три- та чотирикopiesні форми гена *Ppd-B1*, позначені як *Ppd-B1d*, *Ppd-B1a*, *Ppd-B1c* відповідно [14, 19]. Генотипи пшениці з однією копією алеля (*Ppd-B1b*) чутливі до фотоперіоду. Лише у двох селекційних ліній з Австралії ідентифіковано null алель, позначений як *Ppd-B1e* [14]. Домінантний алель *Ppd-B1a.1* є наслідком порушення структури промотора за рахунок інсерції [36] та, скоріш за все, є унікальним для окремих споріднених японських сортів.

Ген *Ppd-D1* має, як мінімум, чотири різних алелі, що виникли в результаті різних мутацій. Так, Beales et al. [11] зазначали, що домінантний алель гена *Ppd-D1a* відрізняється від рецесивного алеля делецією розміром 2089 п. н. у промоторній ділянці гена. Кілька інших мутацій визначено для диференціації різних фотоперіод чутливих гаплотипів гена *Ppd-D1* [17, 25]. Генотипи з делецією в екзоні 7 були класифіковані як носії *Ppd-D1d*. Генотипи, що містять алель *Ppd-D1c*, характеризуються наявністю в інтроні 1 транспозону типу *Mariner*, а генотипи, які не характеризуються як *Ppd-D1a*, *Ppd-D1c* або *Ppd-D1d*, було позначено як *Ppd-D1b* [14]. Цей алель вважають найдревнішим серед *Ppd-D1* пшениці, що успадкований від виду *Aegilops tauschii*.

За силою фенотипового прояву гени фотоперіодичної чутливості можна розташувати в такому порядку: *Ppd-D1* > *Ppd-B1* > *Ppd-A1* [13]. Домінантна мутація *Ppd-D1a* справляє найбільший вплив на час колосіння у м'якої пшениці [48] і визначена як основне джерело ранньостиглості у сортів пшениці в усьому світі. Частка даного алеля у колекції озимих і ярих сортів становила 58 % [30]. Більш висока частота цього алеля нечутливості до тривалості дня відмічена для генотипів із Болгарії [31], Австралії [26], Китаю [17], Кореї [18] та півдня США [37]. Гени фотоперіодизму впливають на урожайність пшениці в різних умовах [34]. Позитивний ефект щодо скоростиглості та продуктивності алелів *Ppd-D1a* і *Ppd-B1c* відмічений також в умовах Півдня України [6, 9].

Мета дослідження – ідентифікувати генотипи озимих і ярих сортів пшениці м'якої української селекції й оцінити частоти алелів *Ppd-D1a*, *Ppd-D1d*, *Ppd-D1c*, *Ppd-D1b*, *Ppd-B1a*, *Ppd-B1c*, *Ppd-A1b*. Ідентифікація алелів цих генів і оцінка впливу їхніх комбінацій на ріст, дату колосіння та, в остаточному підсумку, на врожайність зерна сприятиме відбору сортів із широкою адаптивністю до певного середовища.

Матеріали та методи

Як вихідний матеріал використали стародавні та сучасні сорти пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.): 183 озимого та 23 ярого типу розвитку української селекції. У вибірках як озимого, так і ярого типу розвитку в більшості представлено сорти основних центрів селекції у країні. По озимій пшениці: Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення (96 сортів); Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва (25 сортів); Миронівського інституту пшениці ім. В. С. Ремесла та Інституту фізіології і генетики НАН України (37 сортів), а по ярій: Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва (5 сортів); Миронівського інституту пшениці ім. В. С. Ремесла (5 сортів) і ННЦ «Інститут землеробства НААН» (5 сортів). В обох вибірках також представлено окремі сорти інших НДУ України, аграрних ВНЗ, дослідно-селекційних станцій і вітчизняних приватних компаній.

Для визначення алелів *Ppd-D1a* і *Ppd-D1b* застосовували мультиплексну ПЛР, розроблену на основі поліморфізму ДНК промоторної зони локусу *Ppd-D1*, зокрема, наявності чи відсутності делеції 2089 п. н. [11]. Маркером наявності делеції 2089 п. н. і, відповідно, домінантного алеля *Ppd-D1a* є фрагмент ДНК розміром 288 п. н., а її відсутності (інтактний стан промотора) і рецесивного алеля *Ppd-D1b* – 414 п. н. (табл. 1). Для детекції алеля *Ppd-D1d* використано ПЛР-тест, проведення якого дає змогу спостерігати або фрагмент 184 п. н., що вказує на інтактний стан екзон 7, або фрагмент 179 п. н., який маркує наявність делеції [17]. Визначення алеля *Ppd-D1c* проводили з використанням ПЛР, рекомендованої в роботі Show et. al. [40], де наявність мутантного алеля визначає фрагмент 727 п. н. Як референтний контроль використовували сорт Capelle-Desprez. Детекцію алеля *Ppd-B1c* (чотири копії гена) здійснювали за рекомендаціями [11], згідно з якими маркером є фрагмент ампліфікації 425 п. н. Для виявлення трикопійного гена *Ppd-B1a* застосовували варіант алель специфічної ПЛР, запропонований Chen [17]. Маркером даного гена є фрагмент ампліфікації розміром 223 п. н. В останніх двох випадках як контроль застосовували сорти Chinese Spring і Timstein, відповідно. Для детекції інтактного стану промотора гена *Ppd-A1* використовували ПЦР-тест, де фрагмент 452 п. н. вказує на рецесивний стан даного гена

Таблиця 1

Послідовності праймерів і очікувані розміри продуктів ПЛР для маркування генів *Ppd-D1a*, *Ppd-D1b*, *Ppd-D1c*, *Ppd-D1d*, *Ppd-B1a*, *Ppd-B1c*, *Ppd-A1b*

Ген	Праймер	Послідовність праймера	Розмір фрагмента, п. н.
<i>Ppd-D1a</i> / <i>Ppd-D1b</i>	Ppd-D1_F	acgcctcccactacactg	288 п. н. / 414 п. н. [11]
	Ppd-D1_R1	cactgggtgtagctgagatt	
	Ppd-D1_R2	tgttggtcaaacagagagc	
<i>Ppd-D1c</i>	2D_Mar_F1	acggactactcctcatcg	727 п. н. [40]
	2D_Mar_F2	ggcaccatttgacaggcag	
	2D_Mar_R1	cgggaggaagatttgac	
<i>Ppd-D1d</i>	PpdD_7L	gtgtcctttgcgaatcctt	179 п. н./181 п. н. [17]
	PpdD_7R	ttggagccttgctcatct	
<i>Ppd-B1c</i>	PpdB1_2copyL	taactgctcgtcacaagtgc	425 п. н. [11]
	PpdB1_2copyR	ccggaacctgaggatcatc	
<i>Ppd-B1a</i>	PpdB1son_L	ccaggcgagtgtattacaca	223 п. н. [17]
	PpdB1son_R	gggcacgttaacacacctt	
<i>Ppd-A1b</i>	durum_Ag5del_F2	tgtcaccatgcactctgtt	452 п. н. [45]
	durum_Ag5del_R2	ctggctccaagaggaaacac	

[45]. Відсутність продукту ампліфікації дає можливість припускати наявність у промоторі делеції та присутність домінантного алеля гена *Ppd-A1*.

Екстракцію ДНК здійснювали за допомогою ЦТАБ-буфера із п'яти сухих зернівок або п'яти добових проростків. Реакційний буфер для проведення ПЛР містив: 50 mM KCl; 20 mM Tris-HCl, pH 8,4; 2,0 mM MgCl₂; 0,01 % Tween-20; 0,15 mM кожного dNTP; 5 пМ кожного праймера; 20 нг ДНК і 1 од. Taq-полімерази. Об'єм реакційної суміші – 20 мкл. Ампліфікація: денатурація – 94 °C – 2 хв (початкова), далі 30 с; 60 °C – 30 с відпал, елонгація 72 °C – 50 с; 35 циклів, заключна елонгація – 72 °C – 3 хв. Для проведення ампліфікації використовували ампліфікатор «Терцик» («ДНК-технологія», Росія). Продукти ампліфікації фракціонували в 10 % поліакриламідному гелі, а їхню візуалізацію в ПААГ здійснювали забарвленням 0,012 M AgNO₃. Молекулярну масу продуктів ампліфікації визначали стосовно маркерів pUC19/MspI.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за загальновідомими методами [4] з використанням комп'ютерних програм «Microsoft Office Excel».

Результати і їхнє обговорення

Було ідентифіковано генотипи 183 сортів м'якої пшениці озимого та 23 – ярого типу розвитку. Локус *Ppd-A1* не мав жодної алельної варіації, тож усі 206 генотипів несли чутливий до фотоперіоду алель *Ppd-A1b*. Водночас як серед озимих, так і серед ярих сортів відмічено поліморфізм за алелями генів *Ppd-D1* та *Ppd-B1*. У вибірці озимих сортів зі значною частотою поширений алель *Ppd-D1a* – 91,9±2,01 %, або 168 сортів (табл. 2; рис. 1).



Рис. 1. Електрофореграма продуктів ДНК озимих сортів м'якої пшениці з використанням мультиплексної ПЛР: 1, 7–11, 13–19 – сорти пшениці м'якої, носії алеля *Ppd-D1a*: Харківська 105, Гордовита, Дорідна, Бужанка, Ладизинка, Каланча, Антонівка, Бригантина, Красень, Лановий, Лебідка, Пилипівка, Скарбниця; 2–5, 12 – носії рецесивного алеля: Боровиця, Талісман, Юр'ївка, Зенітка покращена, Одеська 3; 6 – маркер молекулярної ваги pUC19/MspI

Таблиця 2

Частоти алелів генів ортологічної серії *Ppd-1* у вибірках ярих і озимих сортів пшениці

Алель	Озимі		Ярі	
	n	$p \pm S_p$	n	$p \pm S_p$
<i>Ppd-B1b</i>	178	97,3±1,20	19	82,6±7,90
<i>Ppd-B1c</i>	5	2,7±1,20	1	4,3±4,23
<i>Ppd-B1a</i>	0	0,0±0,52	3	13,1±7,03
<i>Ppd-D1a</i>	168	91,9±2,01	6	26,1±9,16
<i>Ppd-D1b</i>	3	1,6±0,93	4,5	19,6±8,28
<i>Ppd-D1c</i>	9	4,9±1,59	10	43,5±10,34
<i>Ppd-D1d</i>	3	1,6±0,93	2,5	10,8±6,47
Всього	183	100	23	100

Примітка: n – кількість сортів у вибірці, p – частота алеля, S_p – стандартна похибка

Генотипи носії алеля *Ppd-D1a* превалюють незалежно від зони створювання озимих сортів. Більша їхня частка ($95,0 \pm 2,17\%$) відмічена у південних сортів (Одеса, Херсон), яка істотно ($d=1,4 \pm 4,62\%$; $t=0,30$ при $t_{0,05}=1,96$) не відрізняється від такої ($93,6 \pm 4,08\%$) у вибірці сортів із центральних регіонів країни (Київ, Черкаси, Біла Церква, Полтава) та суттєво вище на $15 \pm 7,10\%$ ($t=2,11$ при $t_{0,05}=1,96$) аналогічної ($80,0 \pm 6,76\%$) у вибірки сортів Північного Сходу (Харків, Суми). Останніх два регіони за частотою носіїв гена *Ppd-D1a* суттєво не відрізнялися між собою ($d=13,6 \pm 7,89\%$; $t=1,72$ при $t_{0,05}=1,96$).

У селекційних програмах з озимої пшениці в 60–70-х роках ХХ ст. спостерігали чіткий тренд щодо зниження висоти рослин з метою підвищення стійкості до вилягання. Цього досягали шляхом інтрогресії в озимий генофонд домінантних генів серії *Rht*, перш за все гена *Rht8c*, який локалізований на хромосомі 2D і тісно зчеплений з домінантним алелем гена *Ppd-D1a* [16], що сприяло широкому розповсюдженню гена *Ppd-D1a* в Північному Причорномор'ї. Перші слабо чутливі до фотоперіоду сорти СГІ-НЦНС (Одеська 51, Одеська напівкарликова та ін.) успадкували алель *Ppd-D1a* від російського сорту Безоста 1 і його мутанта Карлик 1. Сорт Безоста 1 був донором гена *Ppd-D1a* і в селекційних програмах Болгарії [31]. Для одеських сортів Обрій, Ольвія, Знахідка одеська як донор гена *Ppd-D1a* виступали ярі короткостеблові сорти СІММУТ і споріднений із ними ярий американський сорт Red River 68. Алель *Ppd-D1a* останніми роками значно поширений у рамках всесвітніх селекційних програм унаслідок широкого використання гермоплазми СІММУТ. За даними різних авторів, частка гена *Ppd-D1a* у вибірці сортів СІММУТ сягає 87–91 % [20, 50]. Використання зародкової плазми СІММУТ після 1973 р. в селекційних програмах сприяло значному поширенню зазначеного гена на Австралійському континенті [13, 22]. Своєю чергою, сорти Бригантіна, Лузанівка одеська й низка інших успадкували ген *Ppd-D1a* від сортів колишньої Югославії, зокрема, Zlatna dolina. У більшості слабо чутливих до фотоперіоду сортів Європи реакція на скорочення тривалості дня в основному зумовлена геном *Ppd-D1a* [30, 32]. Вважається, що *Ppd-D1a* інтрогресований у європейську гермоплазму від японського сорту Akakomugi через італійські селекційні програми Strampelli на початку ХХ ст. [46]. Унаслідок використання зазначених груп донорів гена *Ppd-D1a* різного географічного походження майже всі сорти, створені в Україні з кінця 60-х – початку 70-х років минулого століття до сьогодення, є носіями даного алеля гена *Ppd-D1*.

На відміну від озимих, частка ярих сортів, що мають у своєму генотипі домінантний алель *Ppd-D1a*, становить лише $26,1 \pm 9,16\%$ (шість сортів). Про досить низьку частоту цього алеля у вибірці ярих сортів Європи повідомлялося і раніше [42].

Незначна частка озимих (15 зразків, або 8,2 %) і більшість ярих сортів (17 зразків, або 73,9 %) є носіями різних рецесивних алелів гена *Ppd-D1*. Серед озимих, за винятком сучасних сортів Лісостепу України Боровиця і Талісман, усі інші створені до 70-х років ХХ ст. У озимих сортів Зенітка покращена, Мільтурум 120, Боровиця й у ярого сорту Торчинська відмічено наявність делеції довжиною 5 п. н. у екзоні 7, тобто вони є носіями рецесивного алеля *Ppd-D1d* (рис. 3, А). Така мутація призводить до утворення передчасного стоп-кодону, що зумовлює ушкодження важливого білкового домену і дисфункції Prd-білка. Слід зазначити, що білки Prd є індукторами генів *FT* (*VRN3*), які контролюють цвітіння [41]. У більшості сортів даної групи як озимих, так і ярих ідентифіковано алель *Ppd-D1c* (рис. 3, Б), який виник унаслідок інсерції транспозона в інтрон 1 гена *Ppd-D1*. Така мутація призводить до суттєвого зниження рівня експресії і також може зумовлювати виникнення передчасного стоп-кодону й утворення нефункціонального білка [40]. У озимих сортів Кримка місцева, Чайка, Юр'ївка та ярих Вітка, Срібнянка, Світанок у генотипі наявний

найдревніший у гексаплоїдній пшениці алель *Ppd-D1b*. Чотири ярі сорти Краса Полісся, Ставицька, Скороспілка 98, Харківська 26 виявилися поліморфними. Кожен із них складається з двох різних за рецесивними алелями гена *Ppd-D1* генотипів.

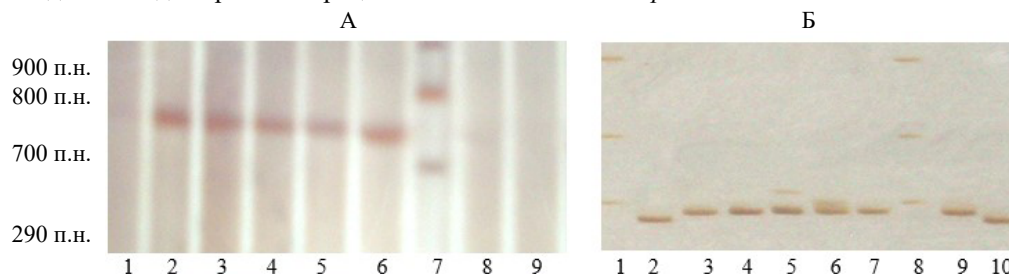


Рис. 3. Детекція алеля *Ppd-D1c* (А) та алеля *Ppd-D1d* (Б) у сортів пшениці м'якої озимої: (А) 1 – Юр'ївка; 2 – Одеська 16; 3 – Одеська 3; 4 – Лютесценс 238; 5 – Феррогеніум 1239; 6 – Capelle-Desprez (контрольний зразок); 7 – маркер мол. ваги Ledder 100; 8 – Чайка; 9 – Мільтурум 120; (Б) 2 – Зенітка покращена, 10 – Мільтурум 120 – мутація в екзоні 7; 3 – Миронівська 808, 4 – Мільтурум 238, 5 – Юр'ївка, 6 – Чайка, 7 – Гордовита, 9 – Пилипівка; 1, 8 – маркер мол. ваги pUC19/MspI

Лише в генотипі п'яти озимих сортів (2,7 % від загальної вибірки озимих сортів): Бригантіна, Веснянка, Експромт, Полянка, Сміла та ярого сорту Струна миронівська ідентифіковано алель *Ppd-B1c* (рис. 2). При цьому в озимих сортів він наявний додатково з геном *Ppd-D1a*. У трьох сортів ярого типу розвитку: Ажурна, Елегія миронівська, Етюд виявлено наявність у генотипі алеля *Ppd-B1a* (13,1±7,03 %) також у поєднанні з геном *Ppd-D1a*.

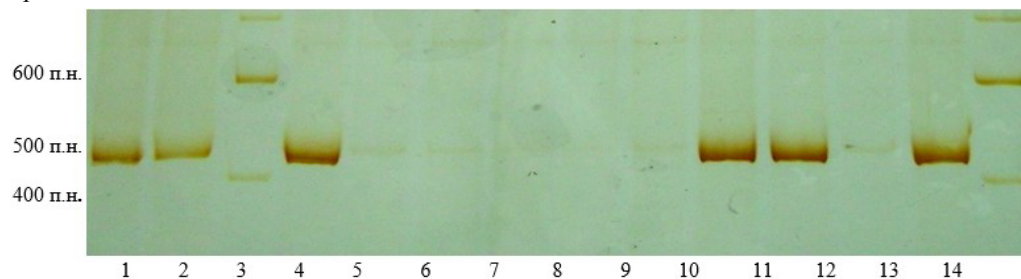


Рис. 2. Маркування алеля *Ppd-B1c* в українських сортів пшениці озимої м'якої: 1, 2, 4, 10, 11, 13 – наявність домінантного алеля у сортів Chinese Spring (контроль), Бригантіна, Експромт, Веснянка, Сміла, Полянка; 5-9 – сорти Приваблива, Харківська 105, Левада, Ольвія, Обрій; 3, 14 – маркер молекулярної ваги Ledder 1000

На основі аналізу родоводів можна констатувати, що алель *Ppd-B1c* сорт Бригантіна успадкував від сербського сорту Zlatna dolina, який одержано за участі італійських сортів, зокрема, Villa Glori. У обох ідентифіковано дигенно домінантний *Ppd-D1a Ppd-B1c* генотип [23]. Своєю чергою, вони отримали зазначену комбінацію домінантних алелів від японського сорту Akakomugi. Сорт Експромт, скоріш за все, успадкував алель *Ppd-B1c* від болгарського сорту Trakia, в родоводі якого також наявні італійські пшениці [1]. З усіх сортів, що створені за участі сортів Бригантіна (Бриз, Федорівка, Фрегат, Символ одеський) і Експромт (Колумбія, Золотоколоса, Ясногірка, Славна) та проаналізовані в даному дослідженні, лише сорти Струна миронівська і Веснянка успадкували від останнього домінантний алель *Ppd-B1c*, причому другий разом із геном *Ppd-D1a*. Алель

Ppd-B1a сорт Етюд успадкував від ярого мексиканського сорту Турасо, що має дигенно домінуючий *Ppd-D1a Ppd-B1a* генотип [10]. Відсутність серед українських озимих сортів моногенно домінуючих за геном *Ppd-B1a* або *Ppd-B1c* і дигенно домінуючих *Ppd-D1a Ppd-B1a* генотипів і мала частота дигенно домінуючих *Ppd-D1a Ppd-B1c* сортів, за майже абсолютного поширення сортів із моногенно домінуючим *Ppd-D1a* контролем, може свідчити, з одного боку, про низьку селекційну цінність генотипів з наявністю генів *Ppd-B1a* або *Ppd-B1c* для умов України. З іншого боку, скоріш за все, є наслідком використання у селекційних програмах з озимої пшениці як донорів певних ознак лише сортів-носіїв тільки гена *Ppd-D1a*.

У даній роботі не проводили ідентифікації інших домінуючих алелів *Ppd-B1a.1* та *Ppd-B1d*. На жаль, на сьогодні немає надійних ефективних ПЛР-тестів для детекції двокопійного алеля *Ppd-B1d*. Виходячи з аналізу родоводів українських сортів, імовірність виявлення алеля *Ppd-B1a.1*, що притаманний поодиноким спорідненим озимим сортам Японії [36], досить мала. Попередній аналіз кількох десятків українських ярих і озимих сортів не виявив у жодного з них алеля *Ppd-B1a.1* [7, 15]. Досить низьку частоту домінуючих алелів гена *Ppd-B1* у озимих сортів Європи відзначали Langer et al. [32]. За даними авторів, із 410 зразків озимої м'якої пшениці тільки у 21 сорту, переважно з південних країн, в генотипі наявні дві (*Ppd-B1d*), а у п'яти – три копії (*Ppd-B1a*) гена *Ppd-B1*, тобто разом близько 6,3 %. Водночас Kiss et al. [30] вказують на трохи вищу частку (17 %) домінуючих алелів гена *Ppd-B1* у вибірці ярих і озимих сортів країн Європи.

У підсумку в досліджуваних сортах ідентифіковано сім різних гомозиготних *Ppd-1* генотипів (табл. 3): моногенно рецесивні за генами *Ppd-D1b* або *Ppd-D1c* або *Ppd-D1d*, моногенно домінуючі за *Ppd-D1a* або *Ppd-B1c* і дигенно домінуючі за *Ppd-D1a Ppd-B1c* або *Ppd-D1a Ppd-B1a* генами. При цьому у вибірці ярих сортів виявлено шість зі семи вищезазначених генотипів, а озимих – тільки п'ять. В обох вибірках не виявлено моногенно домінуючих за геном *Ppd-B1a* генотипів. Водночас порівнянням ярих і озимих сортів можна визначити кілька відмінностей частот певних *Ppd-1* генотипів.

По-перше, у ярих виявлено сорти з моногенно домінуючим *Ppd-B1c* контролем ознаки, які відсутні в українських озимих. По-друге, в українських озимих трапляються тільки дигенно домінуючі *Ppd-D1a Ppd-B1c*, а у ярих – тільки *Ppd-D1a Ppd-B1a* генотипи. По-третє, і це головна відмінність між двома вибірками, у ярих більша, ніж у озимих, у кілька разів, частка носіїв рецесивних алелів генів *Ppd-1* (69,6 % проти 8,2 % відповідно) або навпаки – у озимих суттєво більша частка моно- та дигенно домінуючих сортів порівняно з ярими (91,8 та 30,1 % відповідно). Аналогічну закономірність спостерігали Seki M. et al. [39] у вибірці сортів острова Хоккайдо. Серед сортів озимої пшениці, проаналізованих авторами, 41,4 % і 24,1 % були носіями алелів *Ppd-A1a* і *Ppd-D1a* відповідно. А більшість ярих сортів (90 %), навпаки, мали у генотипі чутливі до фотоперіоду алелі.

Попередні генетичні дослідження озимих і ярих сортів довели більш високу концентрацію нечутливих до фотоперіоду алелів *Ppd-D1a* і *Ppd-B1d*, *Ppd-B1a* та *Ppd-B1c* у південних регіонах Європи [30, 32, 42], а в інших частинах Європи фотоперіод чутливі алелі *Ppd-D1b* та *Ppd-B1b* були більш поширеними. Grogan et al. [24] відмічали у сортів озимої пшениці більш високу частоту чутливих до фотоперіоду алелів *Ppd-A1b*, *Ppd-B1b* і *Ppd-D1b* у північних районах Великих рівнин США порівняно з центральними та південними.

Результати, наведені у даній роботі, демонструють значну частку домінуючого алеля *Ppd-D1a* у вибірці озимих сортів, особливо південних. Ріст і розвиток озимих сортів

Таблиця 3

Ppd-1 генотипи сортів озимої та ярої м'якої пшениці різних регіонів України

Генотип	Сорт	n	$p \pm S_p$
<i>Ppd-D1a</i>	Озимі: Альбатрос одеський, Антонівка, Безмежна, Борвій, Бриз, Бунчук, Буревісник одеський, Ватажок, Вдала, Ветеран, Вимпел одеський, Віген, Відповідь одеська, Вікторія одеська, Годувальниця одеська, Господиня, Гурт, Дальницька, Дарунок, Добрович, Еритропермум 127, Еритропермум 604, Єдність, Жарвій, Журавка одеська, Заможність, Звитяга, Землячка одеська, Зірка, Зиск, Злагода, Знахідка одеська, Золотава, Зорепад, Істина одеська, Княгиня Ольга, Красень, Красуня одеська, Куяльник, Лада одеська, Лан, Лановий, Леля, Литанівка, Лузанівка одеська, Любава одеська, Максима одеська, Мудрість одеська, Нагорода одеська, Небокрай, Нива одеська, Ніконія, Нота одеська, Обрій, Одеська 51, Одеська 66, Одеська 162, Одеська 265, Одеська 266, Одеська 267, Одеська напівкарликова, Одеська чорвоноколоса, Одом, Ольвія, Пересвіт, Пилипівка, Писанка, Південна зірка, Повага, Подяка, Порада, Прибій, Прима одеська, Прометей, Світанок 1, СГІ-100, Селянка, Символ одеський, Сирена одеська, Скарбниця, Струмок, Тира, Традиція одеська, Турунчук, Ужинок, Федорівка, Фрегат, Хвиля, Херсонська безоста, Червона, Шестопалівка, Щедрість одеська, Ювілейна 75, Юннат одеський, Якір одеський, Балада миронівська, Бужанка, Вежа миронівська, Вінок Поділля, Волошкова, Грація миронівська, Диканька, Економка, Єсенія, Здоба київська, Зелений гай, Золото України, Золотоколоса, Каланча, Калинова, Київська остиста, Колос Миронівщини, Колумбія, Коляда, Краснопілка, Ладжинка, Левада, Легенда миронівська, Либідь, Лютеня, Маланка, МІП Валенсія, МІП Княжна, Монолог, Монотип, Орійка, Перлина Лісостепу, Радиславка, Розквіт, Славна, Спасівка, Унікум, Ясногірка, Ясочка, Ятрань 60, Альянс, Астет, Білосніжка, Василина, Верден, Воздвиженка, Гордовита, Дорідна, Досконала, Еритропермум 308-10, Запашна, Іванівська остиста, Монтрей, Полукарлик 3, Приваблива, Розкішна, Світанкова, Сонячна, Статна, Фермерка, Харківська 11, Харківська 63, Харківська 81, Харківська 96, Харківська 105, Харківська 106, Харківська 107, Харус	163	89,1±2,30
	Ярі: Катюша, Рання 93, Скороспілка 99	3	13,1±7,03
<i>Ppd-B1c Ppd-D1c</i>	Ярі: Струна миронівська	1	4,3±4,23
<i>Ppd-B1c Ppd-D1a</i>	Озимі: Бригантина, Експромт, Веснянка, Полянка, Сміла	5	2,7±1,20
<i>Ppd-B1a Ppd-D1a</i>	Ярі: Ажурна, Елегія миронівська, Етюд	3	13,1±7,03
<i>Ppd-D1b</i>	Озимі: Кримка місцева, Чайка, Юр'ївка	3	1,6±0,93
	Ярі: Вітка, Срібнянка, Світанок	3	13,1±7,03
<i>Ppd-D1c</i>	Озимі: Одеська 3, Одеська 16, Кооператорка, Миронівська 808, Талісман, Лютесценс 238, Ферогінеум 1239, Харківська 4, Харківська 20	9	4,9±1,59
	Ярі: Аншлаг, Героїня, Євдокія, Колективна 3, Миронівська яра, Скороспілка 95, Сюїта, Харківська 30	8	34,8±9,86
<i>Ppd-D1d</i>	Озимі: Боровиця, Зенітка покращена, Мільтурум 120	3	1,6±0,93
	Ярі: Торчинська	1	4,3±4,23
<i>Ppd-D1b/d</i>	Ярі: Краса Полісся, Стависька	2	8,7±5,88
<i>Ppd-D1c/b</i>	Ярі: Скороспілка 98	1	4,3±4,23
<i>Ppd-D1d/c</i>	Ярі: Харківська 26	1	4,3±4,23

припадає на осінньо-зимовий і ранньовесняний періоди, коли тривалість природного дня у всіх регіонах нашої країни є недостатньою для розвитку пшениці. Унаслідок цього перехід до колосіння у чутливих до фотоперіоду сортів відбувається досить пізно. Наявність у генотипі домінантних алелів генів *Ppd-1*, навпаки, за підвищення температури навесні за скороченого дня одразу приводить до значного прискорення розвитку (скорочує тривалість періоду до колосіння) та сприяє кращому використанню весняних запасів вологи і більш інтенсивному накопиченню біологічного врожаю [2], а також дає змогу уникати жарких і посушливих літніх днів [27] та біотичних стресових факторів [44]. Отже, слабка фотоперіодична чутливість абсолютної більшості озимих сортів України зумовлена наявністю в генотипі гена *Ppd-D1a*. Його разом з *Ppd-B1c* можна розглядати як одну з необхідних умов для реалізації потенціалу врожаю. Яру пшеницю вирощують в Україні, як правило, у північних регіонах. Основні етапи розвитку таких посівів припадають на пізню весну та літо з більш тривалим природним днем, що значною мірою нівелює відмінності за ефектами генів фотоперіоду. У таких умовах генотипи з наявністю домінантних алелів генів *Ppd-1* вже не мають суттєвих переваг за урожаєм зерна. Показана недоцільність використання гена *Ppd-D1a* в селекції ярої пшениці в умовах північних широт Північної Америки [21], а в умовах півночі від 50° північної широти вказаний алель виявляє навіть негативний вплив на урожай зерна ярої пшениці [33].

Отже, за використання молекулярних маркерів ідентифіковано носії алелів *Ppd-A1b*, *Ppd-D1a*, *Ppd-D1b*, *Ppd-D1c*, *Ppd-D1d*, *Ppd-B1a*, *Ppd-B1c* у 183 озимих та 23 ярих сортів м'якої пшениці селекції українських державних установ і приватних компаній.

Серед озимих сортів найбільш поширений домінантний алель *Ppd-D1a* (91,9 %), а у ярих – рецесивний *Ppd-D1c* (43,5 %). Частоти алелів *Ppd-B1a* і *Ppd-B1c* зовсім малі. Алель *Ppd-B1a* виявлено тільки у 3 ярих, а алель *Ppd-B1c* – у 5 озимих та 1 ярого сорту, при цьому в більшості з них одночасно з алелем *Ppd-D1a*. Усі сорти, незалежно від типу розвитку, є носіями рецесивного алеля *Ppd-A1b*.

Більш висока варіабельність *Ppd-1* генотипів спостерігається у ярих сортів. За ідентичності обох вибірок за трьома рецесивними генотипами, у ярих сортів ідентифіковано моногенно домінантні по *Ppd-D1a* або *Ppd-B1c* і дигенно домінантні *Ppd-D1a Ppd-B1a* генотипи, а у озимих – моногенно домінантні по *Ppd-D1a* та дигенно домінантні по *Ppd-D1a Ppd-B1c* генотипи. При цьому у вибірці ярих більшість сортів є носіями тільки рецесивних алелів генів *Ppd-1* (69,6 %), а у вибірці озимих сортів, навпаки, – домінантних алелів (91,8 %), що зумовлено строками сівби і тривалістю природного дня на широті регіону вирощування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Власенко В. А., Кочмарський В. С., Колючий В. Т. та ін. Селекційна еволюція миронівських пшениць. Миронівка: Миронівський ін-т пшениці імені В. М. Ремесла, 2012. 326 с.
2. Литвиненко Н. А., Козлов В. В. Возможность различного сочетания чувствительности к длине дня и потребности в яровизации в генотипе озимой мягкой пшеницы // НТБ ВСГИ. 1986. № 4. С. 5–10.
3. Пірич А. В., Булавка Н. В., Юрченко Т. В. Фотоперіодична чутливість та яровизаційна потреба сортів пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.) миронівської селекції // Зернові культури. 2018. Т. 2. № 2. С. 261–266.
4. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. М.: Колос, 1973. 327 с.

5. Стельмах А. Ф., Файт В. И. Возможность улучшения адаптивности озимой пшеницы путем усиления фотопериодизма и потребности в яровизации // 36. наук. праць СГІ – НЦНС. Одеса, 2016. Вип. 27. С. 103–108.
6. Файт В. И., Погребнюк Е. А., Балашова И. А., Стельмах А. Ф. Идентификация и эффекты аллелей гена *Ppd-B1* по хозяйственно-ценным признакам рекомбинантно-инбредных линий пшеницы // Физиология растений и генетика. 2017. Т. 49. № 1. С. 36–46.
7. Филимонов В. М., Бакума А. А., Чеботарь Г. А. и др. ПЦР-анализ генов фотопериодической чувствительности у сортов мягкой озимой пшеницы селекции Белоцерковской опытно-селекционной станции // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. 2018. Т. 16. № 2. С. 217–226.
8. Addisu M., Snape J. W., Simmonds J. R., Gooding M. J. Effects of reduced height (*Rht*) and photoperiod insensitivity (*Ppd*) alleles on yield of wheat in contrasting production systems // Euphytica. 2010. Vol. 172. N 2. P. 169–181.
9. Bakuma A. O., Popovych Yu. A., Motsnyy I. I. et al. Effects of the *Ppd-D1a* allele on growth rates and agronomical traits in wheat detected by the application of analogous lines // Cytol. Genet. 2018. Vol. 52. N 5. P. 343–352.
10. Balashova I. A., Fait V. I. Allele frequencies of *Ppd-D1a*, *Ppd-B1a*, and *Ppd-B1c* of photoperiodic sensitivity genes in spring bread wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) of various origin // Agric. Sci. Pract. 2021. Vol. 8. N 1. P. 3–13.
11. Beales J., Turner A., Griffiths S. et al. Pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. 2007. Vol. 115. N 5. P. 721–733.
12. Bennett D., Izanloo A., Edwards J. et al. Identification of novel quantitative trait loci for days to ear emergence and flag leaf glaucousness in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) population adapted to southern Australian conditions // Theor. Appl. Genet. 2012. Vol. 124. P. 697–711.
13. Bentley A. R., Horsnell R., Werner C. P. et al. Short, natural, and extended photoperiod response in BC2F4 lines of bread wheat with different Photoperiod-1 (*Ppd-1*) alleles // J. Exp. Bot. 2013. Vol. 64. N 7. P. 1783–1793.
14. Cane K., Eagles H. A., Laurie D. A. et al. *Ppd-B1* and *Ppd-D1* and their effects in southern Australian wheat // Crop and Pasture Sci. 2013. Vol. 64. N 2. P. 100–114.
15. Chebotar G. O., Bakuma A. O., Filimonov V., Chebotar S. V. Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian bread wheat varieties // Visnyk of the Lviv University. Ser. Biology. 2019. Is. 80. P. 82–89.
16. Chebotar G. O., Chebotar S. V., Motsnyy I. I., Sivolap Yu. M. Clarification of the *Rht8-Ppd-D1* genes linkage on the 2D chromosome of winter bread wheat // Cytol. & Genet. 2013. Vol. 47. N 2. P. 70–74.
17. Chen F., Gao M., Zhang J. et al. Molecular characterization of vernalization and response genes in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China // BMC Plant Biol. 2013. Vol. 13. P. 199.
18. Cho E. J., Kang C.-S., Jung J.-U. et al. Allelic variation of *Rht-1*, *Vrn-1*, and *Ppd-1* in Korean wheats and its effect on agronomic traits // Plant Breed Biotechnol. 2015. Vol. 3. N 2. P. 129–138.
19. Diaz A., Zikhali M., Turner A. et al. Copy number variation affecting the *Photoperiod-B1* and *Vernalization-A1* genes is associated with altered flowering time in wheat (*Triticum aestivum*) // PLoS One. 2012. Vol. 7. N 3. e33234.
20. Dreisigacker S., Burgueño J., Pacheco A. et al. Effect of flowering time-related genes on biomass, harvest index, and grain yield in CIMMYT elite spring bread wheat // Biology. 2021. Vol. 10. P. 855.

21. Dyck J. A., Matus-Cádiz M. A., Hucl P. et al. Agronomic performance of hard red spring wheat isolines sensitive and insensitive to photoperiod // Crop Sci. 2004. Vol. 44. P. 1976–1981.
22. Eagles H. A., Cane K., Vallance N. The flow of alleles of important photoperiod and vernalisation genes through Australian wheat // Crop and Pasture Science. 2009. Vol. 60. N 7. P. 646–657.
23. Fait V. I., Balashova I. A. Distribution of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-D1a*, *Ppd-B1a*, and *Ppd-B1c* in winter common wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) of various origin // Cytol. & Genet. 2022. Vol. 56. N 2. P. 109–117.
24. Grogan S. M., Brown-Guedira G., Haley S. D. et al. Allelic variation in developmental genes and effects on winter wheat heading date in the US Great Plains // PloS one. 2016. Vol. 11. N 4. e0152852.
25. Guo Z., Song Y., Zhou R. et al. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene // New Phytol. 2010. Vol. 185. N 3. P. 841–851.
26. Harris F. A. J., Eagles H. A., Virgona J. M. et al. Effect of *Vrn1* and *Ppd1* genes on anthesis date and wheat growth // Crop Pasture Sci. 2017. Vol. 68. N 3. P. 195–201.
27. Kamran A., Iqbal M., Spaner D. Flowering time in wheat (*Triticum aestivum* L.): a key factor for global adaptability // Euphytica. 2014. Vol. 197. N 1. P. 1–26.
28. Kamran A., Randhawa H. S., Pozniak C., Spaner D. Phenotypic effects of the flowering gene complex in Canadian spring wheat germplasm // Crop Sci. 2013. Vol. 53. N 1. P. 84–94.
29. Kato K., Yokoyama H. Geographical variation in heading characters among wheat landraces, *Triticum aestivum* L. and its implication for their adaptability // Theor. Appl. Genet. 1992. Vol. 84. P. 259–265.
30. Kiss T., Balla K., Veisz O. et al. Allele frequencies in the *Vrn-A1*, *Vrn-B1* and *Vrn-D1* vernalization response and *Ppd-B1* and *Ppd-D1* photoperiod sensitivity genes, and their effects on heading in a diverse set of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) // Mol Breed. 2014. Vol. 34. N 2. P. 297–310.
31. Kolev S., Ganeva G., Christov N. Allele variation in loci for adaptive response and plant height and its effect on grain yield in wheat // Agricultural and Environmental Biotechnology. 2010. Vol. 24. N 2. P. 1807–1813.
32. Langer S. M., Longin C. F. H., Würschum T. Flowering time control in European winter wheat // Front Plant Sci. 2014. Vol. 5. 537.
33. Lepekhov S. B. Prospect for incorporation of *Ppd-D1a* allele in russian spring bread wheat cultivars // Russ. J. Genet. 2022. Vol. 58. P. 20–26.
34. Lozada D. N., Carter A. H., Mason R. E. Unlocking the yield potential of wheat: influence of major growth habit and adaptation genes // Crop Breed Genet Genom. 2021. Vol. 3. N 2. e210004.
35. Muterko A., Kalendar R., Cockram J., Balashova I. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes and new alleles of the *Photoperiod-A1* gene in wheat // Plant Mol Biol. 2015. Vol. 88. N 1. P. 149–164.
36. Nishida H., Yoshida T., Kawakami K. et al. Structural variation in the 5' upstream region of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-A1a* and *Ppd-B1a* identified in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.), and their effect on heading time // Mol Breed. 2013. Vol. 31. N 1. P. 27–37.
37. Sarinelli J. M., Murphy J. P., Tyagi P. et al. Training population selection and use of fixed effects to optimize genomic predictions in a historical USA winter wheat panel // Theor. Appl. Genet. 2019. Vol. 132. N 4. P. 1247–1261.
38. Scarth R., Law C. N. The control of the day-length response in wheat by the genes 2 chromosomes // Z. Pflanzenzucht. 1984. Vol. 92. N 2. P. 140–150.

39. Seki M., Chono M., Nishimura T. et al. Distribution of photoperiod-insensitive allele *Ppd-A1a* and its effect on heading time in Japanese wheat cultivars // *Breed Sci.* 2013. Vol. 63. N 3. P. 309–316.
40. Shaw L. M., Turner A. S., Herry L. et al. Mutant alleles of Photoperiod-1 in wheat (*Triticum aestivum* L.) that confer a late flowering phenotype in long days // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8. e79459
41. Shaw L. M., Turner A. S., Laurie D. A. The impact of photoperiod insensitive *Ppd-1a* mutations on the photoperiod pathway across the three genomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum*) // *Plant J.* 2012. Vol. 71. N 1. P. 71–84.
42. Shcherban A. B., Borner A., Salina E. A. Effect of *VRN-1* and *PPD-D1* genes on heading time in European bread wheat cultivars // *Plant Breeding*. 2015. Vol. 134. P. 49–55.
43. Tsenov N., Gubatov T., Yanchev I. Effect of date of heading on variation of basic components of productivity of winter wheat // *Journal of Central European Agriculture*. 2020. Vol. 21. N 4. P. 751–762.
44. Whittall A., Kaviani M., Graf R. et al. Allelic variation of vernalization and photoperiod response genes in a diverse set of North American high latitude winter wheat genotype // *PLoS One*. 2018. Vol. 13. N 8. e0203068.
45. Wilhelm E. P., Turner A. S., Laurie D. A. Photoperiod insensitive *Ppd-A1a* mutations in tetraploid wheat (*Triticum durum* Desf.) // *Theor. Appl. Genet.* 2009. Vol. 118. N 2. P. 285–294.
46. Worland A. J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats // *Euphytica*. 1996. Vol. 89. N 1. P. 49–57.
47. Worland A. J., Börner A., Korzun V. et al. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats // *Euphytica*. 1998. Vol. 100. P. 385–394.
48. Würschum T., Langer S. M., Longin C. F. H. et al. A three-component system incorporating *Ppd-D1*, copy number variation at *Ppd-B1*, and numerous small-effect quantitative trait loci facilitates adaptation of heading time in winter wheat cultivars of worldwide origin // *Plant Cell Env.* 2018. Vol. 41. P. 1407–1416.
49. Yan L., Helguera M., Kato K. et al. Allelic variation at the *Vrn-1* promoter region in polyploid wheat // *Theor. Appl. Genet.* 2004. Vol. 109. N 8. P. 1677–1686.
50. Yang F. P., Zhang X. K., Xia X. C. et al. Distribution of photoperiod insensitive *Ppd-D1a* allele in Chinese wheat cultivars // *Euphytica*. 2009. Vol. 165. P. 445–452.

Стаття надійшла до редакції 09.06.22

доопрацьована 29.06.22

прийнята до друку 06.07.22

**DIVERSITY OF *PPD-1* GENOTYPES OF SPRING AND WINTER
BREAD WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) OF UKRAINE****V. Fait, I. Balashova**

*Plant Breeding and Genetics Institute
National Center of Seed and Cultivar Investigation
3, Ovidiopolska Road, Odesa 65036, Ukraine
e-mail: faygen@ukr.net, ibalashova@ukr.net*

Ancient and modern 183 varieties of winter and 23 spring types of development of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) selected Ukrainian state institutions and private companies are characterized by alleles of *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, and *Ppd-A1* genes. Allele-specific molecular markers, proposed in the scientific literature, were used to identify carriers of the *Ppd-D1a*, *Ppd-D1b*, *Ppd-D1c*, *Ppd-D1d*, *Ppd-B1a*, *Ppd-B1c*, *Ppd-A1b* alleles.

According to the results of PCR analysis, the most widespread among the studied winter cultivars was observed in the dominant allele *Ppd-D1a* (91.9 %) with a range from 80.0 % in the sampling of varieties of the Northeast (Kharkiv, Sumy) to 95.0 % in southern cultivars (Odesa, Kherson), and in spring – recessive *Ppd-D1c* (43.5 %). The share of carriers of various recessive alleles of the *Ppd-D1* gene among spring varieties is 73.9 %, and among winter – 8.1 % and, except for Borovitsa and Talisman consists of cultivars created by the late 60 – early 70 years of last century. The frequencies of the *Ppd-B1a* and *Ppd-B1c* alleles are quite small. The *Ppd-B1a* allele was found only in three spring varieties, and the *Ppd-B1c* allele in 5 winter varieties and spring wheat Struna Mironivska, except for the latter cultivar, in all cases found together with the *Ppd-D1a* allele. The *Ppd-A1* gene was present in a recessive state in all studied sorts.

Seven different homozygous *Ppd-1* genotypes have been determined in the studied cultivars. Samples of winter and spring varieties differ significantly in the quantity and frequency of specific *Ppd-1* genotypes. The presence of varieties with monogenic dominant *Ppd-D1a* or *Ppd-B1c* control of traits and digenic dominant *Ppd-D1a Ppd-B1a* genotypes has been marked in spring wheat, as well as monogenic dominant for *Ppd-D1a* and digenic dominant for *Ppd-D1a* in winter wheat varieties. In spring cultivars the share of carriers of recessive alleles of *Ppd-1* genes is several times higher (69.6 %) than in winter varieties; conversely, the samples of winter varieties have significantly more dominant alleles (91.9 %). Such differences in genotype frequencies are due to the timing of sowing and duration of the natural day at the latitude of the growing region during the growing season of winter and spring varieties.

Keywords: *Triticum aestivum* L, bread wheat, photoperiod, *Ppd-1* genes, genotype

**GENOMIC POTENTIAL OF *STREPTOMYCES ROSEOCHROMOGENES*
NRRL 3504 FOR THE PRODUCTION OF SPECIALIZED
METABOLITES: ANALYSIS *IN SILICO***

S. Melnyk, P. Hrab, B. Ostash*

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

**e-mail: bohdan.ostash@lnu.edu.ua*

Streptomyces roseochromogenes NRRL 3504 is the only known producer of aminocoumarin antibiotic clorobiocin – an inhibitor of bacterial DNA-gyrase and topoisomerase IV. Sequencing of NRRL 3504 genome revealed a plethora of specialized metabolite biosynthetic gene clusters (BGCs) within the latter, attesting to the significant potential of this species for the production of various as-yet-unknown bioactive compounds. Here we report bioinformatic analysis of NRRL 3504 genome aimed to better understand what kind of small molecules this strain could produce and genetic mechanisms that may limit their production. In addition to the most commonly applied bioinformatic service for BGCs detection antiSMASH, we turned to alternative tools for secondary metabolome *in silico* analysis such as PRISM, DeepBGC, ARTS, SEMPi and GECCO. While different genome mining applications pointed to a common core set of BGCs within the NRRL 3504, each tool having its own algorithm of BGCs detection also discovered certain number of non-overlapping clusters. This was especially true for machine learning tool DeepBGC that unearthed the biggest number of BGCs. To summarize the obtained results we used BGCviz tool, which visualizes and integrates BGC annotations from various sources by using genomic coordinates. We discuss the genetic and structural diversity of the BGCs and outline the most interesting, in opinion, targets for further investigations. Most of the described BGCs are most likely silent due to very low or zero transcription. Therefore, it might be needed to find the ways to activate the transcription of the BGCs of interest. To this end, we mined NRRL 3504 genome for the orthologs of global regulatory genes known to be involved in regulation of specialized metabolism of *S. coelicolor* A3(2). We were able to identify almost all plausible global regulators of interest in NRRL 3504, implying that overall scheme of regulation of specialized metabolism in A3(2) and NRRL 3504 might be similar. Results of our work set the stage for a more detailed experimental scrutiny of silent specialized metabolome of NRRL 3504.

Keywords: Streptomyces roseochromogenes, genome mining, bioinformatics

Streptomyces roseochromogenes NRRL 3504 was first described in 1970s as a producer of gyrase inhibitor clorobiocin [1]. Together with novobiocin, clorobiocin and their precursors (Fig. 1) constitute a small family of aminocoumarin antibiotics in actinobacteria [2]. For several decades this strain was known to produce only the aforementioned antibiotic, until the sequencing of its genome in 2014 revealed true potential of this species for biosynthesis of bioactive compounds [3].

Particularly, over 40 biosynthetic gene clusters (BGCs) were revealed which direct the production of various nonribosomal peptides, polyketides, terpenes etc [3]. However, the prioritization of the discovered BGCs with regard to the putative chemical uniqueness of the encoded small molecules or feasibility of their production in NRRL 3504 were not attempted. We also note that the description of BGCs in NRRL 3504 was based on *in silico* analysis with the help of server antiSMASH [4], which was the only available tool for BGC mining at the time of NRRL 3504 genome publication. More tools for BGC discovery have been developed over the last 10 years,

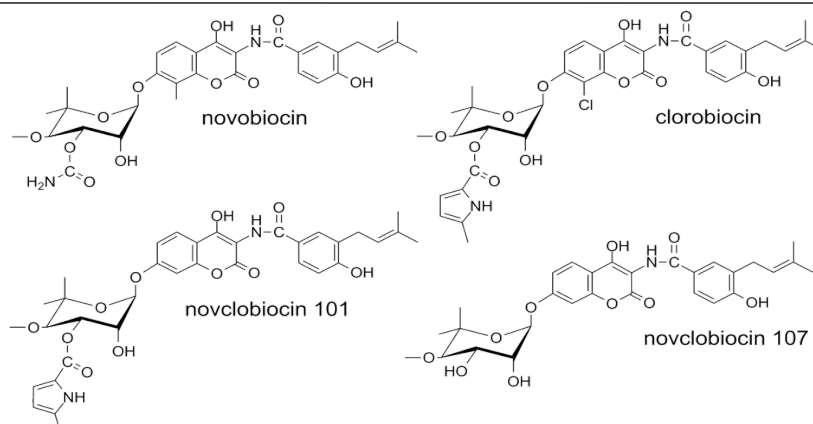


Fig. 1 Structural formulae of aminocoumarin anti-biotics mentioned in the main text and each of these tools provides somewhat different picture of BGC suites in bacterial genomes [5]. For example, PRISM better predicts the chemical structures of secondary metabolites [6], DeepBGC calculates prediction scores of BGCs similarity and scores of their antimicrobial activity by using deep learning models [7]; ARTS prioritizes BGCs by the presence of resistance genes [8]; SEMPI predicts PKS and NRPS BGCs by analyzing available natural compound databases [9]; finally, GECCO identifies novel BGCs based on conditional random fields approach [10]. From practical point of view, it means that we might be able to identify more BGCs in any given genome on combining the powers of different search algorithms.

Except for the clorobiocin BGCs, all or most of the BGCs within NRRL 3504 genome are most likely silent due to very low or zero transcription. Therefore, it might be needed to find the ways to activate the transcription of the BGCs of interest. We recently described a set of genetic tools for NRRL 3504 [11] which in principle can be applied to study any silent BGC in this strain. Although manipulations of cluster-situated regulatory genes, likely present within the silent BGCs, might the simplest way to activate the latter, it is often possible to use higher-order, or pleiotropic (global) transcriptional factors to upregulate silent BGCs. As a first step towards the exploitation of global regulators in NRRL 3504, we searched orthologs of known global transcriptional factors in model strain *Streptomyces coelicolor* [12]. The resulting regulatory network in NRRL 30504 is outlined in this work.

Materials and Methods

NRRL 3504 genome was accessed through NCBI (accession number NZ_CM002285.1). Following BGC mining engines were used: antiSMASH, PRISM, DeepBGC, ARTS, SEMPI, GECCO (mentioned in the Introduction). These applications were used with default parameters. Results were summarized and visualized using BGCviz software (<https://github.com/ostash-group/BGCviz>).

NRRL 3504 orthologs of known *S. coelicolor* transcriptional factors involved in antibiotic production were identified as a reciprocal BLASTP hits (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) [12].

Results and Discussion

The antiSMASH-centered description of BGCs within NRRL 3504 genome. We re-analyzed NRRL 3504 genome with antiSMASH given vast improvements to the algorithm [4] since the time of its original application to NRRL 3504 genome. The antiSMASH data were further amended with some of the results of the other services. In total our analysis yielded 52 reliably identified BGCs, as shown in Table 1.

Table 1

BGCs in NRRL 3504 genome as portrayed by BGC mining engines

BGC	Genomic interval ¹	Type ²	Most similar BGC (similarity %)
1	132,030 – 165,370	NAPAA	
2	223,343 – 251,706	Betalactone	Platencin; terpene (6 %) *
3	251,738 – 303,426	NRPS, RiPP-like	Leinamycin; NRPS-PKS I (4 %) *
4	417,115 – 425,644	Siderophore	Natamycin; polyketide (9 %) *
5	454,533 – 532,064	T1PKS	Sceliphrolactam; poliketide (92 %)
6	903,971 – 919,646	Lanthipeptide-class-III	Informatipeptin, RiPP: lanthipeptide (100 %)
7	1,152,522 – 1,185,781	Aminocoumarins	Clorobiocin; saccharide (100 %)
8	1,198,728 – 1,255,895	NRPS-like; betalactone	Syringomycin; NRP (29 %) *
9	1,368,661 – 1,381,464	Terpene	Hopene; terpene (92 %)
10	1,531,132 – 1,574,167	NRPS-like	
11	1,580,006 – 1,621,908	NAPAA, NRPS	Stenothricin: cyclic depsipeptide (13 %) *
12	1,834,628 – 1,840,717	Siderophore	
13	1,841,787 – 1,846,610	RiPP-like	
14	1,876,591 – 1,920,303	T1PKS, siderophore	Paulomycin; other (13 %) *
15	2,073,191 – 2,075,353	Terpene	Geosmin; terpene (100 %)
16	2,105,451 – 2,116,289	RiPP-like	
17	2,160,971 – 2,180,930	Terpene	Meilingmycin; polyketide (5 %) *
18	2,361,368 – 2,372,564	Siderophore	
19	2,439,160 – 2,480,253	Ladderane, terpene	Merochlorins; terpene + PKSIII (7 %) *
20	2,820,651 – 2,846,507	Betalactone	Divergolides; PKS I (6 %) *
21	2,998,644 – 3,028,573	T1PKS, T3PKS	Venemycin; polyketide (100 %) ³
22	3,028,645 – 3,058,382	NRPS	Thiazostatin: NRP (100 %) ³
23	3,155,507 – 3,157,959	Terpene	Albaflavenone; terpene (100 %)
24	3,317,553 – 3,335,041	RRE-containing	Naphthomycin; polyketide (9 %) *
25	3,713,984 – 3,767,955	NRPS	Salinamides; NRPS-PKS (92 %)
26	4,202,052 – 4,222,838	Lanthipeptide-class-I	
27	4,549,129 – 4,576,738	Linaridin	Legonaridin; RiPP (16 %)
28	4,563,543 – 4,568,970	Terpene	
29	4,675,333 – 4,701,181	Polyketide	Colabomycin E; polyketide type II (20 %)
30	4,702,838 – 4,715,987	Lasso peptide	
31	5,334,727 – 5,339,264	Lasso peptide	Citrullasin D; RiPP (100 %)
32	5,358,233 – 5,439,812	NRPS-PKS, RRE	LL-D49194a1; polyketide (39 %)
33	5,656,729 – 5,667,757	Butyrolactone	Methylenomycin A (14 %)
34	6,239,049 – 6,245,818	Siderophore	Desferrioxamin (83 %)
35	6,350,666 – 6,352,022	Melanin	Melanin (100 %)
36	6,561,106 – 6,597,703	Thioamitides, RiPP	
37	6,679,165 – 6,701,768	Cyanobactin	
38	6,787,544 – 6,794,342	Terpene	2-methylisoborneol; terpene (75 %)
39	6,957,682 – 7,000,235	PKS	
40	7,271,875 – 7,325,011	NRPS, NRPS-like	Ecumicin; NRP (10 %) *
41	7,489,337 – 7,492,487	Ectoine	Ectoine (100 %)
42	7,719,515 – 7,751,356	NAPAA	
43	8,174,477 – 8,219,344	hglE-KS	Cinnamycin; RiPP: lanthipeptide (9 %)
44	8,223,946 – 8,245,107	CDPS	Purincyclamide; other (40 %)
45	8,279,264 – 8,342,793	NAPAA, T3PKS	Herboxidiene; polyketide (8 %)
46	8,498,110 – 8,503,471	NRPS	
47	8,584,205 – 8,603,224	PKS	
48	8,779,773 – 8,800,663	Melanin, terpene	Melanin; other (57 %)
49	8,882,064 – 8,902,774	CDPS	Peptide
50	9,386,952 – 9,409,720	Lanthipeptide-class-IV	Blasticidin S (10 %)
51	9,479,135 – 9,521,672	NRPS	
52	9,603,846 – 9,625,045	Terpene	

Notes: ¹Position in NRRL 3504 chromosome (accession number NZ_CM002285.1)²Abbreviated names of biosynthetic types: NAPAA – non-alpha poly-amino acids like e-Polylysine; NRPS – non-ribosomal peptide synthetase cluster; RiPP – ribosomally synthesised and post-translationally modified peptide product; RiPP-like – other RiPPs; T1PKS – type I PKS (polyketide synthase); T3PKS – type III PKS; RRE-containing – RRE-element containing cluster; PKS-like – other types of PKS cluster; hglE-KS – heterocyst glycolipid synthase-like PKS; CDPS – tRNA-dependent cyclodipeptide synthases.³Clusters are connected.

*Non-significant hits, no evidence of large-scale similarity

Different BGC mining tools yield different sets of BGCs within NRRL 3504 genome.

Next we run NRRL 3504 genome through the applications, that use different search logics (see the Introduction): DeepBGC, PRISM (+PRISM-Supp which identifies regulatory, resistance and transporter genes within clusters), ARTS, SEMPI and GECCO. We used BGCviz (application which integrates and visualizes results from various BGC annotation sources) to summarize our findings. The antiSMASH results were used as a reference. This led to a scheme of annotations comparison to the reference which reflected the location of identified BGCs within the genome of NRRL 3504. Fig. 2 shows the number of BGCs identified by each application, BGC location rela-

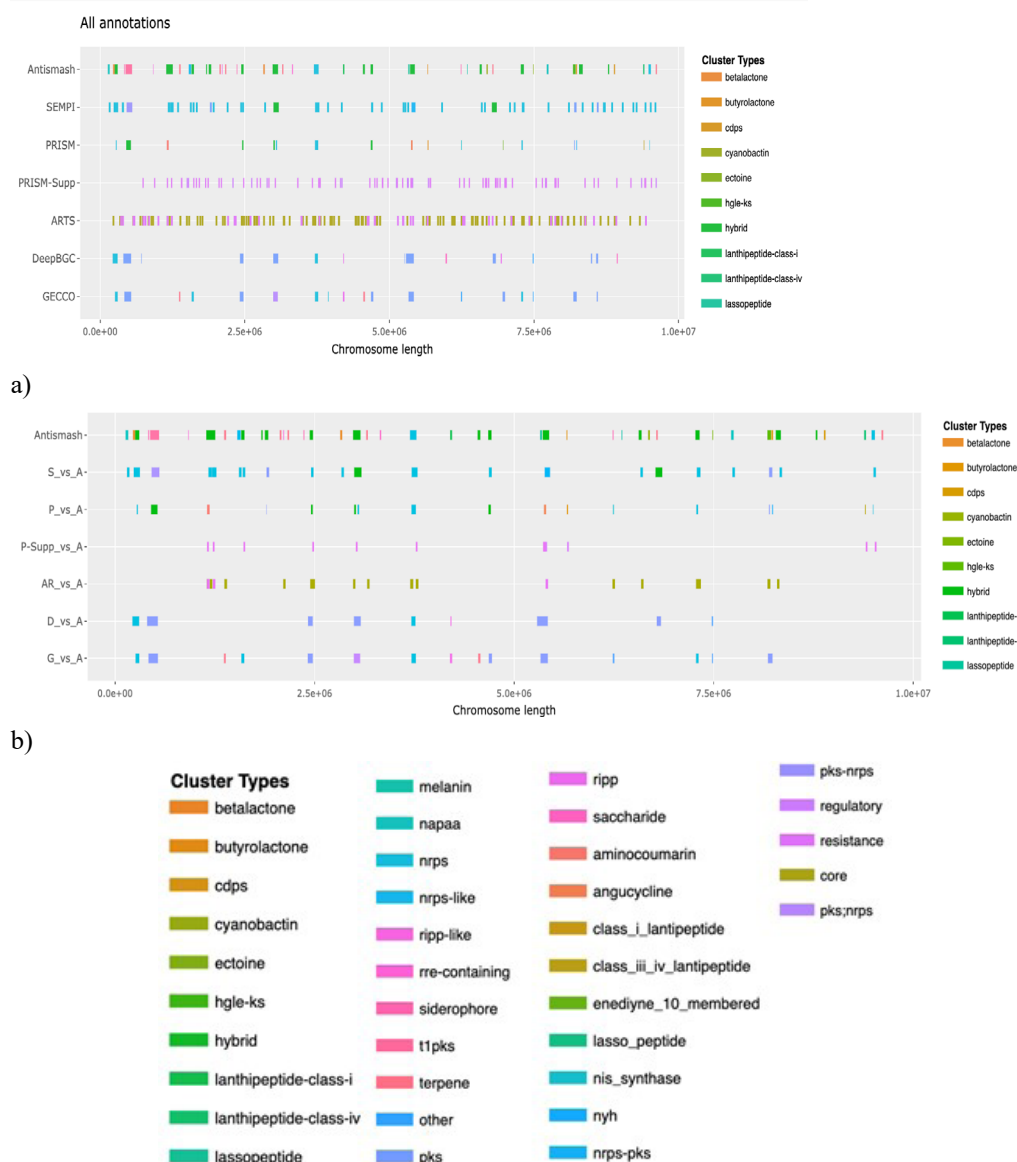


Fig. 2. BGCs annotations' all (a) and in comparison to the reference – antiSMASH (b). Abbreviations of rows: first letters of BGC applications (e.g. S_vs_A means SEMPI versus antiSMASH)

tive to each other, edges of each BGC, and the expected class of compounds encoded by the BGC. As we can see, each tool pinpointed a different number of gene clusters (fig. 2a). Particularly, antiSMASH has identified 44 BGCs, SEMPI – 48 BGCs, PRISM – 19 BGCs, PRISM-Supp – 84 regulatory, resistance and transporter genes within BGCs, ARTS – 186 core and resistance genes within BGCs. Machine learning engine DeepBGC revealed the highest number of BGCs (108), and the most recent addition to BGC-finding algorithm, GECCO, unearthed 30 BGCs. The aforementioned tools reveal overlapping set of BGCs (most of them listed in Table 1), although each service also leads to unique findings.

The antiSMASH annotation was compared against DeepBGC and GECCO results in more details. The plots (Fig. 3, a, b) show the number of BGCs detected by applications in accordance with different activity scores. antiSMASH independently annotated more than 40 clusters with the highest activity scores, while DeepBGC annotated only 6 BGCs with a score of 50 %. At the same time, DeepBGC and antiSMASH together identified 14 BGCs with activity score of 50 %. The situation is similar when comparing antiSMASH and GECCO results: GECCO independently didn't identify clusters with a high activity score, while in combination with antiSMASH it annotated 19 clusters with a score of 50 %.

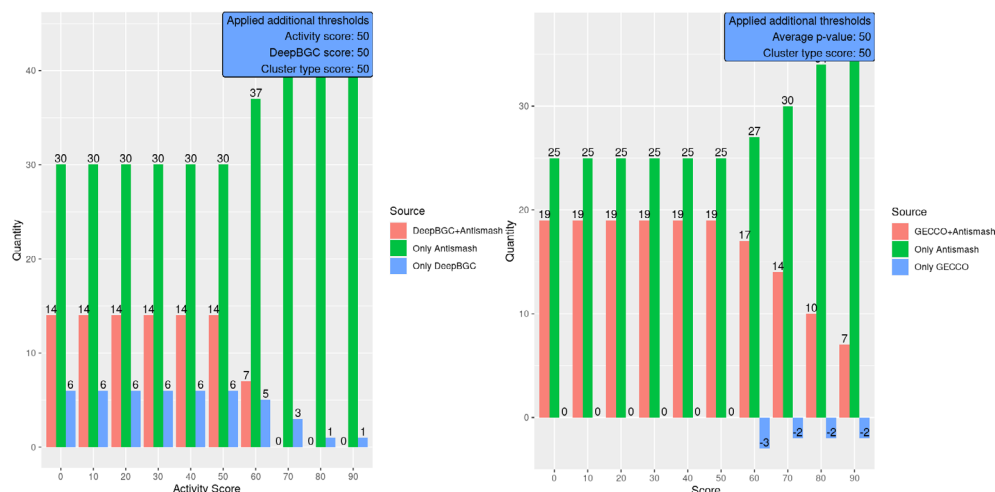


Fig. 3. a) Comparison of antiSMASH and DeepBGC annotations at a given score threshold; b) comparison of antiSMASH and GECCO annotations at a given score threshold

We summarized all BGC mining results in a combined Biocircos plot where arcs connect the same genomic intervals identified as a BGC by different tools (outer face of the plot, Fig. 4). Different arc colors stand for biogenetically different types of specialized metabolism. The reference column-based mode of coloring links was used, as shown to the right of Biocircos plot.

For example, a cluster of genes for the biosynthesis of a compound similar to manumycin-type antibiotic colabomycin was annotated by antiSMASH as arylpolyene-ladderane-lassopeptide-type BGC №25 in a genomic interval from 4 675 333 to 4 717 422. Analyzing Biocircos plot, we can see this BGC was also identified by the other bioinformatic tools, however, the genomic coordinates and biosynthetic type of the BGC slightly differ from the antiSMASH results. GECCO annotated colabomycin BGC as pks-type cluster in a region ranging from 4 682 664 to 4 722 714 bp; SEMPI – as nrps-type cluster (from 4 683 996 to 4 720 559 bp), PRISM – as lassopeptide-nrps-type cluster (from 4 678 456 to 4 708 906 bp). DeepBGC did not detect the aforementioned BGC, while ARTS and PRISM-Supp tools did not identify resistance genes within this BGC.

Global specialized metabolism regulatory network of NRRL 3504. We attempted to reconstruct the regulatory system in *S. roseochromogenes* by searching for orthologs of global regulators of model organism *S. coelicolor*. The proteins of the Bld cascade are key to the transition from substrate to aerial mycelium and the main protein of this cascade, BldD, represses the expression of the other cascade components [13]. Orthologs of genes encoding the Bld-cascade were found: the search revealed orthologs with a high percentage of amino acid sequence identity for BldD (99 %), BldM (100 %), BldN (90 %). The central place in the Bld-cascade is given to the pleiotropic regulator AdpA involved in regulation of a number of other proteins. We revealed ortholog of AdpA of *S. coelicolor* in the genome of *S. roseochromogenes* with the identity of amino acid sequences of 89 %. Analysis of the functional regions (dimerization and DNA-binding domains) showed that the level of sequence identity in them is close to 100 %.

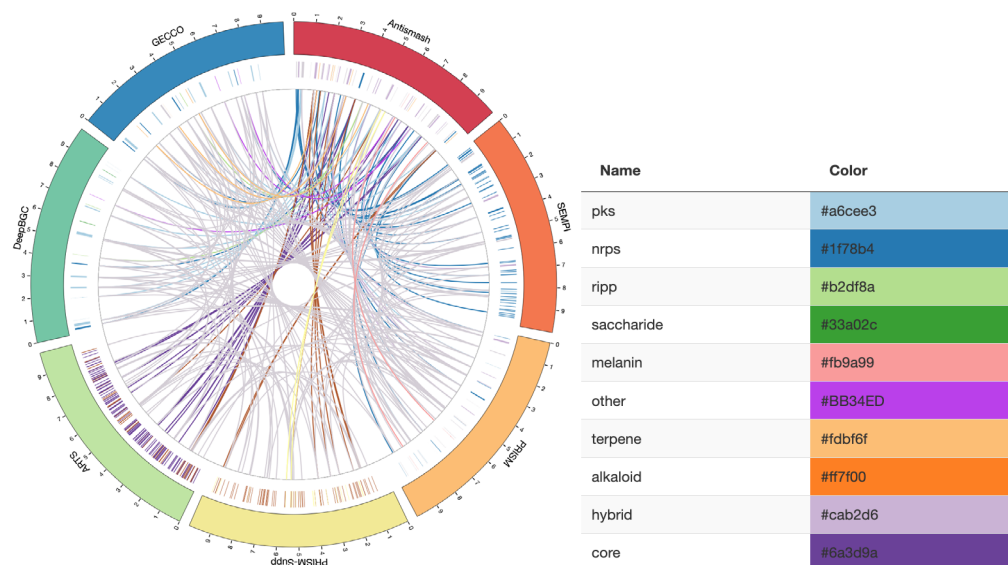


Fig. 4. Biocircos visualizing plot and its coloring scheme; see main text above for more details

Streptomyces genomes contain genes of chaplins and rodmins, which encode small proteins hydrophobins, necessary for the formation of the water-repellent surface of the air mycelium and involved in the processes of spore formation. Our analysis revealed a low level of identity of the amino acid sequence of AmfR of *S. coelicolor* to its ortholog in *S. roseochromogenes* genome. AmfR controls the synthesis of the morphogenetic surfactant peptide SapB, involved in the straightening of hyphae in the air. It is likely that the low level of sequence similarity or the complete absence of orthologs of genes encoding these proteins are the causes of the defective sporulation of NRRL 3504.

The next step was to find orthologs of genes that encode components of the Whi-cascade involved in the maturation of spores (pigmentation, septation). The search identified orthologs with a high percentage of amino acid sequence identity for WhiA (95 %), WhiB (100 %), WhiG (94 %), WhiH (89 %), WhiI (97 %). An ortholog with a low percentage of identity (32 %) was identified for WhiE involved in the synthesis of polyketide spore pigment during the late stages of sporulation.

In addition to analogs of genes encoding global regulators, shown in Fig. 5, we found orthologs for a number of other transcriptional regulators of secondary metabolism, such as: ArgR

(92 %), Crp (97 %), DasR (96 %), RelA (93 %), SlbB (91 %), WblA (96 %). No significant differences were found in functionally important areas (DNA or effector molecule binding regions).

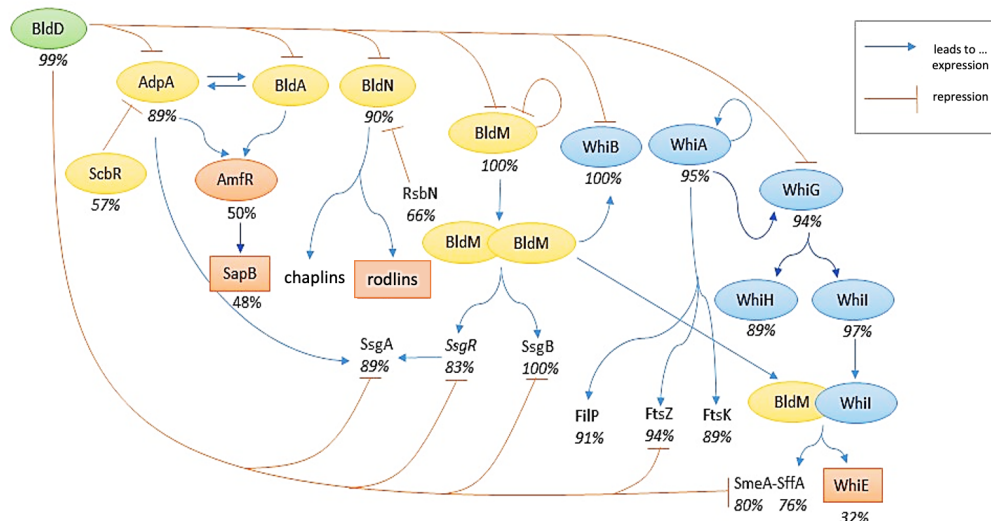


Fig. 5. Scheme of the putative regulatory network of NRRL 3504 (based on the network of *S. coelicolor*).

The percentages indicate the identity of the amino acid sequences of *S. roseochromogenes* proteins with the corresponding regulators in *S. coelicolor*. Components absent in NRRL 3504 or having a low degree of similarity to the corresponding *S. coelicolor* proteins are highlighted with red

Streptomyces roseochromogenes possesses an exceptional biosynthetic potential with 52 BGCs identified in our analysis. BGCs № 8, 19, 32, 45 deserve special attention as they harbor one or several resistance markers according to PRISM and ARTS. For example, BGC №32 consists of 5 candidate BGCs, identified by antiSMASH to carry 5 transport genes, 4 regulatory genes; 1 resistance target was identified by ARTS. Further decomposition of such a complex region is not feasible in the absence of experimental results. One annotated unusual genomic interval contained two BGCs (№ 21,22), that are identical to venemycin and thiazostatin BGCs, which we could separate into corresponding regions.

NRRL 3504 is rich in novel RiPPs, which take up to 16,3 % of all identified BGCs. As RiPPMiner-Genome results show, BGCs № 26, 30, 37, 50 are particularly interesting, as they have both: biosynthetic machinery and precursor peptides for natural product synthesis. Given short length of RiPP BGCs, they could be an interesting target for heterologous expression.

Clusters № 5, 11 and 25 can be also considered targets for further analysis. The first one is similar to sceliphrolactam, with rearranged tailoring enzymes and different PKS domains. Hence its product is likely different from known ones, but the BGC is similar enough to be functional. BGC №11 displays interesting D-ala-D-ala ligase signature, identified by PRISM, responsible for vancomycin resistance. Therefore, the product could target peptidoglycan cell wall of Gram-positive bacteria. On the other hand, cluster 25 is similar to salinamides with different NRPS domains and several tailoring enzymes. Also, it encodes EF-Tu isoform, which could shed the light on the potential target of its product. This incomplete homology to salinamides could mean that the cluster direct the biosynthesis of a complete product different from the known one.

We found that antiSMASH data are the most informative ones when used in combination with ARTS and PRISM results. Collectively these tools allowed to refine cluster boundaries

and prioritize targets for further investigation. GECCO results were mostly congruent with antiSMASH results, yielding also 2 unique BGCs (№39 and №47). We included them into the Table 1 as BGC №39 was also identified by PRISM as a PKS-based BGC harboring an efflux transporter and a core gene within its boundaries. BGC №47 was identified by SEMPI as a BGC encoding PKS along with MFS transporter within its boundaries. We added NRPS cluster from PRISM (BGC №46) as well, given its simultaneous identification with SEMPI.

Overall, we believe that combination of different genome mining approaches provides the most exhaustive annotation of BGCs in genomes, and so the use of non-antiSMASH tools should not be neglected.

Acknowledgements. B. O. thanks for grant support of the Ministry of Education and Science of Ukraine (BG-21F).

REFERENCES

1. Mancy D, Ninet L, Preud'Homme J. Antibiotic 18631 RP. U.S. patent. 1974. 3(793):147.
2. Heide L. The aminocoumarins: biosynthesis and biology // Nat. Prod. Rep. 2009. Vol. 26. P. 1241–1250. <https://doi.org/10.1039/b808333a>.
3. Rückert C., Kalinowski J., Heide L. et al. Draft genome sequence of *Streptomyces roseochromogenes* subsp. *oscitans* DS 12.976, producer of the aminocoumarin antibiotic clorobiocin // Genome Announc. 2014. 2(1):e01147-13. <https://doi.org/10.1128/GENOMEA.01147-13>.
4. Blin K., Shaw S., Kloosterman A. et al. antiSMASH 6.0: improving cluster detection and comparison capabilities // Nucleic Acids Res. 2021. Vol. 49. P. 29–35. doi: 10.1093/nar/gkab335.
5. Hemmerling F., Piel J. Strategies to access biosynthetic novelty in bacterial genomes for drug discovery // Nat. Rev. Drug Discov. 2022. Vol. 21. P. 359–378. doi: 10.1038/s41573-022-00414-6.
6. Skinnider M., Johnston C., Gunabalasingam M. et al. Comprehensive prediction of secondary metabolite structure and biological activity from microbial genome sequences // Nat Commun. 2020. Vol. 11. P. 6058. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19986-1>.
7. Hannigan G., Prihoda D, Palicka A. et al. A deep learning genome-mining strategy for biosynthetic gene cluster prediction // Nucleic Acids Res. 2019. Vol. 47: e110. doi:10.1093/nar/gkz654.
8. Mungan M., Alanjary M., Blin K. et al. ARTS 2.0: feature updates and expansion of the Antibiotic Resistant Target Seeker for comparative genome mining // Nucleic Acids Res. 2020. Vol. 48. P. 546–552. doi: 10.1093/nar/gkaa374.
9. Zierep P., Ceci A., Dobrusin I. et al. SeMPI 2.0-A web server for PKS and NRPS predictions combined with metabolite screening in natural product databases // Metabolites. 2020. Vol. 11. 13. doi: 10.3390/metabo11010013. PMID: 33383692; PMCID: PMC7823522.
10. Carroll L., Larralde M., Fleck J. et al. Accurate *de novo* identification of biosynthetic gene clusters with GECCO // 2021. doi:10.1101/2021.05.03.442509.
11. Melnyk S., Stepanyshyn A., Yushchuk O. et al. Genetic approaches to improve clorobiocin production in *Streptomyces roseochromogenes* NRRL 3504 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2022. Vol. 106. P. 1543–1556. doi:10.1007/s00253-022-11814-4.
12. Kuzniar A., van Ham R., Pongor S. et al. The quest for orthologs: finding the corresponding gene across genomes // Trends Genet. 2008. Vol. 24. P. 539–551. doi.org/10.1016/j.tig.2008.08.009.
13. Liu G, Chater KF, Chandra G, Niu G, Tan H. Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in streptomyces // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2013. Vol. 77. P. 112–143. doi: 10.1128/MMBR.00054-12.

**ГЕНОМНИЙ ПОТЕНЦІАЛ *STREPTOMYCES ROSEOCHROMOGENES* NRRL 3504
ЩОДО ПРОДУКЦІЇ СПЕЦІАЛІЗОВАНИХ МЕТАБОЛІТІВ: АНАЛІЗ *IN SILICO*****С. Мельник, П. Граб, Б. Остап***

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна

*e-mail: bohdan.ostash@lnu.edu.ua

Streptomyces roseochromogenes NRRL 3504 – єдиний відомий продуцент амінокумаринового антибіотика хлоробіоцину, інгібітора бактерійних ферментів ДНК-гіраз і топоізомераз IV. Секвенування геному NRRL 3504 виявило багато кластерів генів біосинтезу спеціалізованих метаболітів (BGC), що свідчить про значний потенціал даного виду у продукції різноманітних, не відомих раніше біоактивних сполук. У даній статті ми представляємо біоінформативний аналіз геному NRRL 3504, спрямований на те, аби краще зрозуміти, які сполуки може синтезувати NRRL 3504, а також генетичні механізми, що потенційно обмежують цей синтез. Окрім найширше застосовуваного біоінформативного сервісу для виявлення BGC antiSMASH, ми звертаємось до альтернативних *in silico* інструментів дослідження вторинного метаболізму, таких як PRISM, DeepBGC, ARTS, SEMPI та GECCO. Різні застосунки, маючи власний механізм детекції, виявили не лише спільний набір BGC у NRRL 3504, а й низку нетипових BGC. Особливо це стосується базованого на принципі машинного навчання застосунку DeepBGC, що ідентифікував найбільшу кількість BGC. Для узагальнення отриманих результатів нами використано біоінструмент BGCviz, що візуалізує та інтегрує геномні координати BGC, отримані з різних джерел. Ми обговорюємо генетичну та структурну різноманітність BGC і окреслюємо найцікавіші, на нашу думку, цілі для подальших досліджень. Більшість описаних BGC, найімовірніше, «мовчазні» через дуже низьку або нульову транскрипцію. Таким чином, може стати доцільним пошук способів активації транскрипції таких цільових BGC. З цією метою ми здійснили пошук у геномі NRRL 3504 ортологів глобальних регуляторних генів, які, як відомо, беруть участь у регуляції спеціалізованого метаболізму *S. coelicolor* A3(2). Нам вдалось ідентифікувати майже усі глобальні регулятори у NRRL 3504, а це може свідчити, що загальна схема регуляції спеціалізованого метаболізму в A3(2) та NRRL 3504 є подібною. Результати нашої роботи закладають основу для детальнішого експериментального вивчення «мовчазного» спеціалізованого метаболізму NRRL 3504.

Ключові слова: *Streptomyces roseochromogenes*, аналіз геному, біоінформатика

**COMBINED IMPACT OF TOXICANTS AND HELMINTHS ON GREAT POND
SNAIL (*LYMNAEA STAGNALIS* L.) HOMEOSTASIS STABILITY**

G. Kyrychuk¹, A. Stadnychenko¹, O. Uvayeva^{2*}

¹*Zhytomyr Ivan Franko State University
40, Velyka Berdychivska St., Zhytomyr 10002, Ukraine*

²*Zhytomyr Polytechnic State University
103, Chudnivska St., Zhytomyr 10005, Ukraine*

**e-mail: bio-2016@ukr.net*

Anthropogenic pressure on the hydrosphere has led to the progressive increase in its pollution by various components of both industrial and domestic effluents. The surfactants, which are the components of synthetic detergents, are among the most dangerous for aquatic organisms.

The effect of different concentrations of detergent “Ushastyi nian” produced by “Vinnytsiapobutkhim” was studied in concentrations of 2.5, 5, 10, 20, 40 mg/dm³ on a number of physic-chemical parameters of the homeostasis of haemolymph of *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758). The investigated great pond snails were intact or infected with various life cycle stages (maternal and daughter redia, cercariae) of the trematode *Echinoparyphium aconiatum* Dietz, 1909. The studied material includes 315 individuals of molluscs collected by hand in the reservoirs of the drainage and reclamation system in the basin of the Teteriv River (right-bank tributary of the Middle Dnieper river) in Central Polissya (Zatyshshia village, Zhytomyr Region). The toxicological experiment was conducted by standard scheme according to (Alekseev, 1981). It was preceded by a mandatory (Khlebovich, 1981) 15-day acclimation of animals intended for toxicological examination to aquarium conditions (volume of aquaria 20 l, density of molluscs 3–4 individuals/l, water temperature 20–22 °C, pH 7.9–8.4, oxygenation 8.1 to 8.5 mg O₂/dm³).

The presence of molluscs in toxic environments was accompanied by the development of a responsive reaction such as poisoning. The most obvious symptoms were quantitative changes in the values of physic-chemical parameters of their haemolymph, which largely ensure its homeostasis. These parameters include the total protein level, the specific gravity, and pH. In these molluscs, about 90 % of the total haemolymph protein is represented by haemocyanin. It determines, due to its powerful buffering properties, both the level of oxygen capacity and water-osmotic pressure in the body of molluscs.

The pathological process, which develops as a result of combined toxicant and helminthic invasion impact on *L. stagnalis* expresses more clear, quick and higher toxicant concentration, helminthic invasion intensity and durability level of different lifecycle stages of trematodes. The experimental molluscs defend themselves against the affected values of the mentioned indicators of stability of homeostasis by the set of inherent protective and adaptive reactions (rapid behavioral, physiological and biochemical ones). They aimed at maintaining the viability of individuals.

The effectiveness of protective and adaptive reactions in trematode-infected molluscs was significantly lower compared to non-infected individuals. The degree of cumulative damaging effect of the toxicant and parasites was determined not only by the concentration of surfactants. To a large extent it depended on both the rate of the infection and the stage of the life cycle of parasites. The pathogenic effect of the latter on their mollusc hosts

decreased as follows: “old” (maternal) redia > “young” (daughter) redia > cercariae.

Keywords: *Lymnaea*, Trematoda, surfactant solutions, homeostasis

In the second half of XX and the beginning of XXI centuries new artificial and toxic to freshwater organisms pollutants have emerged [6, 15–18, 23]. Now one of the most acute problems of hydroecology is the determination of the resistance levels of at least the most abundant and widespread hydrobionts to different concentrations of the contaminants. The levels of resistance characterize the possibility of formation and persistence of the majority of productive aquatic ecosystems. Hence the necessity of understanding the reactions of dominant species to different toxicity levels of aquatic environment. Such data are very important for choosing the biomarker species for testing and bioindication in the monitoring of natural waters [4, 6, 7, 9, 17]. They are also needed to create unified (ecological) qualifying system for natural land surface waters of Ukraine [22].

In the last few decades, the natural waters of Ukraine have become more and more polluted with various synthetic detergents [5, 7, 18, 20]. Usually they include surfactants (SA), both anion-active (alkyl sulfates, alkylbenzenesulfonates, alkylarylsulfonates, tetrapropylenebenzenesulfonates etc.) and non-ionic ethylene derivatives [13]. Together with municipal and industrial effluents they get into natural waters. The current MPC standards are 0.5 mg/dm³ for anion-active and 0.1 mg/dm³ of SA for non-ionic detergents [21]. However, in the waste dumping sites (both industrial and household) the concentrations of SA pollutants significantly exceed the MPC (20 mg/dm³).

In water bodies and watercourses, SA usually concentrate at the air-water interface and severely inhibit the oxygen entry into the water through their ability to form surface foams. It negatively affects the aerobic hydrobionts, targeting their cutaneous and lung breathing. SA destruct very slowly, and persist in the environment for a very long time.

Our study aimed to conduct an acute test to determine the particularities of the impact effect of various SA concentrations on the great pond snail *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) homeostasis stability both intact individuals and infested with helminthes ones.

Material and methods

The study material is 315 specimens of *L. stagnalis* (height of shell 59.7±2.21 mm) collected manually on 03.05.2020 in small water bodies of drainage system at Central Polyssia in the basin of Teteriv river (farm Zatyshshia, Zhytomyr region). The animals were transported to the lab tightly wrapped in several layers of moistened burlap. In the lab the molluscs were acclimated for 15 days [10]. The conditions were as follows: aquarium volume 20–100 l, animal density 3–5 specimens/l, water temperature 18–20 °C, pH 7.9–8.4, oxygenation 8.1–8.5 mg O₂/dm³. Every three days the water was refreshed. The animals were regularly fed by thin (2–3 mm) carrot, white cabbage slices, lettuce leaves macerated in water for 5–7 days.

Toxicological experiment was conducted according to standard methods [1]. The pollutant was modeled by detergent “Ushastyi nian” produced by “Vinnitsiapobutkhim” which contains 5–15 % anion-active and 5 % non-ionic SA. It also contains antifoam substances. In the tentative experiment, the LC₀ was established as < 2.5 mg/dm³, LC₁₀₀ = 100 and LC₅₀ = 50 mg/dm³ as calculated by moving average. Between the LC₀ and LC₅₀ five concentrations were chosen for the main toxicological experiment (2.5, 5, 10, 20, 40 mg/dm³). The exposure was set for three days. Water was refreshed daily. The animals were not fed. There were controls in all experiments.

After the molluscs were exposed to pollutant they were measured, weighted on WPS 1200/C weights, and dissected with full exsanguinations. The volume of haemolymph was es-

timated using insulin syringe, specific gravity was evaluated according to Fillips and Van Slyke [3], pH was tested using express method, total protein content was measured by refractometer RPL-3. The presence or absence of parasitic worms was determined using light microscopy (Biolam LOMO, x56, x280) of temporary histological preparations of hepatopancreas. Trematode species were identified according to Zdun [22]. Since total protein content and specific gravity of haemolymph are plastic features, CV – up to 50 % (p=95 %) was chosen for characterizing their changes.

Results and discussion

Body of great pond snails inside is filled with haemolymph and is called haemocoel. Stability of haemolymph homeostasis is one of the necessary requirements of homeostasis of the molluscs overall organism and its life activity. One of the most significant characteristics of the snail's physiological status is the total protein content in the gastropod's haemolymph. Nearly 90 % of all haemolymph protein in many molluscs is Cu-containing respiratory pigment haemocyanin (Hcy) [16], and the amount of Hcy determines the haemolymph oxygen capacity. The Hcy does not only transport oxygen, it also has significant buffer properties [2] and maintains pH balance of the haemocoel at the optimum level. Finally, its concentration regulates oncotic pressure of the haemolymph, which normally is 1.2–1.3 cm of water column [2, 15]. Similarly to haemoglobin, Hcy can inversely combine with oxygen, but its activity in this process is 3–5 times lower compared to haemoglobin. Still the role of Hcy in providing oxygen to these molluscs is really important, because the content of oxygen combined to Hcy is twice higher than that of oxygen otherwise dissolved in haemolymph plasma [2]. The rest 10 % of haemolymph protein metabolism-related substances include other proteins, sulfhydryl groups, products of nitrogen metabolism such as uric acid, ammonia, guanine, allantoin, purine, amino acids and non-protein (residual) nitrogen [21].

It is found out (Table 1) that neither intact nor infested with *Echinoparyphium aconiatum* Dietz, 1909 (mostly by “mature” (parent) and “young” (daughter) rediae, cercariae, and only occasionally – metacercariae) *L. stagnalis* of control group had got significant changes in total protein content in haemolymph. We suppose that there are several combined reasons for this. Firstly, the infestation of molluscs was rather moderate, as only 4–7 % of overall volume of hepatopancreas (the organ which is preferable for the helminths) was infected. Also, the foci of parasitic infestation were both few (2–5 per specimen) and did not spread wide (concentrating on areas of $1.1\text{--}1.5 \times 1.5\text{--}1.5$ cm). Finally, the trematode life stages which are most harmful for molluscs (“mature” parent rediae), capable of simultaneous holozoic nutrition and parietal digestion [8] – were not numerous. The “young” rediae with underdeveloped pharynx, intestine and locomotive appendages could become a significant danger to their hosts only in large clusters and in connective tissue layers which bound hepatic ducts. The pressure of these peculiar “incrustations” on the adjacent tissue blocked the delivery of oxygen and nutrients from the haemocoel to the infestation foci, and hindered the removal of parasite metabolites toxic to their hosts.

In the environment with 2,5 mg/dm³ SA, total protein content in haemolymph of intact *L. stagnalis* remained at the normal level, while that of infested molluscs tended to decline. This may indicate the beginning of pathological process in the latter animal group, caused by SA intoxication. Clearly, the balance of Hcy←O₂ system shifted to the increasing concentration of oxyhaemocyanin in the haemolymph which may be a sign of adaptive and protective processes against the combined harmful influence of toxicants and helminths infestation. Such changes in the Hcy←O₂ system indicate the overall increased metabolism of *L. stagnalis* [12]. This is supported also by the simultaneous observations of two protective adaptation reactions in molluscs:

the behavioral reaction of avoidance and fast protective physiological reaction of mucus secretion by skin integument.

At 5 mg/dm³ SA in the environment, the gastropods lacking *E. aconiatum* were shown to have lower total protein content in haemolymph, possibly due to the additive shift of the Hcy←O₂ system. The snails infested with that helminths were unable to use this measure of protection against the toxicant in that concentration, as seen from the increased total protein content in their body (p<0,01). This concentration of SA caused progression of intoxication in the animals of the latter group to the next phase, which is depression. The intact animals in contrast, stayed at the stimulation phase. The depression phase is characterized by the beginning and fast development of increased water content in soft bodies of the snails. The first signal of this process is fine sparse adhesiveness over molluscs head and dorsally on foot, later the adhesiveness spreads and solidifies into extensive swelling.

Table 1

Effect of SA and trematode infestation on the some physic-chemical features of haemolymph homeostasis of *L. stagnalis*

Infestation	n	Total protein, %		Specific gravity, g/cm ³		pH	
		lim	M±m CV, %	lim	M±m CV, %	lim	M±m CV, %
Control							
Absent	28	1,2-2,2	1,82±0,01	1,13-1,25	1,14±0,01	7,0-8,0	7,64±0,13
Present	26	1,5-2,0	1,84±0,06	1,20-1,24	1,16±0,02	6,0-8,0	7,52±0,19
2,5 mg/dm ³							
Absent	19	1,3-2,1	1,79±0,05 91,00	1,10-1,17	1,11±0,01 91,00	7,0-8,0	7,60±0,16 92,50
Present	16	1,2-1,8	1,70±0,07 92,50	1,05-1,21	1,13±0,02 91,00	7,0-8,0	7,59±0,19 93,50
5 mg/dm ³							
Absent	17	1,5-1,7	1,62±0,03 94,50	1,09-1,25	1,17±0,04 91,00	7,0-8,0	7,57±0,17 93,50
Present	8	1,4-2,2	1,90±0,04 94,50	1,18-1,28	1,21±0,06 93,00	7,0-8,0	7,49±0,21 91,00
10 mg/dm ³							
Absent	36	1,4-2,1	1,91±0,05 94,00	1,11-1,73	1,16±0,02 90,00	6,0-9,0	7,67±0,26 91,00
Present	31	1,5-2,3	2,16±0,04 96,00	1,22-1,91	1,19±0,01 92,50	6,0-8,0	7,11±0,19 95,50
20 mg/dm ³							
Absent	37	1,6-2,3	2,10±0,08 96,00	1,13-1,36	1,20±0,01 92,00	6,0-7,0	6,88±0,34 97,60
Present	29	1,5-2,8	2,61±0,07 97,50	1,11-1,35	1,29±0,02 94,00	6,0-7,0	6,60±0,45 98,00
40 mg/dm ³							
Absent	33	1,6-2,4	2,02±0,06 95,50	1,22-1,41	1,28±0,02 94,00	5,0-7,0	6,18±0,28 98,70
Present	35	1,7-3,4	3,22±0,12 99,70	1,21-1,44	1,31±0,02 94,50	5,0-7,0	6,02±0,33 99,00

In the environment with 10 mg/dm³ SA, the negative influence of the toxicant is observed in both experimental groups, though differently. The intact specimens entered the depression phase, and the infested animals were deeply depressed. The latter is evidenced by the increase in total protein content by 17 % compared with control (p<0,01), intense mucus formation on the

body surface and respiratory epithelium in the lung, loss of locomotion, highly increased water content of soft tissues (Table 2). The soft body of infested animals weighted significantly more than the soft body of intact molluscs (28.3 % compare to 8.8 %). Depressed lung and cutaneous respiration, or its lack can cause the development of hypoxic and anoxic stress in these animals. The molluscs that experience hypoxia and anoxia are known to revert to glycolysis [11, 13, 14]. The resultant energy is much less than in case of aerobic cleavage of glycogen. However, this allows the animals to survive for at least some time. It is obvious that the infested molluscs are unable to implement glycolysis as fully as the intact individuals because the tissues of hepatopancreas are destroyed in the foci of trematode infestation through mechanical damage and “biochemical mining” (one of the organ’s functions is glycogen storage).

At 20 and 40 mg/dm³ SA all experimental animals had demonstrated hypoproteinemia. The increased total protein content compared with that at 10 mg/dm³ of toxicants is 9.9 and 16.2 % respectively in intact and 20.8 and 49.1% respectively in the infected individuals ($p<0,01$). This substantial difference in the discussed characteristic between these two animal groups indicates the much smaller endurance of infested molluscs against the combined damage of toxins at helminths. The changes in specific gravity of haemolymph are notably analogous to those of total protein content (Table 1).

Table 2

Effect of SA and trematode infestation on water content in soft body of *L. stagnalis*

Infestation	n	lim	M±m	CV, %
Control				
Absent	28	2,17-3,99	3,51±0,19	–
Present	26	2,46-3,66	3,41±0,13	
2,5 mg/dm³				
Absent	19	2,45-3,80	3,63±0,21	93,00
Present	16	2,76-3,87	3,51±0,17	93,00
5 mg/dm³				
Absent	17	2,99-3,93	3,74±0,19	93,50
Present	8	3,14-3,97	3,79±0,15	94,00
10 mg/dm³				
Absent	36	2,85-4,99	3,82±0,11	94,00
Present	31	2,87-4,37	3,99±0,15	97,00
20 mg/dm³				
Absent	37	2,91-4,31	4,12±0,13	97,00
Present	29	2,98-4,66	4,56±0,23	98,50
40 mg/dm³				
Absent	33	3,10-4,52	4,25±0,30	98,00
Present	35	3,17-4,90	4,25±0,30	97,80

Simultaneously the water content of soft bodies of the animals increases, their head and foot do not fit in the shell cavity due to intense adhesiveness and fall out of it (the prolapse reaction). First singular instances of the latter reaction were observed at 10 mg/dm³ SA in 20 hours after the beginning of experiment, and at the end of experiment it was seen in 100 % of experimental *L. stagnalis*. At the same time, the experimental molluscs develop degenerative and necrotic changes of cutaneous body surface and lung epithelium. The extreme cases had shown some ulcers and bleeding. Also, there was noticed one-time sharp massive intestinal emptying, and sometimes the abortion of underdeveloped egg batches was seen. At the end of exposure, morbidity at 20 mg/dm³ SA was 5.4 % for intact and 13.8 % for infested animals. The latter still responded to me-

chanical stimulation (with injection of foot by the thin and sharp needle) meaning that they were able to survive sublethal stage of the pathological process. At 40 mg/dm³ of toxicant, 29-hour exposure was lethal for 46 % of intact and 98 % of infested molluscs. Those few individuals who survived under the given exposure were in a state of true shock and soon died.

For molluscs it is known [2] that one of the most important characteristics of homeostasis stability is active reaction of their haemolymph regulated by buffer systems of their organisms. The haemolymph buffer systems of invertebrates are based on their proteins, primarily the respiratory pigments. In *L. stagnalis* this role belongs to Hcy which has got markedly high buffer ability. This protein maintains the somewhat stable acid-base balance in snail haemolymph. In our experiment, pH was used to characterize the acid-base balance (Table 1). It is determined that at 2.5, 5, 10 mg/dm³ SA in the environment, the active reaction of the snail's haemolymph stays stable, weakly alkaline. It does not reflect the influx of acid products of metabolism into the haemocoel of the animals treated with SA in these concentrations (which exceed MPC in 5-80 times for anion-active and in 25-400 times for non-ionic SA) caused by the transition of the most affected animals to the anaerobic respiration under combined influence of toxicant and infestation. At 20 and 40 mg/dm³ SA (exceeding MPC in 20–120 times for anion-active and in 100–200 times for non-ionic substances) Hcy buffer ability was insufficient to maintain the stability of acid-base balance, and it was acidified slightly. Acidification of the haemolymph was more expressed in the case of trematode infestation.

Hence, adaptation of *L. stagnalis* to various concentrations of SA in its environment in acute experiment is a complex process which combines behavioral, physiological and biochemical reactions aimed at maintaining stability of homeostasis of the molluscs body under the changing conditions of their environment.

It is found out that at 2.5, 5, 10, 20, 40 mg/dm³ SA in the environment, the stability of haemolymph homeostasis of *L. stagnalis* is disturbed: some changes in total protein content (which is 90 % respiratory pigment Hcy) and in its specific gravity are noticed. Simultaneously, water content of the snail body rises and destruction of the respiratory epithelial surfaces occur. High buffer ability of Hcy ensures the stability of acid-base balance in the snail haemolymph at 2.5, 5, 10 mg/dm³ SA, and at 20 and 40 mg/dm³ of the detergent it acidifies. Notably, all of the disturbances in homeostasis are more expressed in great pond snails infested with trematodes. The level of pathogenicity of these parasites for *L. stagnalis* depends both on the intensity of infestation and on their life cycle stages, decreasing from the “mature” (parent) rediae to “young” (daughter) rediae to cercariae.

REFERENCES

1. Alekseev V. A. Basic principles of comparative toxicological experiment // *Gidrobiol. Zh.* 1981. Vol. 7. N 3. P. 92–100.
2. Aliakrinskaya I. O. On the buffer properties of mollusc haemolymph // *Zool. Zh.* 1972. Vol. 51. N 2. P. 189–186.
3. Beregova O. G., Kryvohacka Yu. O. Methods of clinical investigation of blood (methodical recommendations). Zaporizhzhia, 2006. 96 p.
4. Dudnik I. V., Evtushenko M. Yu. Hydrotoxicology: principal theoretical theses and their application: Kyiv: Ukrphytosociological centre, 2013. 297 p.
5. Ermoshyna T. V. The cilia locomotion activity of glimmeral epithelium Unionidae under anthropogenic press. Zhytomyr: Zhytomyr State University Press, 2008. 146 p.
6. Evtushenko M. Yu. Ecological physiology and biochemistry of hydrobiontes. Methodical school appliances for magisters of speciality 8.130301 – water bioresources. K.: NUBiP, 2015. 118 p.

7. Filenco O. F., Mikheeva I. V. Fundamental of hydroecology. M.: Kolos, 2007. 142 p.
8. Ginetsinskaya T. A., Mashanskij V. F., Dobrovolskij A. A. The ultrastructure of the integuments and the feeding peculiarities of rediae and sporocysts (Trematoda) // *Dopovidi Natsional'noyi Akademiyi Nauk Ukrayiny*. 1966. Vol. 166. N 4. P. 249–250.
9. Guseva T. V., Molchanova Ya. P., Vinnichenko V. N., Averochkin E. M. Hydrochemical indicators of the state of the environment. M.: Ekolajn, 2000. 127 p.
10. Hlebovich V. V. Acclimation of animal organisms. Leningrad: Nauka, 1981. 136 p.
11. Hochacka P., Somero D. *Biohimicheskaya adaptaciya* [Biochemical adaptation]. M.: Mir, 1988. 568 p.
12. Hubskiy Yu. I. Biological chemistry. Kyiv; Ternopil: Ukrmedkniga, 2000. 307 p.
13. Malyarevskaya A. Ya. Biochemical mechanisms of adaptation of hydrobionts to toxic substances // *Gidrobiol. Zh.* 1985. Vol. 21. N 3. P. 70–82.
14. Malyarevskaya A. Ya., Karasina F. M. Effect of several surface-active substances on hydrobionts // *Gidrobiol. Zh.* 1983. Vol. 19. N 5. P. 84–90.
15. Mezzerein S. V. Animal resources of Ukraine in the light of the theory of sustainable development. K.: Logos, 2008. 281 p.
16. Mussel watch program // Memorandum NOS NCCOS, 2008. 105 p.
17. Odum Yu. Ecology. M.: Mir, 1986. Vol. 1. 328 p.
18. Romanenko V. D. Fundamental of Hydroecology. Kyiv: Oberegy, 2001. 711 p.
19. Stadnychenko A. P., Ivanenko L. D., Vitkovskaya O. V., Kalinina N. N. The effect of trematode infestation on haemocyanin content in the pond snail (Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeidae) haemolymph // *Parasitologiya*. 1999. Vol. 33. N 2. P. 125–128.
20. Stadnychenko A. P. The effect of surface-active substances and trematode infection on the nutrition and digestion of *Planorbarius corneus* (Mollusca, Pulmonata, Bulinidae) // *Visn. DAU*. 2005. Vol. 2. N 15. P. 120–125.
21. The permissible limit evidence of the water quality for the fish-breeding reservoirs. The general enumeration of the GDK and RSLE of harmful substances for the fish-breeding reservoirs: №12-04-11 active from 09.09.1990. Kyiv, Ministry of the fish-breeding of USSR, 1990. 45 p.
22. Zdun V. I. Trematode Larvae in Freshwater Molluscs of Ukraine. Kyiv: Vyd. AN URSR, 1961. 143 p.
23. Zimny H. The ecological appraiseement of the ecological environment. Warsaw: A. Grzegorzczak Publishing House, 2006. P. 37–41.

Стаття надійшла до редакції 24.08.21

доопрацьована 09.12.21

прийнята до друку 16.02.22

**СУМІСНИЙ ВПЛИВ ТОКСИКАНТІВ І ГЕЛЬМІНТІВ НА СТАБІЛЬНІСТЬ
ГОМЕОСТАЗУ СТАВКОВИКА ВЕЛИКОГО (*LYMNAEA STAGNALIS* L.)****Г. Киричук¹, А. Стадниченко¹, О. Увасва²**¹Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир 10002, Україна²Державний університет «Житомирська політехніка»
вул. Чуднівська, 103, Житомир 10005, Україна

e-mail: bio-2016@ukr.net

У сьогодення антропогенний пресинг на гідросферу спричинився до прогресуючого зростання забруднення її різними компонентами як промислових, так і побутово-господарських стоків. Серед них одними з найнебезпечніших для гідробіонтів є поверхнево-активні речовини (ПАР) – компоненти синтетичних миючих засобів.

Досліджено вплив різних концентрацій детергента «Ушастий нянь» (2,5, 5, 10, 20, 40 мг/дм³) виробництва Вінницяпобутхім на низку фізико-хімічних показників стабільності гомеостазу гемолімфи – внутрішнього середовища *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) інтактних й інвазованих різними стадіями життєвого циклу (материнські та дочірні редії, церкарії) трематоди *Echinoparyphium aconiatum* Dietz, 1909. Матеріал: 315 екз. молюсків, зібраних вручну у водоймах осушувально-меліоративної системи у басейні р. Тетерів (правобережного допливу Середнього Дніпра) на Центральному Поліссі (хутір Затишшя Житомирської обл.). Методика постановки токсикологічного експерименту стандартна – за (Алексеев, 1981). Йому передувала обов'язкова (Хлебович, 1981) 15-добова аклімация призначених для токсикологічного дослідження тварин до умов акваріумного утримання: об'єм акваріумів – 20 л, щільність посадки молюсків – 3–4 екз./л, температура води – 20–22 °С, водневий показник (рН) – 7,9–8,4, оксигенізація – 8,1–8,5 мг О₂/дм³.

Перебування молюсків у токсичних середовищах супроводжувалось розвитком у них патологічного процесу – отруєння. Найвиразнішими симптомами його були кількісні зрушення значень фізико-хімічних показників гемолімфи піддослідних особин, котрі певною мірою забезпечують стабільність гомеостазу їхньої гемолімфи. До них належать вміст у ній загального білка, її питома маса і значення водневого показника рН. У цих молюсків близько 90 % загального білка гемолімфи представлено гемоціаніном, що визначає завдяки потужним його буферним властивостям рівень кисневої ємності й водно-осмотичного тиску в їх організмі.

Патологічний процес, який розвивається внаслідок комплексного впливу токсиканта і гельмінтної інвазії у *L. stagnalis*, проявляється тим виразніше і стрімкіше, чим вищими є концентрація токсиканта, інтенсивність гельмінтної інвазії та рівень витривалості щодо згаданих вище патогенних чинників різних стадій життєвого циклу трематод. Порушенням значень згаданих вище показників стабільності гомеостазу піддослідні тварини протиставляють сукупність притаманних їм захисно-приспосувальних реакцій – швидких поведінкових, фізіологічних і біохімічних, спрямованих на підтримання життєспроможності особин.

Ефективність таких зусиль у інвазованих трематодами молюсків виявилася значно нижчою порівняно з вільними від інвазії особинами. Ступінь сукупної ушкоджуючої дії токсиканта й паразитів зумовлювався не тільки концентрацією ПАР, але і значною мірою інтенсивністю інвазії і стадією життєвого циклу паразита. Патогенний ефект останніх щодо їхніх хазяїв-молюсків зменшувався у ряду “старі” (материнські) редії > “молоді” (дочірні) редії > церкарії.

Ключові слова: *Lymnaea*, Trematoda, ПАР, гомеостаз

СТРЕС-ІНДУКОВАНІ РЕАКЦІЇ МОХІВ НА ПЕРІОДИЧНЕ КОРОТКОЧАСНЕ І ТРИВАЛЕ ВИСУШУВАННЯ ЗАЛЕЖНО ВІД ВОДНОГО РЕЖИМУ ЇХНІХ МІСЦЕВИРОСТАНЬ

О. Лобачевська

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

Мохоподібні – це пойкилогідричні вищі рослини, вміст води та метаболічна активність яких залежить від водного режиму навколишнього середовища. Метою дослідження було встановити особливості стрес-індукованих реакцій мохів у контрольованих умовах короткочасного і тривалого висушування залежно від водного режиму їхніх місцевиростань. Для дослідження впливу періодичного висушування використовували культуру пагонів мохів одного віку зі середовищ з однаковим рівнем відносної вологості. Дегідратацію здійснювали протягом 24 год, знімаючи поліетиленове накриття з горщиків із культурою мохів. У варіанті досліду з короткочасним висушуванням полив здійснювали двічі на тиждень: одразу після закінчення 24-годинної дегідратації та на 3-й день після висушування. У варіанті з тривалим висушуванням мохи після дегідратації поливали 1 раз на тиждень – на 3-й день після висушування. Рослини контролю обприскували двічі на тиждень. На підставі аналізу морфометричних параметрів *Barbula unguiculata* Hedw. і *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. встановлено значне зменшення показників розмірів пагонів, листків і зростання щільності мохових дернинок під впливом тривалого й короткочасного висушування. У моху *Weissia longifolia* Mitt. тривале висушування спричиняло незначне збільшення розмірів листків і видовження пагонів, порівняно з контролем і короткочасним висушуванням, при цьому воно активувало утворення хлоронемних дендродів, що засвідчило його найбільшу пристосованість і адаптаційну здатність до періодичних змін вологості. Встановлено вищу чутливість пігментної системи *B. unguiculata* та *P. patens* до висушування, порівняно з *W. longifolia*. Виявлено, що в пігментній системі гігомезофітного моху *P. patens* визначальна роль належить хлорофілу *b* та феофітину *b*, тоді як оптимальне функціонування асиміляційного комплексу ксеромезофітного моху *B. unguiculata* залежить від хлорофілу *a* та феофітину *a*, у ксерофіта *W. longifolia* – завдяки стійкості хлорофілу *a* та міцності зв'язку каротиноїдів із білковими комплексами пігментної системи. Визначено залежність компонентного складу пігментного апарату, міцності зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК), активності хлорофілази та загального вмісту вуглеводів досліджуваних мохів від тривалості висушування та їхніх видових особливостей.

Ключові слова: висушування, пігментна система, хлорофілаза, карбогідрати, мохи

Мохоподібні є представниками пойкилогідричної стратегії адаптації до нестачі води на суші [13, 16, 28]. Будучи одними з нащадків перших наземних рослин, вони є зручною моделлю для з'ясування механізмів стійкості до висушування вегетативних органів і вивчення стрес-індукованих клітинних процесів [22, 23, 32]. Толерантність до десикації, швидше за все, виникла як важливе і необхідне пристосування рослин під час переходу з води на сушу. І все ж таки мохоподібні залишаються майже унікальними у своїй стійкості до висушування у вегетативному стані, яку зберегли внаслідок зниження рівня загального

метаболізму та здатності припиняти його за відсутності води. Їхня здатність відновлюватися після зневоднення зазвичай залежить від водного режиму середовища існування. Зокрема, водні види бріофітів можуть витримувати незначну втрату води, уникаючи пошкодження, та швидко відновлювати фотосинтез, тоді як мохоподібні з посушливих місцевиростань зберігають життєдіяльність після тривалих періодів висушування [15, 29, 31].

У ксерофітних видів мохів, як правило, короткий життєвий цикл, їхня життєва стратегія адаптована до нетривалого періоду опадів. Іноді нічна роса для них – єдине джерело води. За швидкої втрати вологи протягом дня проявляються механізми конститутивної стійкості до висушування, але принаймні деяким мохоподібним також властива індукційна толерантність до десикації. Встановлено, що висушування і регідрація мохів значно збільшують потоки поживних речовин і впливають на перетворення та зберігання Карбону й Нітрогену в екосистемах [27].

Установлено, що швидкість і тривалість висушування є важливими умовами для успішного відновлення після втрати води [12, 17, 18, 28]. Толерантність мохоподібних до конститутивної десикації забезпечує відновлення після повільного висихання і здатність використовувати індукційну систему захисту проти ефектів швидкого висушування. Так, мох *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & Mohr з місцевиростань з високою інтенсивністю світла має більшу толерантність до висушування, ніж рослини, вирощені в тіні, зі значно тривалішими періодами метаболічної активності [16, 28, 30]. Вивчення екологічної стратегії стійкості бріофітів до висушування є важливим, адже дає змогу з'ясувати механізми посухостійкості та генетичного конструювання толерантних до висушування культурних рослин [31]. Пігментна система мохів надзвичайно чутлива до зміни екологічних умов середовища, насамперед вологості [19, 24]. Дослідження кількісних і якісних змін пігментів пластид, метаболізму хлорофілу, міцності ПБК та забезпечення стабільності клітинних мембран мохів в умовах втрати води дає уявлення про пластичність їхніх обмінних процесів, виявляє ступінь пристосованості окремих видів до мінливих умов існування [16, 33]. З огляду на це, метою дослідження було встановити адаптивні стрес-реакції мохів в умовах короткочасного і тривалого висушування залежно від водного режиму їхніх місцевиростань.

Матеріали та методи

Для визначення особливостей конститутивних та індукованих морфофізіологічних пристосувань досліджено види мохів, які відрізнялися за життєвою стратегією, життєвою формою та відношенням до водного режиму їхніх місцевиростань, до впливу короткочасного і тривалого висушування. Гігромезофітний мох *P. patens* (за життєвою стратегією однорічний човник) і ксеромезофіт *B. unguiculata* (зі стратегією поселенець) у природних умовах утворюють низьку пухку дернину. Ксерофіт *W. longifolia* є представником мохів зі стратегією багаторічних човників і життєвою формою щільна низька дернина.

Для дослідження впливу періодичного висушування стерильні культури мохів вирощували зі спор на агаризованому середовищі в контрольованих умовах освітлення (2,0–2,2 тис. лк), температури (20–22,5 °C), вологості (90–95 %) і в 16-годинному світловому режимі. За 3 місяці односпорові гаметофори моху пересаджували на стерильний пісок у горщиках. Таким чином, використовували культуру пагонів одного віку, вирощену на агаризованому середовищі з однаковим рівнем вологості. Поливали рослини двічі на тиждень, обприскуючи розчином Кнопа з мікроелементами [20], розведеним у концентрації 1:5. Через 6 тижнів вирощування культур у люмінестаті розпочинали почергове висушування їх і полив. Накриття з горщечків із рослинами контролю знімали тільки двічі на тиждень

під час обприскування. Дегідратацію здійснювали протягом 24 год, знімаючи поліетиленове накриття з горщечків із культурою мохів. У варіанті досліду з короткочасним (24 год) висушуванням полив здійснювали двічі на тиждень: одразу після закінчення 24-годинної дегідратації та на 3-й день після неї. У варіанті з тривалим (96 год) висушуванням після 24 год дегідратації горщечки накривали і поливали рослини 1 раз на тиждень – на 3-й день після висушування. Тривалість експерименту – 12 тижнів.

Після завершення експерименту з періодичним висушуванням здійснювали морфометричний аналіз рослин. Вимірювання довжини пагонів, розмірів клітин, листків і їхньої кількості на стеблі виконували на моторизованому мікроскопі Axio Imager M1 (Carl Zeiss). Вміст фотосинтетичних пігментів у пагонах мохів вимірювали за методом Г. Хольма та Д. Веттштейна [7]. Міцність пігмент-білкових комплексів розраховували, порівнюючи екстракти пігментів 100 % і 60 % ацетоном [8]. Вміст феофітинів визначали спектрофотометрично після феофітинізації хлорофіловмісних екстрактів 25 % HCl [9]. Визначення активності хлорофілази проводили методом розділення фітольних і безфітольних пігментів [2]. Загальну концентрацію вуглеводів установлювали фенолсульфатним методом після кислотного гідролізу проб [26]. Для статистичного опрацювання отриманих результатів використовували програми “Excel” і “Statistica”, вірогідність різниці між варіантами оцінювали за критерієм Стюдента ($p \leq 0,05$ та $p \leq 0,01$) [11].

Результати і їхнє обговорення

На підставі аналізу морфометричних параметрів *B. unguiculata* і *P. patens* встановлено достовірне зменшення показників розмірів пагонів і листків та зростання щільності мохових дернинок під впливом короткочасного й тривалого висушування (рис. 1, 2). У *P. patens* довжина пагонів ($1,7 \pm 0,1$ см у контролі) зменшувалася на 18 % за короткочасного висушування та на 35 % унаслідок тривалої втрати вологи. Розміри листків зазнавали незначних змін під впливом короткого періоду висушування, а під впливом тривалого – розміри ($2,0 \pm 0,1$ мм) та їхня кількість ($30,5 \pm 3,5$ шт.) зменшувалися, порівняно з контролем, в 1,3 і 1,5 рази, відповідно. Істотно змінився характер галуження верхівки пагонів: у контролі утворювалося 3–4 бічні гілки до 1,0–1,2 см завдовжки, у варіантах досліду з короткочасним висушуванням зафіксовано переважно по 3 коротших бічних гілки (до 0,6 см). У разі тривалого висушування на верхівках пагонів виявлено поряд із дрібними гілками (0,2–0,5 см) численну кількість відмерлих бруньок, що свідчить про наявність адаптивних змін в апексі пагонів, де найактивніше відбувається “загартовування” до тривалої втрати вологи і відбір, очевидно, найстійкіших їхніх зачатків.

Відомо, що апекс пагона мохів стійкіший до висушування, ніж його нижні листки [25]. Раніше нами встановлено, що у бокоспорогонного моху *Brachythecium glareosum* (Bruch ex Spruce) Schimp. верхівки пагонів залишалися непошкодженими навіть після тривалого висушування та регенерували [5]. Високий рівень толерантності до висушування апексу пагонів моху пов’язували з ефектом «губки», який сприяв зменшенню втрати води [33].

Довжина пагонів і розміри листків *B. unguiculata* неістотно зменшувалися під впливом різної тривалості висушування, порівняно з контролем (довжина пагонів $2,0 \pm 0,2$ см, розміри листків $2,5 \times 0,1$ мм). За короткого висушування розміри пагонів і листків були меншими в 1,2 рази та за тривалого – в 1,3 і 1,4 рази відповідно (рис. 1). На відміну від гігромезофітного моху *P. Patens*, у ксеромезофіта *B. unguiculata* тривале висушування посилювало галуження верхівок пагонів, очевидно, для збільшення біомаси пагонів і водоутримувальної здатності щільніших дернин (рис. 2; табл. 1).

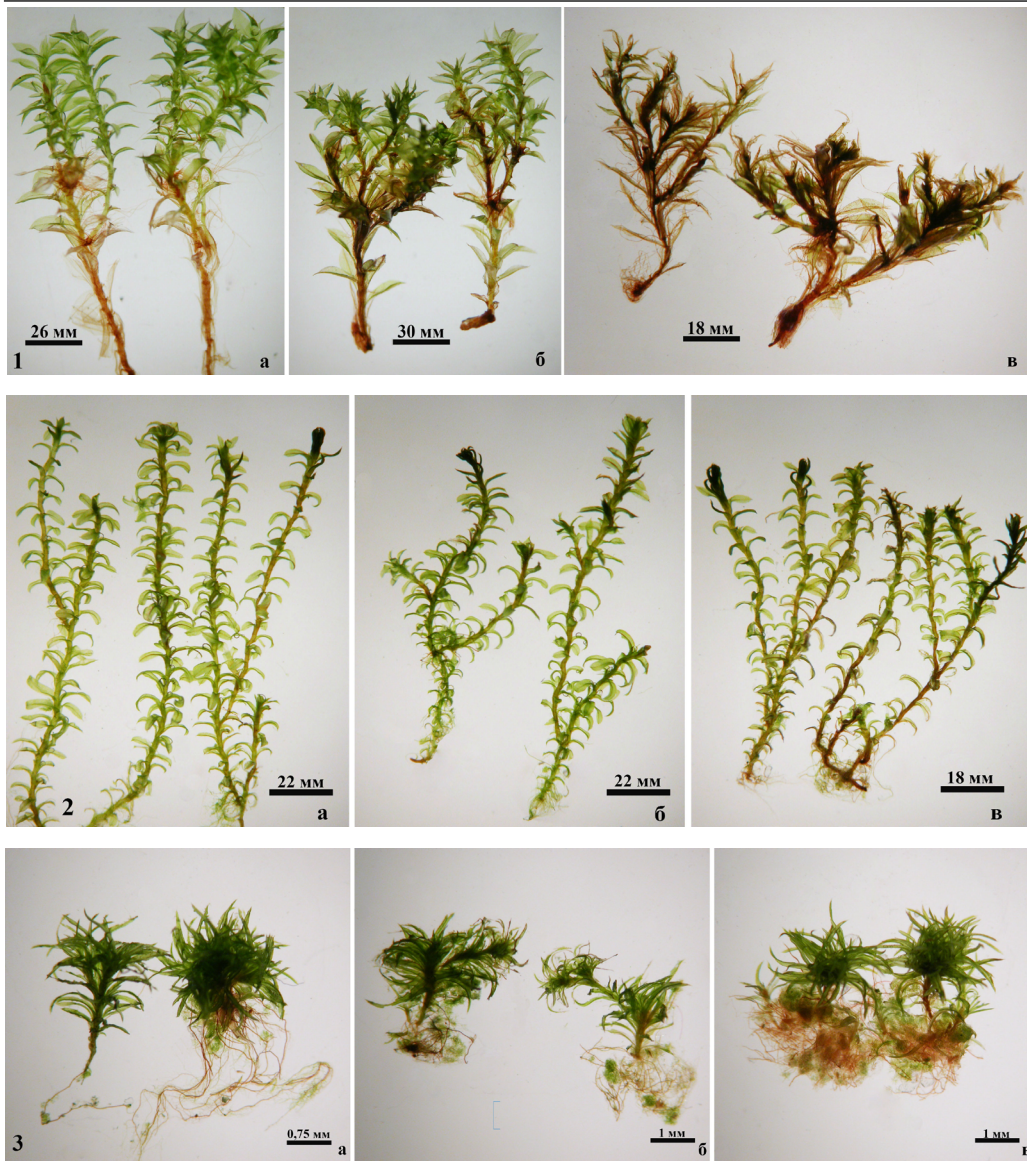


Рис. 1. Пагони *P. patens* (1), *B. unguiculata* (2) та *W. longifolia* (3) після періодичного впливу короткочасного (КВ) і тривалого висушування (ТВ): а – контроль; б – КВ (24 год); в – ТВ (96 год). Культуру всіх видів мохів вирощували в люмінестаті, в контрольованих умовах: фотоперіоду – 16 год, освітлення – $70 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$, температури – $20\text{--}22^\circ \text{C}$, вологості – 90–95 %. Тривалість експерименту 12 тижнів

Fig. 1. Shoots of *P. patens* (1), *B. unguiculata* (2) and *W. longifolia* (3) after periodic effect of short-term (SD) and long-term drying (LD): a – control; b – SD (24 h); c – LD (96 h). The culture of all moss species was grown in a luminostat, under controlled conditions: photoperiod – 16 h, illumination – $70 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$, temperature – $20\text{--}22^\circ \text{C}$, humidity – 90–95 %. The duration of the experiment is 12 weeks

Таблиця 1

Вплив короткочасного 24 год (КВ) і тривалого 96 год (ТВ) висушування на розміри пагонів і листків у *P. patens*, *B. unguiculata* та *W. longifolia*.

Культуру мохів вирощували в люмінестаті, в контрольованих умовах: фотоперіоду – 16 год, освітлення – $70 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$, температури – $20\text{--}22^\circ \text{C}$, вологості – 90–95 %. Тривалість експерименту 12 тижнів

The influence of short-term 24 h (SD) and long-term 96 h (LD) drying on the sizes of shoots and leaves of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia*. The culture of mosses was grown in a luminostat, under controlled conditions: photoperiod – 16 h, illumination – $70 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$, temperature – $20\text{--}22^\circ \text{C}$, humidity – 90–95 %.

The duration of the experiment is 12 weeks

Тривалість висушування	Довжина пагона, см	Кількість листків на пагоні, шт.	Довжина листка, мм	Ширина листка, мм
<i>P. patens</i>				
Контроль	$1,70 \pm 0,10$	$30,5 \pm 3,5$	$2,0 \pm 0,1$	$0,45 \pm 0,01$
КВ (24 год)	$1,39 \pm 0,18$	$28,7 \pm 2,9$	$1,8 \pm 0,4$	$0,37 \pm 0,01^*$
ТВ (96 год)	$1,10 \pm 0,07^{**}$	$20,8 \pm 3,2^*$	$1,5 \pm 0,2^*$	$0,30 \pm 0,02^{**}$
<i>B. unguiculata</i>				
Контроль	$2,03 \pm 0,20$	$74,4 \pm 6,0$	$2,5 \pm 0,1$	$0,50 \pm 0,01$
КВ (24 год)	$1,69 \pm 0,19$	$62,3 \pm 4,5$	$2,1 \pm 0,3$	$0,47 \pm 0,01^*$
ТВ (96 год)	$1,53 \pm 0,11^*$	$54,6 \pm 5,8^*$	$1,8 \pm 0,2^{**}$	$0,45 \pm 0,02^*$
<i>W. longifolia</i>				
Контроль	$0,38 \pm 0,02$	$32,5 \pm 2,6$	$2,0 \pm 0,1$	$0,02 \pm 0,001$
КВ (24 год)	$0,30 \pm 0,03^*$	$24,4 \pm 3,0^*$	$1,5 \pm 0,2^*$	$0,02 \pm 0,001$
ТВ (96 год)	$0,37 \pm 0,01$	$29,0 \pm 3,5$	$1,7 \pm 0,3$	$0,01 \pm 0,001$

Примітка: * – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна за $p < 0,05$; ** – за $p < 0,01$

Note: * – the difference between samples of the same species compared to control indicators is statistically reliable at $p < 0.05$; ** – at $p < 0.01$

У ксерофітного моху *W. longifolia* під впливом короткочасного висушування визначено достовірне зменшення морфометричних показників пагонів і довжини листків. Навпаки, тривале висушування спричиняло незначне збільшення розмірів листків і видо-вження пагонів, порівняно з короткочасним висушуванням, при цьому значно активувало утворення хлоронемних дендроїдів (табл. 1; рис. 1). Розвиток ортотропних ниток зеленої розгалуженої хлоронемі на червоно-коричневих столонах каулонемі, що росте плагіотропно, А. С. Лазаренко оцінив як адаптацію протонемі моху до аридного клімату [6]. Так, у контролі довжина пагонів була $0,38 \pm 0,02$ см, за короткого висушування – $0,30 \pm 0,03$ см і тривалого – $0,37 \pm 0,01$ см. Тенденція мінливості розміру листків залежно від тривалості висушування зберігалася: контроль – $2,0\text{--}2,1 \times 0,02\text{--}0,021$ мм, коротке висушування – $1,5\text{--}1,7 \times 0,02\text{--}0,021$ мм і тривале – $1,7\text{--}2,0 \times 0,01\text{--}0,011$ мм (табл. 1). Очевидно, дослід із тривалим періодом висушування культури максимально відповідає природним умовам місцевиростань посухостійкого моху *W. longifolia* та свідчить про його найбільшу пристосованість і здатність адаптуватися до таких змін. Після періодичного тривалого висушування пагони моху були яскраво-зеленого кольору й утворювали щільний моховий покрив на горщечку, тоді як у пухких дернинах *P. patens* і *B. unguiculata* пагони мали хлорозні й некротичні пошкодження (рис. 2).

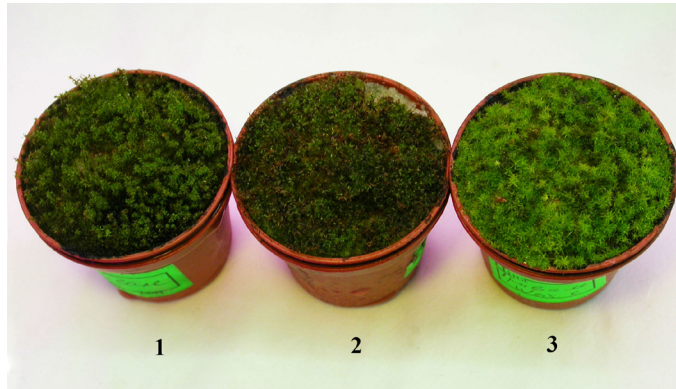


Рис. 2. Культура мохів після періодичного тривалого (96 год) висушування: 1 – *B. unguiculata*; 2 – *P. patens*; 3 – *W. longifolia*. Мохи вирощували в люмінестаті, в контрольованих умовах: фотоперіоду – 16 год, освітлення – $70 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$, температури – $20\text{--}22^\circ\text{C}$, вологості – $90\text{--}95\%$. Тривалість експерименту 12 тижнів

Fig. 2. Culture of mosses after periodic long-term (96 h) drying: 1 – *B. unguiculata*; 2 – *P. patens*; 3 – *W. longifolia*. Mosses were grown in a luminstat, under controlled conditions: photoperiod – 16 h, illumination – $70 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$, temperature – $20\text{--}22^\circ\text{C}$, humidity – $90\text{--}95\%$. The duration of the experiment is 12 weeks

Вміст пігментів і їхнє співвідношення є ознаками потенційної стійкості рослин до стресу, важливими показниками для визначення механізмів їхньої адаптації до умов місцевиростань і з'ясування еволюційних шляхів становлення фотосинтетичної системи [16, 19, 21]. Установлено, що під впливом висушування у *P. patens* знижувався вміст хлорофілу *a* (хл *a*) та зростав вміст хлорофілу *b* (хл *b*). Співвідношення хл *a/b* (1,3) у *B. unguiculata* зменшувалося майже в 1,85 разу під впливом як короточасного, так і тривалого висушування, для *P. patens* (хл *a/b* = 2,1) істотне зменшення (в 1,9 разу) відзначено лише під впливом тривалого висушування. У дернинах *W. longifolia* вміст хл *a* та *b* неістотно знижувався під впливом короточасного висушування, а в умовах тривалої нестачі вологи виявлено незначне підвищення вмісту хл *b* до 1,02 мг/г маси с. р., порівняно з контролем (табл. 2).

Зменшення співвідношення хл *a/b* є проявом адаптації та захисту функціонування фотосинтетичної системи в умовах нестабільного гідротермічного режиму середовища. На відміну від хл *a*, який забезпечує фотосинтетичну активність і сприяє синтезу більшої кількості органічної речовини, хл *b* є значно стійкішим до несприятливих умов і завдяки своїй специфічній просторовій організації стабілізує пігментну систему, зміцнюючи хлорофіл-білкові комплекси (ХБК) [16, 19, 24].

Отже, в умовах лабораторної культури досліджувані види мохів здебільшого виявляли фізіологічні ознаки фотосинтезу тіневитривалих рослин, оскільки для них визначено низькі співвідношення хлорофілів *a/b* та високі показники співвідношення хлорофілів/каротиноїдів [16]. До вищої інтенсивності дефіциту вологи рослини *P. patens* і *B. unguiculata* пристосовувалися переважно за рахунок стабільного антиоксидантного захисту каротиноїдів і підвищення вмісту хл *b* – світлозбирального пігменту антенних комплексів, що компенсувало зниження вмісту хл *a* і забезпечувало підвищення ефективності поглинання світла [19]. Мабуть, конститутивна толерантність ксерофітного моху *W. longifolia* виявлялася насамперед у стійкості синтезу його хлорофілів (табл. 2; рис. 1).

Таблиця 2

Мінливість показників вмісту фотосинтетичних пігментів і їхнє співвідношення у пагонах *P. patens*, *B. unguiculata* і *W. longifolia* в умовах короткочасного (KB) і тривалого (ТВ) висушування ($M \pm m$; $n=5$)

Variability of the content of photosynthetic pigments and their ratio in the shoots of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia* under conditions of short-term (KB) and long-term (TV) drying ($M \pm m$; $n=5$)

Висушування	Хлорофіл <i>a</i> , мг/г с. м.	Хлорофіл <i>b</i> , мг/г с. м.	Хлорофіли <i>a+b</i> , мг/г с. м.	Хлорофіл <i>a/b</i>	Каротиноїди, мг/г с. м.	Хлорофіли/ Каротиноїди
<i>P. patens</i>						
Контроль	1,92 ± 0,09	0,92 ± 0,05	2,83 ± 0,04	2,09	0,55 ± 0,09	5,14
KB	1,75 ± 0,07	0,94 ± 0,09	2,68 ± 0,05*	1,86	0,53 ± 0,07	5,06
ТВ	1,38 ± 0,08**	1,24 ± 0,09**	2,62 ± 0,03**	1,11	0,54 ± 0,09	4,85
<i>B. unguiculata</i>						
Контроль	1,96 ± 0,04	1,51 ± 0,05	3,47 ± 0,03	1,30	0,44 ± 0,05	7,89
KB	0,64 ± 0,03**	0,91 ± 0,09**	1,55 ± 0,03**	0,70	0,44 ± 0,08	3,52
ТВ	0,78 ± 0,07**	1,16 ± 0,07**	1,94 ± 0,05**	0,67	0,41 ± 0,09	4,73
<i>W. longifolia</i>						
Контроль	2,00 ± 0,05	0,91 ± 0,04	2,92 ± 0,04	2,19	0,53 ± 0,03	5,51
KB	1,98 ± 0,06	0,78 ± 0,05	2,76 ± 0,07	2,56	0,46 ± 0,05	6,00
ТВ	1,93 ± 0,08	1,02 ± 0,09	2,95 ± 0,07	1,89	0,31 ± 0,08**	7,97

Примітка: * – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна за $p < 0,05$; ** – за $p < 0,01$

Note: * – the difference between samples of the same species compared to control indicators is statistically reliable at $p < 0.05$; ** – at $p < 0.01$

Значну частину пігментного фонду мохів становлять феофітини – це хлорофіли без Mg^{2+} , що утворюються внаслідок деградації хлорофілів і є першими акцепторами електронів у фотосистемі II [1, 3]. Максимальні показники конверсії хлорофілів (до 166,67 %) у феофітини встановлено для *B. unguiculata*, особливо хл *a*, які зростали зі збільшенням тривалості висушування. Значно більші показники конверсії хл *b* у феофітин *b*, порівняно з хл *a*, виявлено для пагонів *P. patens*, у яких вміст феофітинів *b* зростає під впливом тривалого висушування, зокрема, від 0,60 мг/г маси с. р. у контролі до 0,78 мг/г маси с. р. Аналогічні зміни збільшено і для *W. longifolia*, під впливом тривалого висушування встановлено достовірне збільшення вмісту феофітину *b* і показників його конверсії (табл. 3).

Отримані нами результати вказують на те, що висушування спричиняло зміни вмісту феофітинів у мохів залежно від вмісту хлорофілів і їхнього співвідношення. Стрес у пагонах, індукований втратою вологи, призводив до зниження вмісту одного з хлорофілів і до протилежної зміни вмісту феофітинів. Дослідження І. Бойко зі співавторами [1] показали підвищення вмісту феофітинів щодо контролю в листках пшениці й кукурудзи за дії іонів кадмію. Залежність між вмістом хлорофілів і феофітинів, насамперед для хлорофілу *a*, встановлено і у рослинах гречки *Fagopyrum esculentum* Moench. під впливом кадмію хлориду [3]. Отже, вміст феофітинів може бути важливою індикаційною ознакою рослинного організму на дію стресора, зокрема, на дію висушування.

Результати визначення міцності зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК) у пагонах мохів свідчать про дестабілізацію конформації пігментів на мембранах тилакоїдів досліджуваних мохів, оскільки їхня функціональна активність залежить від міцності гідрофобної взаємодії з білковоліпідним комплексом мембран (табл. 3). Показники міцності зв'язку хл *a* і *b* та каротиноїдів із ліпопротеїдними компонентами мембран *B. unguiculata*

істотно зменшувалися зі збільшенням нестачі вологи, зокрема, хл *b*, від 62,21 % у контролі до 47,27 % під впливом тривалого висушування. У *P. patens* показники були менш варіабельними, ніж у *B. unguiculata*, крім того, встановлено незначне зміцнення комплексів хл *b* за тривалого стресу. Стабільність показників стійкості ПБК відзначено для *W. longifolia*, насамперед міцності зв'язку каротиноїдів (від 91,10 % до 87,28 %), що забезпечувало блокування вільних радикалів і захист молекул хлорофілу від фотоокиснення.

Отримані результати вказують на вищу чутливість пігментної системи *B. unguiculata* та *P. patens* до висушування, порівняно з *W. longifolia*. Для *B. unguiculata* встановлено достовірне зменшення міцності ПБК для хл *b*, що може свідчити про більшу вразливість світлозбиральних комплексів фотосистеми II, тоді як виявлене для *P. patens* істотне послаблення міцності ПБК для хл *a* може бути проявом більшої чутливості антенних комплексів фотосистеми I. Для *W. longifolia* встановлено як стійкість до короткочасного висушування, так і здатність адаптуватися до тривалої нестачі вологи за всіма досліджуваними морфологічними показниками.

Таблиця 3

Вплив короткочасного (КВ) і тривалого (ТВ) висушування на деструкцію хлорофілів і міцність зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК) у пагонах

P. patens, *B. unguiculata* і *W. longifolia* ($M \pm m$; $n=5$)

The influence of short-term (SD) and long-term (LD) drying on the destruction of chlorophylls and the strength of the bond of pigment-protein complexes (PPC) in the shoots

of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia* ($M \pm m$; $n=5$)

Висушування	Вміст, мг/г с. м.		Показник конверсії, %		Міцність зв'язку пігмент-білкових комплексів (ПБК), %		
	феофетин <i>a</i>	феофетин <i>b</i>	хлорофілу <i>a</i> у феофетин	хлорофілу <i>b</i> у феофетин	хлорофілу <i>a</i>	хлорофілу <i>b</i>	каротиноїдів
<i>P. patens</i>							
К	0,49 ± 0,05	0,60 ± 0,04	25,52 ± 1,71	57,39 ± 5,17	69,34 ± 5,13	71,14 ± 3,32	48,66 ± 4,14
КВ	0,37 ± 0,07	0,64 ± 0,04	21,14 ± 1,90	68,08 ± 6,03	54,61 ± 3,32*	74,21 ± 5,11	52,84 ± 4,89
ТВ	0,24 ± 0,07*	0,78 ± 0,04*	24,64 ± 1,99	74,84 ± 4,03*	51,23 ± 4,10*	87,59 ± 3,22*	55,73 ± 5,03
<i>B. unguiculata</i>							
К	1,07 ± 0,03	0,79 ± 0,04	54,59 ± 3,21	52,32 ± 3,61	82,32 ± 4,86	62,21 ± 4,32	92,53 ± 5,67
КВ	0,65 ± 0,09**	0,52 ± 0,05**	101,56 ± 5,67**	57,14 ± 4,02	79,37 ± 6,90	45,90 ± 3,87*	47,17 ± 3,42**
ТВ	1,30 ± 0,07*	0,82 ± 0,07	166,67 ± 9,52**	70,69 ± 6,98*	73,75 ± 4,75	47,27 ± 3,65*	32,53 ± 3,11**
<i>W. longifolia</i>							
К	0,25 ± 0,03	0,40 ± 0,03	12,50 ± 1,53	43,95 ± 3,99	43,97 ± 3,12	37,37 ± 2,82	91,10 ± 5,85
КВ	0,22 ± 0,08	0,35 ± 0,02	11,12 ± 0,96	44,87 ± 4,12	41,53 ± 2,87	36,63 ± 3,03	79,19 ± 4,07
ТВ	0,20 ± 0,03	0,55 ± 0,04*	10,36 ± 0,82	53,92 ± 3,50**	42,69 ± 2,12	38,91 ± 3,41	87,28 ± 4,05

Примітка: * – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю (К) статистично достовірна за $p < 0,05$; ** – за $p < 0,01$

Note: * – the difference between samples of the same species compared to control (C) indicators is statistically reliable at $p < 0.05$; ** – at $p < 0.01$

Унаслідок висушування ймовірність пошкодження фотосинтетичного апарату зростає, утворення вільних молекул хлорофілу збільшується, що може спричиняти генерації активних форм кисню [14, 16, 19]. Метаболізм хлорофілу в клітинах: вміст, синтез і деградація хлорофіловмісних комплексів контролюється активністю хлорофілази (хлорофіл-хлорофілід-гідролази 3.1.1.14).

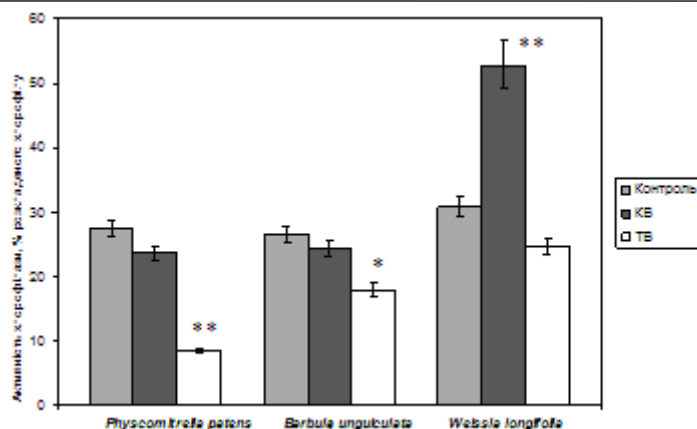


Рис. 3. Активність хлорофілази пагонів *P. patens*, *B. unguiculata* і *W. longifolia* в умовах короткочасного 24 год (KB) і тривалого 96 год (TB) висушування. **Примітка:** * – різниця між зразками одного виду порівняно з показниками контролю статистично достовірна за $p < 0,05$; ** – за $p < 0,01$

Fig. 3. Chlorophyllase activity of shoots of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia* under conditions of short-term 24 h (SD) and long-term 96 h (LD) drying. **Note:** * – the difference between samples of the same species compared to control indicators is statistically reliable at $p < 0,05$; ** – at $p < 0,01$

Визначено, що під впливом короткочасного висушування у *P. patens* (27,5 % розкладеного хл *a* / мг хл *a+b*) та *B. unguiculata* (28,9 % розкладеного хл *a* / мг хл *a+b*) активність ферменту зменшувалася щодо контролю на 14 % і 21 % відповідно, тоді як унаслідок тривалого – на 31,3 % і 27,5 % відповідно (рис. 3). Зниження гідролітичної активності хлорофілази вказує на уповільнення швидкості процесів перетворення зелених пігментів і її переважно мембранозв'язаний стан. Для *W. longifolia* встановлено найбільші показники активності хлорофілази (рис. 3), що може свідчити про активну участь її в метаболізмі й оновленні фонду фотосинтетичних пігментів, оскільки вища метаболізація більшого пулу пігментів потребує вищої активності ферменту [10]. Окрім того, визначено значне підвищення активності ферменту до 53 % мг розкладеного хл *a* / мг хл *a+b* за короткочасної втрати вологи, порівняно з контролем (31 % розкладеного хл *a* / мг хл *a+b*), очевидно, внаслідок посилення деградації пігментних комплексів хлорофілазна активність посилюється за рахунок легкокорозинних форм, оскільки її зв'язок з мембранами слабшає [10]. Тривала втрата вологи спричиняла пригнічення активності ферменту лише на 6 % щодо контролю, що свідчить про переважання його мембранозв'язаної фракції та пригнічення обміну хлорофільного пулу.

Стійкість рослин – це генетична здатність організму завдяки відповідним фізіологічним і морфологічним механізмам витримувати стресові умови середовища, яка може бути конститутивною властивістю або ж формуватися внаслідок адаптаційних перебудов, індукованих стресовими чинниками. Конститутивні системи захисту постійно перебувають у функціонально активному стані, а індуковані – виявляються лише у відповідь на дію стресового чинника [4, 24, 29].

На основі отриманих нами результатів встановлено, що досліджені види мохів відрізнялися за загальним вмістом вуглеводів, які відіграють важливу роль у запобіганні дезінтеграції клітинних мембран, забезпеченні структурної та функціональної стабільності клітин в умовах висушування [5, 24, 34]. У пустельного моху *Syntrichia caninervis* Mitt. ви-

явлено, що стабілізації його мембран у висушеному стані під час десикації та регідратації сприяє істотне підвищення загального вмісту розчинних вуглеводів – основних “конститутивних” захисних речовин [5, 21, 24, 34].

У контролі найвищий рівень вуглеводів (11 мкг/г маси с. р.) визначено у ксеромезофіта *B. unguiculata* (рис. 4). Під впливом короткочасного висушування вміст вуглеводів майже не змінювався, тоді як тривале висушування спричиняло майже 40 % збільшення їхнього вмісту.

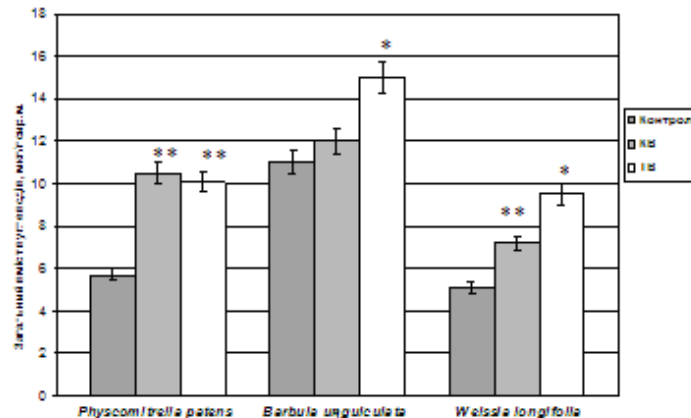


Рис. 4. Вплив короткочасного 24 год (КВ) і тривалого 96 год (ТВ) висушування на загальний вміст вуглеводів у пагонах *P. patens*, *B. unguiculata* та *W. longifolia*. **Примітка:** * – різниця між зразками одного виду, порівняно з показниками контролю, статистично достовірна за $p < 0,05$; ** – за $p < 0,01$

Fig. 4. Influence of short-term 24 h (SD) and long-term 96 h (LD) drying on the total carbohydrate content in the shoots of *P. patens*, *B. unguiculata* and *W. longifolia*. **Note:** * – the difference between samples of the same species compared to control indicators is statistically reliable at $p < 0,05$; ** – at $p < 0,01$

Для *W. longifolia* встановлено, що загальний пул вуглеводів зростає залежно від тривалості висушування, очевидно, завдяки участі як конститутивних, так і стрес-індукованих механізмів захисту: від 5,1 мкг/г маси с. р. (контроль) до 7,2 мкг/г маси с. р. (короткочасне висушування) та 9,5 мкг/г маси с. р. (тривале). У гігомезофітного моху *P. patens*, який характеризується найнижчою посухостійкістю серед досліджених видів, вміст загальних вуглеводів збільшувався в 1,8 разу від 5,7 мкг/г маси с. р. у контролі до 10,5 мкг/г маси с. р. під впливом короткочасного висушування і зберігався майже на цьому рівні після тривалої втрати вологості, що є проявом, мабуть, лише конститутивних захисних систем (рис. 3).

Таким чином, порівняльне вивчення стрес-індукованих реакцій мохів залежно від водного режиму їхніх місцевиростань засвідчило функціонування різних захисних систем в адаптаційних процесах на вплив періодичного короткочасного і тривалого висушування.

На підставі аналізу морфометричних параметрів *B. unguiculata* і *P. patens* встановлено значне зменшення показників розмірів пагонів, листків і збільшення щільності мохових дернин як прояву механізму зниження втрати вологості поверхнею мохової дернини за впливу тривалого й короткочасного висушування. У *W. longifolia* тривале висушування спричиняло незначне збільшення розмірів листків і видовження пагонів й активувало утворення хлоронемних дендроїдів, порівняно з контролем та короткочасним висушуванням. Це засвідчило його найбільшу пристосованість і адаптаційну здатність до періодичних змін вологості.

Визначено залежність компонентного складу пігментного апарату досліджуваних мохів від тривалості висушування та їхніх видових особливостей. Отримані результати вказують на те, що висушування спричиняло зміни у вмісті феофітинів у мохів залежно від вмісту хлорофілів і їхнього співвідношення. З'ясовано, що в пігментній системі гігромезофітного моху *P. patens* визначальна роль належить хл *b* та феофітину *b*, тоді як оптимальне функціонування асиміляційного комплексу ксеромезофітного моху *B. unguiculata* залежить від хлорофілу *a* та феофітину *a*, у ксерофіта *W. longifolia* – завдяки стійкості хл *a* та міцності зв'язку каротиноїдів з білковими комплексами пігментної системи. Встановлено вищу чутливість пігментної системи *B. unguiculata* та *P. patens* до висушування, порівняно з *W. longifolia*. Висушування спричиняло у *B. unguiculata* достовірне зменшення міцності ПБК для хл *b* та істотне послаблення міцності ПБК для хл *a* у *P. patens*. Стабільність показників стійкості ПБК відзначено для ксерофітного моху *W. longifolia*, насамперед міцності зв'язку каротиноїдів із ліпопротеїдними компонентами мембран.

Під впливом висушування виявлено значне зниження гідролітичної активності хлорофілази у *B. unguiculata* і *P. patens*, що свідчить про уповільнення швидкості процесів перетворення зелених пігментів і про її переважно мембранозв'язаний стан. Найбільші показники активності хлорофілази встановлено у *W. longifolia*, що може вказувати на активну участь її в метаболізмі й оновленні фонду фотосинтетичних пігментів.

Під впливом висушування загальний вміст вуглеводів у мохів переважно зростав, що було проявом пристосування конститутивної стійкості, як у *P. patens*. До тривалої втрати вологи *B. unguiculata* і *W. longifolia* адаптувалися передусім завдяки стрес-індукованим адаптивним реакціям або ж взаємодії обох (конститутивних та індукованих) механізмів захисту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бойко І., Кобилецька М., Терек О. Деградація хлорофілу в листках рослин за дії йонів кадмію та саліцилової кислоти // Фізіологія та біохімія культ. рослин. 2012. Т. 44. № 5. 108 с.
2. Войцехівська О. В., Капустян А. В., Косик О. І. та ін. Фізіологія рослин. Практикум. Луцьк: Терен, 2009. 420 с.
3. Кавулич Я., Кобилецька М., Терек О. Вплив саліцилової кислоти на пігментну систему рослин гречки за токсичного впливу кадмію хлориду // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2016. Вип. 72. С. 210–217.
4. Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. К.: Основа, 2010. 352 с.
5. Лобачевська О. В., Бойко І. В. Морфофізіологічні пристосування мохів *Funaria hygrometrica* і *Brachythecium glareosum* (Bryophyta) до періодичного висушування // Укр. ботан. журнал. 2015. Т. 72. № 6. С. 559–565.
6. Лобачевська О. В., Кияк Н. Я., Хоркавців Я. Д. Морфофункціональні особливості клітин протонеми *Weissia tortilis* Spreng. з різною чутливістю до гравітації // Космічна наука і технологія. 2019. Т. 25. № 2. С. 60–70.
7. Мусієнко М. М., Паришкова Т. В., Славний П. С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 153 с.
8. Ніколайчук В. І., Белчгазі В. Й., Білик П. П. Спецпрактикум з фізіології і біохімії рослин. Ужгород, 2000. 210 с.
9. Романюк Н., Цвілинюк О., Микієвич І., Терек О. Фізіологія рослин. Методичні вказівки до лабораторних робіт з малого практикуму для студентів біологічного факультету. Львів: Вид-во Львів. нац. ун-ту ім. Ів. Франка, 2003. 84 с.

10. Фомішчина Р. М., Сиваш О. О., Захарова Т. О., Золотарьова О. К. Роль хлорофілази в адаптації рослин до умов освітлення // Укр. ботан. журнал. 2009. Т. 66. № 1. С. 94–102.
11. Baran E., Warry F. Simple data analysis for biologists. Malaysi: World Fish Center and the Fisheries Administration, 2008.
12. Brinda J. C., Stark L. R., Clark T. A., Greenwood J. L. Embryos of a moss can be hardened to desiccation tolerance: effects of rate of drying on the timeline of recovery and dehardening in *Aloina ambigua* (Pottiaceae) // Ann. Bot. 2016. Jan; Vol. 117. N 1. P. 153–163. doi: 10.1093/aob/mcv136
13. Coe K. K., Greenwood J. L., Slate M. L. et al. Strategies of desiccation tolerance vary across life phases in the moss *Syntrichia caninervis* // Am. J. Bot. 2021. Vol. 108. N 2. P. 249–262.
14. Cruz de Carvalho R., Catalá M., Branquinho C. et al. Dehydration rate determines the degree of membrane damage and desiccation tolerance in bryophytes // Physiologia Plantarum. 2017. Vol. 159. P. 277–289.
15. De Carvalho R. C., Branquinho C., Da Silva J. M. Physiological consequences of desiccation in the aquatic bryophyte *Fontinalis antipyretica* // Planta. 2011. Vol. 234. N 1. P. 195–205.
16. Glime J. M. Bryophyte ecology. 2019. Vol. 1. Physiological ecology. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Website: <http://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology1/> [accessed 7 January 2019].
17. Greenwood J. L., Chiquoine L., Stark L. R. Effects of rate of drying, life history phase, and ecotype on the ability of the moss *Bryum argenteum* to survive desiccation events and the influence on conservation and selection of material for restoration // Front. Ecol. Evol. 2019. Vol. 7. P. 388.
18. Greenwood J. L., Stark L. R. The rate of drying determines extent of desiccation tolerance in *Physomitrella patens* // Funct. Plant Biol. 2014. Vol. 41. P. 460–467.
19. Hanson D. T., Rice S. K. Photosynthesis in Bryophytes and Early Land Plants. E-Book Springer, 2014.
20. Kofler L. Contribution a l'étude biologique des mousses cultivées in vitro: Germination des spores, croissance et développement du protonema chez *Funaria hygrometrica* // Rev. Bryol. Lichenol. 1959. Vol. 28. P. 1–202.
21. Liang Y., Li X.-S., Jing Z., Lu Z. et al. Dehydration rates impact physiological, biochemical and molecular responses in desert moss *Bryum argenteum* // Environ. Exp. Botany. 2021. Vol. 183. P. 1043–1046. DOI:10.1016/j.envexpbot.2020.104346
22. Oliver M. J., Velten J., Mishler B. D. Desiccation tolerance in bryophytes: A reflection of the primitive strategy for plant survival in dehydrating habitats? // Integrative and Comparative Biology. 2005. Vol. 45. P. 788–799.
23. Pressel S., Duckett J. D. Cytological insights into the desiccation biology of a model system: moss protonemata // New Phytologist. 2010. Vol. 185. P. 944–963.
24. Proctor M. C. F. The bryophyte paradox: tolerance of desiccation, evasion of drought / M.C.F. Proctor // Plant Ecol. 2000. Vol. 151. P. 41–49.
25. Proctor M. C. F., Pence V. C. Vegetative tissues: bryophytes, vascular 'resurrection plants' and vegetative propagules. In: Pritchard H., Black M. eds. Desiccation and plant survival. Wallingford: CABI Publishing, 2002. P. 207–237.
26. Sadasivam S., Manickam A. Biochemical methods. New Delhi: New Age International, 2007. 284 p.
27. Slate M. L., Sullivan B. W., Callaway R. M. Desiccation and rehydration of mosses greatly increases resource fluxes that alter soil carbon and nitrogen cycling // J. Ecol. 2019. Vol. 107. N 4. P. 1767–1778. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13162>

28. Stark L. R. Ecology of desiccation tolerance in bryophytes: a conceptual framework and methodology // *Bryologist*. 2017. Vol. 120. P. 130–165.
29. Stark L. R., Brinda J. C. Developing sporophytes transition from an inducible to a constitutive ecological strategy of desiccation tolerance in the moss *Aloina ambigua*: effects of desiccation on fitness // *Ann. Bot.* 2015. Vol. 115. P. 593–603.
30. Stark L. R., Brinda J. C., Greenwood J. L. Propagula and shoots of *Syntrichia pagorum* (Pottiaceae) exhibit different ecological strategies of desiccation tolerance // *Bryologist*. 2016. Vol. 119. P. 181–192.
31. Stark L. R., Greenwood J. L., Brinda J. C., Oliver M. J. The desert moss *Pterygoneurum lamellatum* (Pottiaceae) exhibits an inducible ecological strategy of desiccation tolerance: effects of rate of drying on shoot damage and regeneration // *Am. J. Bot.* 2013. Vol. 100. N 8. P. 1522–1531.
32. Stark L. R., Greenwood J. L., Slate M., Brinda J. C. *Syntrichia norvegica* shoots exhibit a complex inducible response to desiccation: separating the effects of rate of drying and water content // *Botany*. 2017. Vol. 95. P. 481–491.
33. Tao Y., Zhang Y. M. Effects of leaf hair points of a desert moss on water retention and dew formation: Implications for desiccation tolerance // *J. Plant Research*. 2012. Vol. 125. P. 351–360.
34. Wu N., Zhang Y.M., Downing A., Zhang J., Yang Ch. Membrane stability of the desert moss *Syntrichia caninervis* Mitt. during desiccation and rehydration // *J. Bryol.* 2012. Vol. 34(1). P. 1–8.

Стаття надійшла до редакції 23.06.22

доопрацьована 18.07.22

прийнята до друку 20.09.22

STRESS-INDUCED REACTIONS OF MOSSES TO PERIODIC SHORT-TERM AND LONG-TERM DRYING DEPENDING ON THE WATER REGIME OF THEIR HABITATS

O. Lobachevska

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

Bryophytes are poikilohydric higher plants and their water content as well as metabolic activity depend on the water regime of the environment. The aim of the study was to establish the features of stress-induced reactions of mosses under controlled conditions of short-term and long-term drying depending on the water regime of their habitats. A culture of shoots of the same age from agar mediums the same level of relative humidity was used to study the effect of periodic drying. Dehydration was carried out within 24 hours, removing the polyethylene cover from the pots with moss culture. Plant watering was carried out twice a week in the variant of the experiment with short-term drying: immediately after dehydration and on the third day after drying. In the variant with long-term drying plants were watered once a week – on the third day after 24-hour dehydration. Control plants were sprayed twice a week. A significant decrease in the size of shoots, leaves and an increase in the density of moss turf under the influence of short-term and long-term drying have been established, based on the analysis of morphometric parameters of *Barbula unguiculata* Hedw. and *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. In the moss *Weissia longifolia*

Mitt. long-term drying caused a slight increase in leaf size and elongation of shoots, comparing with control and short-term drying, and at the same time activated the formation of chloronemal dendroids, which proved its greatest adaptability and ability to adapt to periodic changes in humidity. A higher sensitivity of the pigment system of *B. unguiculata* and *P. patens* to drying compared to *W. longifolia* was established. It was found that in the pigment system of the hygromesophytic moss *P. patens* the significant role belongs to chlorophyll b and pheophytin b, functioning of the assimilation complex of the xeromesophytic moss *Barbula unguiculata* depends on chlorophyll a and pheophytin a, in xerophytic moss *W. longifolia* – due to the stability of chlorophyll a and the strength of the bound of carotenoids with protein complexes of the pigment system. The dependence of the component composition of the pigment apparatus, the strength of the bond of pigment-protein complexes (PPC), the activity of chlorophyllase, and the total carbohydrate content of the studied mosses on the duration of drying and their species characteristics was determined.

Keywords: drying, photosynthetic system, chlorophyllase, carbohydrates, mosses

МОРФОФІЗІОЛОГІЧНІ РЕАКЦІЇ МОХІВ НА ДІЮ АБІОТИЧНИХ ЧИННИКІВ НА ПОСТТЕХНОГЕННИХ ТЕРИТОРІЯХ ВИДОБУТКУ СІРКИ

О. Баїк, Н. Кіт

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

Досліджено морфологічну структуру дернин і активність основних ферментів антиоксидантного захисту: пероксидази, супероксиддисмутази (СОД) і каталази домінуючих видів мохів *Barbula unguiculata* Hedw., *Bryum caespiticiu*m Hedw., *Bryum argenteu*m Hedw. і *Brachytheciu*m *salebrosum* (Hoffm. ex F. Weber & D. Mohr) Schimp. із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки у літній та осінній сезони.

Показано, що морфологічна структура дернин мохів *B. argenteu*m і *B. salebrosum* на посттехногенних територіях видобутку сірки є важливою для збереження вологи і залежить від мікрокліматичних умов місцевиростання та життєвої форми виду. Виявлено, що активність ензимів залежить від видових особливостей мохів. Установлено залежність активності антиоксидантних ферментів у досліджуваних мохів від інтенсивності освітлення й температури на трансектах відвалу № 1. У літній період відзначено найвищі показники активності антиоксидантних ензимів у зразках мохів з північної вершини відвалу, де особливо відчутні вплив високих температур та інтенсивності освітлення, а також нестача вологи. В умовах експерименту у *B. unguiculata* і *B. caespiticiu*m з північної вершини відвалу під впливом 24-годинної дії температури 42 °C встановлено найістотніше зростання активності пероксидази в 1,2–1,4 та СОД в 1,6–1,9 разу. Збільшення активності пероксидази та СОД, спричинені гіпертермією, нівелювалися завдяки попередній обробці інгібітором біосинтезу білка циклогексамідом, що може свідчити про участь білоксинтезувальної системи у цьому процесі. Ймовірно, підвищення активності ферментів-антиоксидантів, зумовлене насамперед зміною експресії генів стресових білків, які контролюють синтез специфічних адаптогенів і протекторів, свідчить, що екстремальні умови антропогенно трансформованого середовища сприяють розвиткові форм організмів із найвищими потенційними можливостями.

Ключові слова: оксидний стрес, пероксидаза, супероксиддисмутаза, каталаза, мохи

Дія різних абіотичних факторів, таких як посуха, засоленість, температурний стрес (особливо у літні місяці), підвищена інсоляція, сильні вітри, можуть призвести до активації захисних і пристосувальних реакцій рослин [12, 21, 24, 30, 46]. Адаптація рослин контролюється складною молекулярно-генетичною системою, яка індукує певний стрес-реагуючий механізм, що забезпечує підтримання гомеостазу рослинного організму і захищає від руйнування молекулярної та структурної організації клітин [20, 31, 32, 49]. Основні адаптивні зміни у рослин відбуваються на морфологічному та, насамперед, на біохімічному рівнях [13, 43, 51]. Стійкість рослин до абіотичних стресорів пов'язана з експресією генів, які беруть участь у сигнальних або регуляторних системах, у запуску синтезу стресових білків і метаболітів [14, 23, 40, 47].

Температурний та інсоляційний режими, а також вологість місцезростань, є одними з потужних абіотичних факторів впливу середовища на рослинний організм [10, 11, 25,

28, 55]. Актуальності нині набувають дослідження стійкості рослин до несприятливих температур, яка є результатом фізіолого-біохімічних перетворень [9, 52, 57]. У стійкості рослин до дії стрес-факторів значну роль відіграють неспецифічні захисні системи, зокрема, антиоксидантна система [8, 17, 41]. Під дією помірного стресу виживання рослин забезпечується індукцією антиоксидантного захисту для підтримання редокс-балансу [33]. Оксидний стрес настає, коли окисно-відновний баланс порушується або через підвищену продукцію активних форм кисню (АФК), або через виснаження антиоксидантного захисту, або через поєднання обох причин. У кінцевому підсумку він може призводити до клітинного колапсу у рослин [14, 35]. Тому метою досліджень було вивчити морфологічні реакції та зміни активності ферментних антиоксидантів як показників оксидного стресу у мохів за умов різної вологості та під впливом високої температури й інтенсивності освітлення у техногенно трансформованому середовищі.

Матеріали та методи

Об'єктами досліджень були мохи з різними життєвими формами: *Bryum caespitici-um* Hedw. (низька щільна дернинка), *Bryum argenteum* Hedw. та *Barbula unguiculata* Hedw. (низька пухка дернинка), *Brachythecium salebrosum* (Hoffm. ex F. Weber & D. Mohr) Schimp. (плетиво), зібрані на дослідних ділянках (основа, північний схил і північна вершина) відва-лу видобутку сірки Новояворівського державного гірничо-хімічного підприємства «Сірка» (Львівська обл.). Дослідження проводили влітку за температури +35,0 °C – +38,0 °C й ін-тенсивності освітлення 110 тис. лк і восени за температури +14 °C – +16 °C, інсоляції $\approx$ 80 тис. лк. Інтенсивність освітлення на дослідних ділянках вимірювали люксметром Ю-116.

Вміст вологи у мохових дернинах визначали ваговим методом і обчислювали у від-сотках від маси абсолютно сухої речовини [18, 19].

Вміст гігроскопічної вологи у субстраті визначали за методикою О. В. Аринушкіної [1].

Морфометричні вимірювання довжини пагонів, розмірів клітин і листків виконували на моторизованому мікроскопі Axio Imager M1 (Carl Zeiss) з використанням програм-ного забезпечення Carl Zeiss AxioVision 4.6 та UTHSCSA Image Tool 3.0, стереобінокюлярі Stemi 2000-C (Carl Zeiss) з фотонасадкою та цифровою камерою „Nikon”.

Для визначення активності пероксидази наважку рослинного матеріалу гомогенізували в 0,1 М ацетатному буфері (рН 5,4) у співвідношенні 1:1, екстрагували протя-гом 30 хв за кімнатної температури та центрифугували 15 хв, 4000 об/хв. Супернатант використовували як ферментний препарат. Для визначення активності пероксидази 2 мл ферментного препарату змішували з 0,5 % розчином бензидину та 0,1 М ацетатним буфером (рН 5,4). Якісну реакцію розпочинали внесенням 3 % розчину пероксиду водню. Через 5 хв проби фотометрували за довжини хвилі 412 нм. Активність ферменту визначали у відносних одиницях на 1 г сирої маси [16].

Для визначення активності супероксиддисмутази (СОД) рослинний матеріал екс-трагували протягом 30 хв у 0,15 М фосфатному буфері (рН 7,8). Супернатант, отриманий після центрифугування (10 хв, 5000 g), додавали до інкубаційного середовища, що місти-ло: 0,33 мМ ЕДТА, 0,4 мМ нітросиній тетразолій, 0,01 мМ феназинметасульфат і 0,8 мМ НАДФН. Оптичну густину розчину вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 540 нм. Активність СОД виражали в умовних одиницях на мг білка за хв [22].

Активність каталази визначали після екстракції у 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,8). Екстракт центрифугували протягом 15 хв за 5000 g. Активність ферменту визначали у над-осадовій рідині спектрофотометрично на основі реакції з 4 % розчином молібдату амонію. Активність ферменту виражали в мкМ H_2O_2 на мг білка за хв [15].

Результати статистично проаналізували, визначивши середнє значення, медіану, стандартне відхилення (SD), а також перший і третій квартилі для кожної характеристики у всіх варіантах експерименту. Відбір порівнювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) з корекцією Бонферроні, враховуючи відмінності між відборами, достовірними на рівні $P < 0,05$, $0,01$ і $0,001$. Усі розрахунки та розробки діаграм виконано в програмі Statistica 8.0 (StatSoft, США, 2012).

Результати і їхнє обговорення

Бріюфіти є піонерними рослинами на посттехногенних територіях, які завдяки особливостям морфологічної будови здатні пристосовуватися до несприятливих умов зовнішнього середовища з характерними лише для них життєвими формами. Мохоподібні, особливостями водного режиму яких є пойкилогідричність і високий вміст поверхневої води, відзначаються високою цитоплазматичною стійкістю як до тривалого водного стресу, так і до висушування [6, 45]. Завдяки простоті будови мохи виробили ефективну систему регуляції вмісту води: унікальну поглинальну й водоутримувальну здатність і можливість швидкої регідратації. Відсутність продихів і лігнінкової кутикули у бріюфітів забезпечує вільний обмін крізь клітинні стінки водою, речовинами і газами [53]. Передумовою розвитку мохів є забезпечення водою. Оскільки її джерела – опади, туман і роса – нерегулярні, мохи мають різноманітні механізми толерантності до висушування.

Водний режим мохів тісно пов'язаний з їхніми розмірами і життєвою формою, адже збереження вологи у моховому покриві залежить від кількості води в капілярах між пагонами у дернинці, яка характеризується певною структурою та щільністю. Щільність дернинок мохів є вагомим індикатором їхнього життєвого стану і визначається насамперед видовою специфічністю мохів, едафічним фоном, екологічними умовами виростання – рівнем освітленості, температури і вологості [4, 6]. Для мохів *B. argenteum* і *B. salebrosum* встановлено збільшення кількості пагонів на одиницю площі на вершині, порівняно з основою. *B. argenteum* на північній вершині в умовах дефіциту вологи (вологість оголеного субстрату $6,3 \pm 0,7$ %) утворював дернини з великою густотою пагонів ($79,6 \pm 7,3$ пагонів/см²), порівняно з основою ($53,2 \pm 6,1$ пагонів/см²). Для *B. salebrosum* густота пагонів була менш мінливою (на вершині становила $18,6 \pm 2,1$ пагонів/см², а в основі – $15,5 \pm 1,7$ пагонів/см²). Це пов'язане, очевидно, з тим, що особини *B. argenteum* порівняно дрібніші, а це сприяє їхньому швидкому зневодненню, яке може бути зменшене за формування дуже щільних дернин. Показник густоти дернинок у *B. argenteum* свідчить про значні екологічні можливості цього виду в освоєнні різних за рівнем зволоження місцезростань.

На північній вершині відвалу спостерігалася суттєва сповільнення росту пагонів у обох досліджуваних видів. Встановлено зменшення довжини пагонів *B. argenteum* на вершині відвалу порівняно з основою з $0,84 \pm 0,07$ см до $0,65 \pm 0,06$ см, *B. salebrosum* – з $2,36 \pm 0,19$ см до $1,82 \pm 0,17$ см, що спричинено несприятливими мікрокліматичними умовами на північній вершині відвалу. В обох видів мохів в умовах водного дефіциту зменшувалися розміри листової пластинки: для *B. argenteum* відзначено тенденцію до звуження листків: довжина і ширина листової пластинки на північній вершині становила $0,64 \pm 0,05$ мм і $0,38 \pm 0,04$ мм, а в основі – $0,78 \pm 0,06$ мм і $0,55 \pm 0,04$ мм відповідно. Для *B. salebrosum* розміри листової пластинки на північній вершині відвалу були меншими в 1,2 разу, порівняно з основою. Змінювалися і розміри клітин листка: довжина та ширина клітин листової пластинки для *B. argenteum* на північній вершині становила $46,7 \pm 4,2$ мкм і $11,8 \pm 1,2$ мкм, порівняно з основою ($59,3 \pm 5,6$ мкм і $15,2 \pm 1,6$ мкм). Для *B. salebrosum* ці відмінності були менш вираженими, очевидно, через трохи сприятливіші умови локалітетів рослин цього виду. Для *B. salebrosum* довжина і ширина клітин листової пластинки становили: $62,5 \pm 6,5$ мкм і $8,2 \pm 0,9$ мкм на північній вершині та $74,2 \pm 7,8$ мкм і $9,4 \pm 1,0$ мкм – в основі (див. таблицю).

Залежність морфометричних параметрів мохів *B. argenteum* і *B. salebrosum*
від умов місцевиростань (вершина й основа північної експозиції)
на території відвалу видобутку сірки

Місце зростання	Висота пагонів, см	Розміри листків, мм		Розміри клітин листка, мкм		Густота пагонів, паг/см ²
		Довжина	Ширина	Довжина	Ширина	
B. argenteum						
Вершина	0,65±0,06*	0,64±0,05**	0,38±0,04	46,7±4,2	11,8±1,2*	79,6±7,3**
Основа	0,84±0,07	0,78±0,06	0,55±0,04	59, 3±5,6	15,2±1,6*	51,2±6,1**
B. salebrosum						
Вершина	1,82±0,17*	1,73±0,18**	0,83±0,07	62,5±6,5	8,2±0,9*	18,6±2,1**
Основа	2,36±0,19	2,08±0,21**	0,83±0,07	74,2±7,8	9,4±1,0*	15,5±1,7**

Отже, в несприятливих мікрокліматичних умовах на вершині відвалу видобутку сірки дернини *B. argenteum* і *B. salebrosum* виявляли ознаки ксероморфності: мохи формували щільніші дернини з меншими листками на пагонах, що забезпечувало зниження випаровування води в умовах водного дефіциту. Ці дані узгоджуються з дослідженнями І. А. Гончарової [4] на дернинках сфагнових мохів, стійкість і стабільне функціонування яких визначається густотою пагонів, їхньою довжиною та розмірами листків.

Процес адаптації рослин до стресових умов існування включає, окрім морфологічних змін, активну участь компонентів ферментативної системи захисту, які відіграють важливу роль у захисних реакціях рослин. Важлива роль в адаптивних реакціях рослин належить пероксидазі, супероксиддисмутазі (СОД) та каталазі, що входять до складу антиоксидантної системи (АОС), активність якої визначає рівень стійкості рослин до несприятливих факторів зовнішнього середовища [34, 53].

Одними із центральних ферментів у дослідженні механізмів адаптації є ізоформи пероксидази, яка належить до надзвичайно лабільних і поліфункціональних «стресових» ферментів антиоксидантного захисту. Цей фермент здатний знешкоджувати токсичні перекисні сполуки, які утворюються у клітині під впливом стресових факторів [48].

Установлено залежність активності пероксидази *B. unguiculata*, *B. caespiticius*, *B. argenteum* і *B. salebrosum* із різних місцевиростань північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки від вологості, інтенсивності освітлення й температури. Особливо вирізняється активність пероксидази досліджуваних видів мохів у літній період за високої температури 35,0–37,5 °С та інтенсивності освітлення 110 тис. лк на північній вершині й північному схилі відвалу, порівняно з основою.

Так, активність пероксидази у *B. unguiculata* була найвищою у зразків із північної вершини відвалу та становила 23,8±0,3 (відн. од./г с. м.), тобто була приблизно в 1,19 разу вищою, ніж в основі відвалу (20,0±0,4 відн. од./г с. м.) (рис. 1). Показники активності пероксидази у *B. caespiticius* були також найвищими на північній експозиції (вершина та схил) відвалу і становили 20,9±0,2 і 24,7±0,2 (відн. од./г с. м.) відповідно, тобто були в 1,21–1,43 разу вищими, ніж в основі відвалу (рис. 2). Експериментальними дослідженнями за 24-годинної дії температури +42 °С на пагони мохів встановлено підвищення активності пероксидази у зразках *B. unguiculata* з усіх трансект в 1,52–1,71 разу (рис. 1), а у *B. caespiticius* приблизно в 1,82 разу (рис. 2). Так, найбільшу активність пероксидази спостерігали у зразках *B. unguiculata* з північної вершини відвалу (39,8±0,2 відн. од./г с. м.). Натомість найбільшу активність пероксидази за дії гіпертермії спостерігали у зразках *B. caespiticius* не лише з північної вершини, а й із північного схилу: 37,3±0,2 та 44,7±0,2 відн. од./г с. м., відповідно (рис. 1, 2).

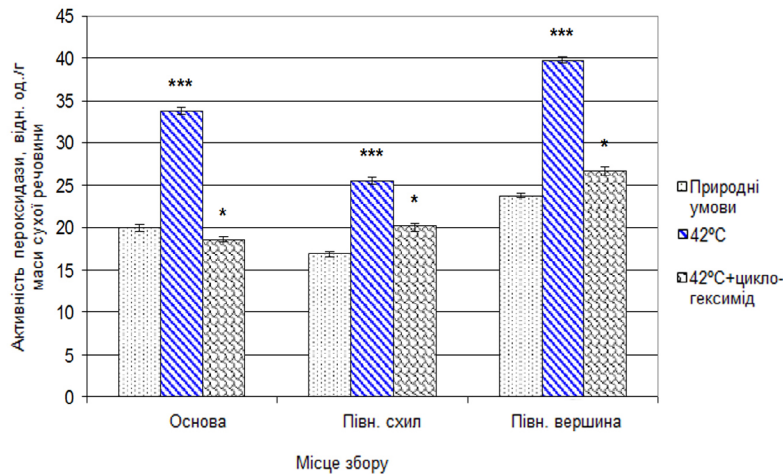


Рис. 1. Активність пероксидази (відн. од./г сухої маси) в пагонах моху *B. unguiculata* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил і вершина) ($M \pm m$; $n=4$); * – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем за $P<0,05$; *** – за $P<0,001$

Fig. 1. Peroxidase activity (relative units/g of dry weight) in shoots of the moss *B. unguiculata* from different locations of the northern exposure of the sulfur mining dump No 1 (base, slope and top) ($x \pm SD$; $n=4$); * – difference between experimental sample and control is statistically reliable at $P<0.05$; *** – at $P<0.001$

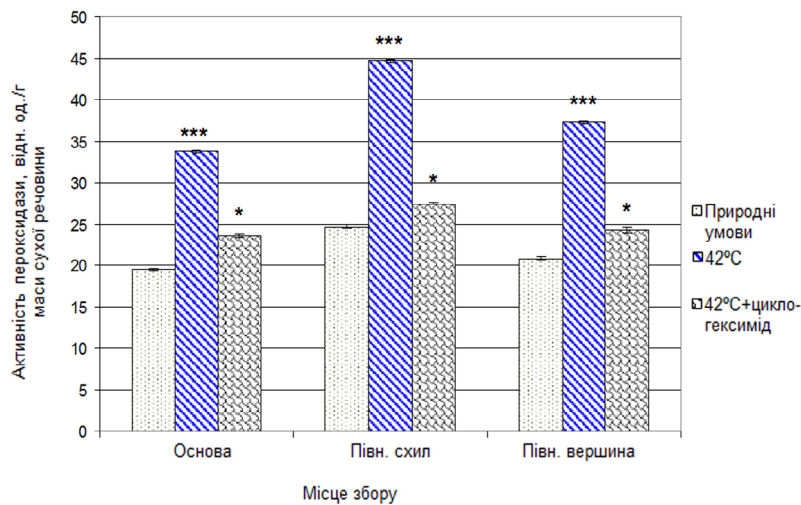


Рис. 2. Активність пероксидази (відн. од./г сухої маси) в пагонах моху *B. caespiticiu* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки (основа, схил і вершина) ($M \pm m$; $n=4$); * – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем за $P<0,05$; *** – за $P<0,001$

Fig. 2. Peroxidase activity (relative units/g of dry weight) in shoots of the moss *B. caespiticiu* from different locations of the northern exposure of the sulfur mining dump No 1 (base, slope and top) ($x \pm SD$; $n=4$); * – difference between experimental sample and control is statistically reliable at $P<0.05$; *** – at $P<0.001$

Збільшення активності пероксидази, спричинене 24-годинною дією температури $+42^{\circ}\text{C}$, усували завдяки попередній обробці інгібітором біосинтезу білка циклогексамідом (ЦГ). Такі результати можуть свідчити про участь білоксинтезувальної системи у підвищенні активності ферменту, зумовлене гіпертермією.

Улітку для *B. argenteum* на північній вершині відвалу в умовах дефіциту вологи активність пероксидази становила $18,8 \pm 1,9$ відн. од./г с. м., а в основі лише $12,9 \pm 1,2$ відн. од./г с. м., тобто була майже в 1,61 разу вищою. Для *B. salebrosum* цей показник на північній вершині становив $14,6 \pm 1,3$ відн. од./г с. м., а в основі – $10,9 \pm 0,9$ відн. од./г с. м., тобто переважав у 1,34 разу (рис. 3).

Підвищення активності пероксидази в пагонах досліджуваних мохів можна розглядати як адаптивну реакцію, що дає рослинам змогу влітку витримувати дію стресових чинників зовнішнього середовища, зокрема, дефіциту вологи, високої інсоляції та гіпертермії. Виявлені особливості активації пероксидази мохів за дії несприятливих мікрокліматичних умов свідчать про різні рівні антиоксидантного захисту і про здатність рослинних організмів ефективно знешкоджувати АФК.

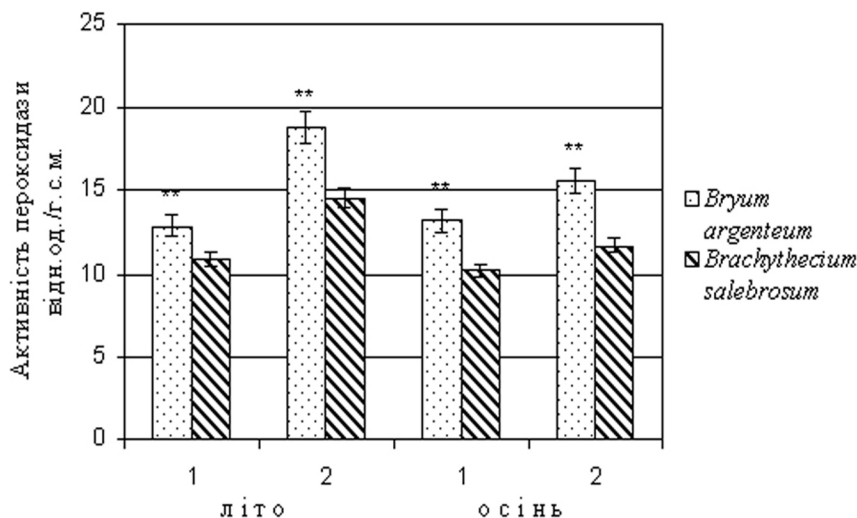


Рис. 3. Активність пероксидази (відн. од./г сухої маси) в пагонах моху *B. argenteum* і *B. salebrosum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: 1 – основа та 2 – вершина ($M \pm m$; $n=4$); ** – статистично достовірна різниця між зразками за $P < 0,01$

Fig. 3. Peroxidase activity (relative units/g of dry weight) in shoots of the moss *B. argenteum* and *B. salebrosum* from different locations of the northern exposure of the sulfur mining dump No 1 – base and top ($x \pm SD$; $n=4$); ** – difference between sample is statistically reliable at $P < 0.01$

Таким чином, встановлено, що активність пероксидази залежить від видових особливостей досліджуваних мохів, зокрема, від життєвої форми. Так, у мохів із життєвою формою щільна або пухка дернинка (*B. caespitium*, *B. unguiculata*, *B. argenteum*) показники активності пероксидази за дії екстремальних факторів були значно вищими, ніж у *B. salebrosum* із життєвою формою плетиво. Восени, коли температурний та інсоляційний рівні знижувались, активність пероксидази мохів з усіх місцевиростань трохи знижувалася, хоча найвищі значення активності ферменту у зразках із вершини відвалу зберігалися.

Ключовим ферментом, задіяним у процесі детоксикації АФК, є СОД. Уперше ензим досліджений McCord і Fridovich у 1969 р. [44], він каталізує перетворення супероксиду на

пероксид водню і молекулярний кисень. СОД розглядається не лише як антиоксидантний фермент, а й як компонент сигнальних систем. Сигнали, що формуються за участю АФК, зумовлюють посилення експресії генів і активацію стрес-протекторних систем. Є літературні дані [8, 29, 39] щодо функцій СОД не лише в антиоксидантному захисті клітин, а й у трансдукції сигналу дії високих температур у геном через перетворення супероксиданіон-радикала на сигнальну молекулу H_2O_2 . СОД є внутрішньоклітинним ферментом, який бере участь у реакціях дисмутації супероксидного аніон-радикала [5, 14, 36, 37]. Сигналінг за участю АФК необхідний для подальшого формування адаптивних реакцій, які зумовлюють підвищення теплостійкості рослин [13, 27, 38, 58]. Відомо, що у формуванні термостабільності рослин можлива участь індукованого білкового синтезу. Вважається, що гіпертермія спричиняє посилення синтезу більш термостабільних форм ферменту. Питання щодо впливу високих температур на активність і термостабільність СОД мохів залишається досі не дослідженим.

Проаналізовано активність СОД у пагонах досліджуваних видів мохів із різних місцевиростань відвалу № 1 видобутку сірки у літній і осінній періоди. З'ясовано, що активність СОД мохів істотно залежить від інтенсивності освітлення й температури. Особливо вирізняється активність СОД у літній період за високої температури й інтенсивності освітлення. Так, активність СОД у цей період на північному схилі й основі відвалу в *B. unguiculata* становила $9,4 \pm 0,3$ та $9,7 \pm 0,2$ (відн. од./хв мг білка) відповідно та була приблизно в 1,22 разу вищою, ніж на північній вершині відвалу (рис. 4). Натомість у *B. caespiticium* найвищі показники активності СОД відзначено у цей період на північній вершині й основі відвалу $9,1 \pm 0,3$ та $9,8 \pm 0,3$ (відн. од./хв мг білка) відповідно (рис. 5). В умовах експерименту за 24-годинної дії гіпертермії встановлено підвищення активності СОД у зразках *B. unguiculata* і *B. caespiticium* в 1,61–1,89 разу. Найістотніше зростання активності СОД виявлено у мохів з північної вершини відвалу: $16,7 \pm 0,3$ та $17,1 \pm 0,5$ (відн. од./хв мг білка) відповідно (рис. 4, 5).

Ефект зростання активності СОД, спричинений впливом гіпертермії, нівелювався обробкою гаметофорів досліджуваних зразків мохів інгібітором біосинтезу білка циклогексимідом. Отримані результати свідчать про можливість індукованого гіпертермією біосинтезу термостабільних форм СОД. Експериментальними дослідженнями встановлено, що прогрівання зразків моху приводило до підвищення активності ферментів, які генерують супероксиданіон, зокрема, пероксидази з подальшим перетворенням його на H_2O_2 за рахунок збільшення активності СОД.

Встановлено також залежність активності СОД не лише від температури й інтенсивності освітлення, а й від ступеня зволоження дернин мохів. Крім того, активність СОД може змінюватися по-різному, залежно від тривалості й інтенсивності дії стресового чинника та стійкості рослинного організму, а також від стадії розвитку тощо [2].

Зростання активності ферменту відзначено в умовах водного дефіциту, під час сольового й теплового стресів [7, 34]. Так, влітку, за умов недостатнього зволоження дернин (вологість дернин *B. argenteum* становила 16 %, а *B. salebrosum* 29 %) активність СОД була найвищою на північній вершині та становила для *B. argenteum* $9,6 \pm 0,8$ відн. од./хв мг білка, а для *B. salebrosum* $6,4 \pm 0,5$ відн. од./хв мг білка (рис. 6).

Восени за низьких температур вологість дернин мохів зростала та для *B. argenteum* становила $34,4 \pm 3,9$ %, а для *B. salebrosum* – $38 \pm 4,1$ %, що супроводжувалося зменшенням активності ферменту. Так, зокрема, активність СОД для *B. argenteum* знижувалася в 1,48 разу, а для *B. salebrosum* – в 1,30 разу.

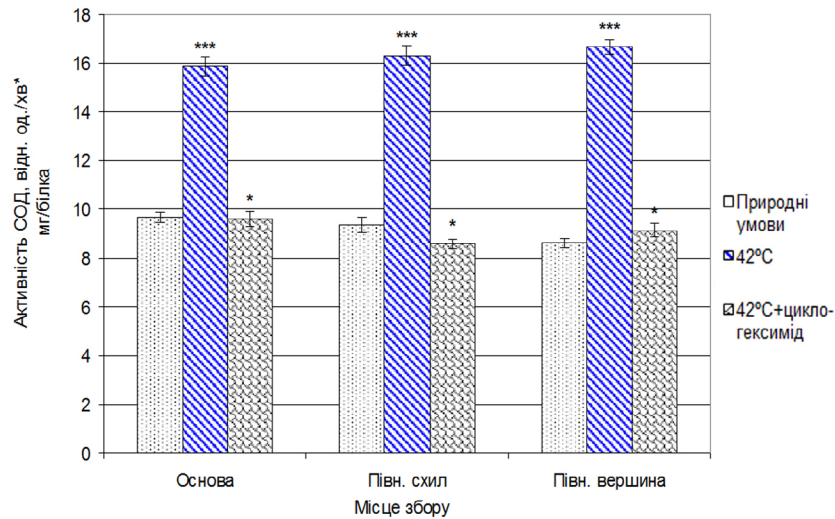


Рис. 4. Активність СОД (відн. од./хв мг білка) *B. unguiculata* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: (плато, схил і вершина) ($M \pm m$; $n=4$); * – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем за $P<0,05$; *** – за $P<0,001$

Fig. 4. Superoxide dismutase activity (SOD) (relative units/min·mg/protein) in shoots of the moss *B. unguiculata* from different locations of the northern exposure of the sulfur mining dump No 1 (base, slope, top) ($x \pm SD$; $n=4$); * – difference between experimental sample and control is statistically reliable $P<0.05$; *** – at $P<0.001$

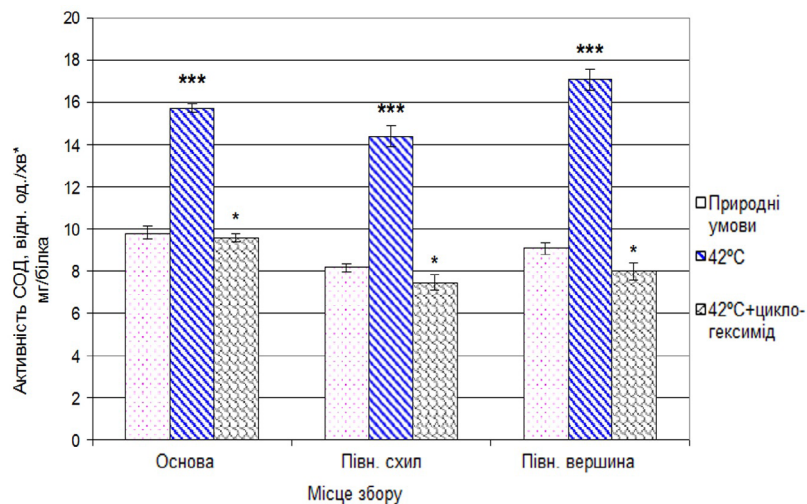


Рис. 5. Активність СОД (відн. од./хв мг білка) *B. caespitium* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: (плато, схил і вершина) ($M \pm m$; $n=4$); * – статистично достовірна різниця між експериментальними зразками і контролем за $P<0,05$; *** – за $P<0,001$

Fig. 5. Superoxide dismutase activity (SOD) (relative units/min·mg/protein) in shoots of the moss *B. caespitium* from different locations of the northern exposure of the sulfur mining dump No 1 (base, slope, top) ($x \pm SD$; $n=4$); *** – difference between experimental sample and control is statistically reliable at $P<0.001$

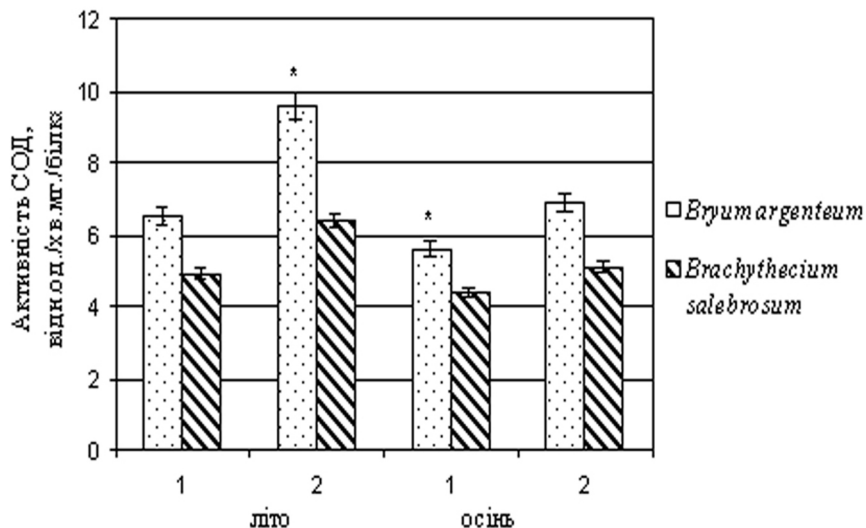


Рис. 6. Активність СОД (відн. од./хв.мг.білка) в пагонах моху *B. argenteum* і *B. salebrosum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: 1 – основа та 2 – вершина ($M \pm m$; $n=4$); * – статистично достовірна різниця між зразками за $P < 0,05$

Fig. 6. Superoxide dismutase activity (SOD) (relative units/min·mg/protein) in shoots of the moss *B. argenteum* and *B. salebrosum* from different locations of the northern exposure of the sulfur mining dump No 1 – base and 2 – top ($x \pm SD$; $n=4$); * – difference between sample is statistically reliable at $P < 0.05$

Каталаза – один із найактивніших ензимів антиоксидантної системи, що забезпечує розщеплення пероксиду водню, який утворюється в пероксисомах під час фотодихання [42, 56]. Специфікою каталази є її локалізація в пероксисомах і участь у процесах катаболізму, які активуються в процесі деструкції клітини. Захисна роль каталази добре відома за надмірного освітлення та водного дефіциту. Цей фермент бере участь у підтриманні окисно-відновного балансу в клітинах за дії окисного стресу та сприяє адаптації організму до стрес-факторів.

У літній період за несприятливих мікрокліматичних умов відзначено найвищі показники активності каталази на північній вершині відвалу: для *B. argenteum* – $14,4 \pm 1,3$ мкМ H_2O_2 /мг білка хв, а для *B. salebrosum* – $8,5 \pm 0,7$ мкМ H_2O_2 /мг білка хв.

Восени у *B. argenteum* каталазна активність знижувалась в 1,46 разу, а у *B. salebrosum* – в 1,31 разу (рис. 7).

Ці результати узгоджуються з даними багатьох дослідників, у працях яких вказано, що активність антиоксидантних ферментів, у тому числі каталази, зростає за дії стресорів: посухи, гербіцидів, температури, засолення тощо [3, 26, 54, 59].

Визначено, що морфологічна структура дернин мохів *B. argenteum* і *B. salebrosum* на посттехногенних територіях видобутку сірки є важливою для збереження вологи і залежить від мікрокліматичних умов місцевиростання та життєвої форми виду. Дернини мохів *B. argenteum* і *B. salebrosum* за несприятливих водного й температурного режимів набували ознак ксероморфності (зменшення висоти пагонів, розмірів листової пластинки, збільшення щільності дернин), що є проявом адаптації до дефіциту вологи.

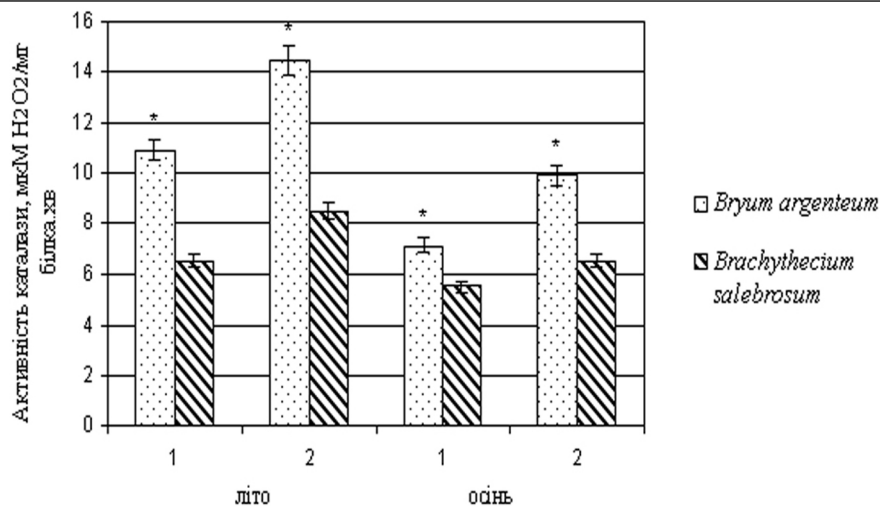


Рис. 7. Активність каталази ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{мг білка хв}$) в пагонах моху *B. argenteum* і *B. salebrosum* із різних трансект північної експозиції відвалу № 1 видобутку сірки: 1 – основа та 2 – вершина ($M \pm m$; $n=4$); * – статистично достовірна різниця між зразками за $P < 0,05$

Fig. 7. Catalase activity ($\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{mg protein min}$) in shoots of the moss *B. argenteum* and *B. salebrosum* from different locations of the northern exposure of the sulfur mining dump No 1 – base and 2 – top ($x \pm \text{SD}$; $n=4$); * – difference between sample is statistically reliable at $P < 0.05$

Установлено залежність активності антиоксидантних ферментів досліджуваних мохів від інтенсивності освітлення, температури та вологості на трансектах відвалу № 1. У літній період за екстремальних умов відзначено найвищі показники активності пероксидази, СОД і каталази. Показано, що активність ензимів залежить від видових особливостей мохів. Підвищення активності ферментів-антиоксидантів зумовлене насамперед зміною експресії генів стресових білків, що контролюють синтез специфічних адаптогенів і протекторів. Отримані результати свідчать, що екстремальні умови антропогенно трансформованого середовища сприяють розвитку форм із найвищими потенційними можливостями.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1970. 488 с.
2. Бараненко В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48. № 6. С. 465–474.
3. Буздуга І. М., Волков Р. А., Панчук І. І. Втрата активності каталази 2 впливає на обмін аскорбату в арабідопсису за дії важких металів // Фізіологія рослин і генетика. 2020. Т. 52. № 4. С. 306–319. doi: <https://doi.org/10.15407/frg2020.04.306>
4. Гончарова И. А. К вопросу о структуре дерновины и продуктивности сфагновых мхов на олиготрофных болотах // Сибирский экол. журн. 2005. № 1. С. 131–134.
5. Зинь А. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2012. Вип. 60. С. 21–39.
6. Іващенко О. О., Іващенко О. О. Проблеми стресів у рослин і способи їх розв'язання // Вісн. аграрн. науки. 2019. № 7. С. 27–35. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201907-04>
7. Ісаєнков С. В. Фізіологічні та молекулярні аспекти сольового стресу у рослин // Цитология и генетика. 2012. № 5. С. 50–71.

8. Карпец Ю. В., Колупаев Ю. Е., Григоренко Д. О., Фирсова К. М. Реакция растений ячменя различных генотипов на почвенную засуху и действие донора оксида азота // Вісн. Харк. нац. аграрн. ун-ту. Сер. біол. 2016. Т. 2. № 38. С. 94–105.
9. Кияк Н. Я., Байк О. Л., Кім Н. А. Морфо-фізіологічна адаптація бріофітів до екологічних факторів на дегазованих територіях видобутку сірки // Science Rise: Biological Science. 2017. Вип. 5. № 8. С. 33–38. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2017.113540>
10. Кияк Н., Буньо Л. Механізми пристосування бріофітів до сольового стресу на території хвостосховища Стебницького гірничо-хімічного підприємства “Полімінерал” // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2017. Вип. 76. С. 87–96. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2017.76.11>
11. Кім Н. А. Особливості стійкості мохів до водного дефіциту на дегазованих територіях видобутку сірки // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. 2012. Т. 3(10). № 1. С. 191–198.
12. Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Активные формы кислорода при адаптации растений к стрессовым температурам // Физиология и биохимия культ. раст. 2009. Т. 41. № 2. С. 95–108.
13. Колупаев Ю. Е., Обозный А. И. Участие активных форм кислорода в индуцировании аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы при тепловом закаливании проростков пшеницы // Укр. біохім. журн. 2012. Т. 84. № 6. С. 131–138. http://nbuv.gov.ua/UJRN/BioChem_2012_84_6_17
14. Колупаев Ю. Е., Обозный О. І. Активні форми кисню і антиоксидантна система при перехресній адаптації рослин до дії абіотичних стресорів // Вісн. Харк. нац. аграрн. ун-ту. Сер. біол. 2013. Т. 3. № 30. С. 18–31.
15. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1986. № 1. С. 16–20.
16. Методы биохимического исследования растений // Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. / под ред. А. И. Ермакова. Л.: Агропромиздат. Ленингр. отделение, 1987. 430 с.
17. Обозный А. И., Колупаев Ю. Е., Швиденко Н. В., Вайнер А. А. Динамика активности антиоксидантных ферментов при кросс-адаптации проростков пшеницы к гипертермии и осмотическому шоку // Вісн. Харк. нац. аграрн. ун-ту. Сер. біол. 2012. Т. 2. № 26. С. 71–84.
18. Польчина С. М. Методичні рекомендації до лабораторних і практичних робіт з ґрунтознавства. Чернівці: ЧДУ, 1991. 60 с.
19. Практикум по агрохимии: уч. пособ. 2-е изд., перераб. и доп. / под ред. В. Г. Минеева. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.
20. Пятыйгин С. С. Стресс у растений: физиологический подход // Журн. общ. биологии. 2008. Т. 69. № 4. С. 294–298.
21. Хоркавців Я. Д., Ріпецький Р. Т., Байк О. Л. Фенотипічна і епігенетична адаптація клонів мохів до ртуті // Цитология и генетика. 2009. Т. 43. № 5. С. 311–315. doi:10.3103/S009545270905003X
22. Чевари С., Андьал Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лаб. дело. 1991. Т. 18. № 2. С. 9–13.
23. Юрина Н. П., Одинцова М. С. Сигнальные системы растений. Пластидные сигналы и их роли в экспрессии ядерных генов // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 4. С. 485–498.
24. Alvarez S., Sanchez-Blanco M. J. Long-term effect of salinity on plant quality, water relations, photosynthetic parameters and ion distribution in *Callistemon citrinus* // Plant Biology. 2014. Vol. 16. P. 757–764. doi: 10.1111/plb.12106

25. Baik O., Kyryak N., Humeniuk O., Humeniuk V. Oxidative stress in moss *Bryum caespitium* (Bryaceae) under the influence of high temperature and light intensity in a technogenically transformed environment // Regul. Mech. Biosyst. 2021. Vol. 12. N 4. P. 710–717. <https://doi.org/10.15421/022198>
26. Buzduga I. M., Völkov R. A., Panchuk I. I. Metabolic compensation in *Arabidopsis thaliana* catalase-deficient mutants // Cytol. Genet. 2018. Vol. 52. N 1. P. 31–39. <https://doi.org/10.3103/S0095452718010036>
27. Cavalcanti F. R., Oliveira J. T. A., Martins-Miranda A. S. et al. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves // New Phytologist. 2004. Vol. 163. P. 563–571. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01139x
28. Choudhury F. K., Rivero R. M., Blumwald E., Mittler R. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination // Plant J. 2017. Vol. 90. N 5. P. 856–867. doi: 10.1111/tjp.13299
29. Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology // Environ. Exp. Bot. 2015. Vol. 109. P. 212–228. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.021
30. Dey A., De J. N. Antioxidative potential of Bryophytes: stress tolerance and commercial perspectives: a review // Pharmacologia. 2012. Vol. 3. N 6. P. 151–159. doi: 10.5567/pharmacologia.2012.151.159
31. Gill S. S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // Plant Physiol. Biochem. 2010. Vol. 48. P. 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
32. Guan L. M., Scandalios J. G. Hydrogen-peroxide-mediated catalase gene expression in response to wounding // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 28. N 8. P. 1182–1190. doi: 10.1016/S0891-5849(00)00212-4
33. Hasanuzzaman M., Borhannuddin B., Zulfiqar F. et al. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator // Antioxidants. 2020. Vol. 9. P. 681–690. doi: 10.3390/antiox9080681
34. Jiroutova P., Kovalikova Z., Toman J. et al. Complex Analysis of antioxidant Activity, Absciscic Acid Level, and Accumulation of Osmotica in Apple and Cherry In Vitro Cultures under Osmotic Stress // Int. J. Mol. Sci. 2021. Vol. 22. N 15. P. 7922–7937. doi: 10.3390/ijms22157922
35. Karuppanapandian Th., Moon J. Ch., Kim Ch. et al. Reactive oxygen species in plants: Their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms // Austr. J. Crop Sci. 2011. Vol. 5. N 6. P. 709–725.
36. Khan M. I. R., Khan N. A. Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress // Singapore: Springer. 2017. 329 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5>
37. Khan T. A., Fariduddin Q., Yusuf M. Low-temperature stress: is phytohormones application a remedy? // Environ. Sci. Pollut. Res. 2017. Vol. 24. N 27. P. 21574–21590. doi: 10.1007/s11356-017-9948-7
38. Khorobrykh A. Hydrogen Peroxide and Superoxide Anion Radical Photoproduction in PSII Preparations at Various Modifications of the Water-Oxidizing Complex // Plants. 2019. Vol. 8. N 9. P. 329–340. <https://doi.org/10.3390/plants8090329>
39. Kimura M., Umemoto Y., Kawano T. Hydrogen peroxide-independent generation of superoxide by plant peroxidase: hypotheses and supportive data employing ferrous ion as a model stimulus // Frontiers in Plant Sci. 2014. Vol. 5. P. 285–296. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00285>

40. Kimura S., Waszczak C., Hunter K., Wrzaczek M. Bound by fate: the role of reactive oxygen species in receptor-like kinase signaling // *Plant Cell*. 2017. Vol. 29. P. 638–654. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00947>
41. Kyjak N. Ya., Baik O. L. Role of the bryophyte cover in accumulation of organic carbon and biogenic elements in technogenic substrate on the territory of sulfur deposit // *Studia Biologica*. 2016. Vol. 10. N 3. P. 48–55. <https://doi.org/10.30970/sbi.1003.495>
42. Leung D. Studies of Catalase in Plants Under Abiotic Stress / In: *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plant*. 2018. P. 7–39. doi:10.1007/978-3-319-75088-0_2
43. Lobachevska O., Kyjak N., Khorkavtsiv O. et al. Influence of metabolic stress on the inheritance of cell determination in the moss, *Pottia intermedia* // *Cell Biol. Int.* 2005. Vol. 29. N 3. P. 181–186. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2005.02.001>
44. McCord J. M., Fridovich I. Superoxide Dismutase: An Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocuprein) // *J. Biol. Chem.* 1969. Vol. 244. P. 6049–6055. <http://www.jbc.org/content/244/22/6049.abstract>
45. Proctor M. C. F., Tuba Z. Poikilohidry and homoiohydry: antithesis or spectrum of possibilities // *New Phytologist*. 2002. Vol. 156. P. 327–349.
46. Puthur J. T. Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants. South Indian // *J. Biol. Sci.* 2016. Vol. 2. N 1. P. 9–13. <https://doi.org/10.22205/sijbs/2016/v2/i1/100335>
47. Rampitsch C., Srinivasan M. The application of proteomics to plant biology: A review. *Canad. J. Bot.* 2011. Vol. 84. N 6. P. 883–892. doi:10.1139/b06-061
48. Scandalios J. G. Oxidative Stress: Molecular Perception and Transduction of Signals Triggering Antioxidant Gene Defenses // *Braz. J. Med. And Biol. Res.* 2005. Vol. 38. N 7. P. 995–1014.
49. Seel W. E., Hedry G. A. F., Lee J. A. Effects of desiccation on some activated oxygen processing enzymes and antioxidants in mosses // *J. Exp. Bot.* 1992. Vol. 43. P. 1031–1037. <https://doi.org/10.1093/jxb/43.8.1031>
50. Sharma I., Ahmad P. Catalase: a versatile antioxidant in plants / In: Ahmad, P. (Ed.) *Oxidative Damage to Plants*. 2014. P. 131–148. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00004-6>
51. Smirnoff N. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions / In: Smirnoff, N. (ed). *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK. 2005. P. 53–86.
52. Song J., Wu W., Hu B. Light and temperature receptors and their convergence in plants // *Biologia Plantarum*. 2020. Vol. 64. P. 159–166. doi: 10.32615/bp.2019.104
53. Turetsky M. R. New Frontiers in Bryology and Lichenology. The Role of Bryophytes in Carbon and Nitrogen Cycling // *Bryologists*. 2003. Vol. 106. N 3. P. 395–409.
54. Tyagi S., Shumayla, Madhu, Singh K. Molecular characterization revealed the role of catalases under abiotic and arsenic stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *J. Hazard. Mater.* 2020. Vol. 403. doi:10.1016/j.jhazmat.2020.123585
55. Wadavkar D. S., Murumkar C. V., Deokule S. S., Chavan S. J. Secondary metabolite and enzyme activity on some moss species from Western Ghats, Maharashtra, India // *Bioscience Discovery*. 2017. Vol. 8. N 4. P. 716–719. <http://jbsd.in> ISSN: 2229-3469 (Print); ISSN: 2231-024X (Online).
56. Wang W., Cheng Y., Chen D., Liu D. The Catalase Gene Family in Cotton: Genome-Wide Characterization and Bioinformatics Analysis // *Cells*. 2019. Vol. 8. N 2. P. 86–114. doi:10.3390/cells8020086
57. Wani K. I., Naeem M., Castroverde C. D. M. et al. Molecular mechanisms of nitric oxide (NO) signaling and reactive oxygen species (ROS) homeostasis during abiotic stresses //

- Plants. Intern. Journ. of Mol. Sci. 2021. Vol. 22. N 17. P. 56–96. <https://doi.org/10.3390/ijms22179656>
58. Zhang X., Zhao Y., Wang S. Responses of antioxidant defense system of epilithic mosses to drought stress in karst rock desertified areas // The Acta Geochimica. 2017. Vol. 36. N 2. P. 205–212. doi 10.1007/s11631-017-0140-z
59. Zulfiqar F., Ashraf M. Antioxidants as modulators of arsenic-induced oxidative stress tolerance in plants: An overview // J. Hazard. Mater. 2021. Vol. 427. P. 1–14. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.127891

Стаття надійшла до редакції 13.07.22

доопрацьована 21.09.22

прийнята до друку 27.09.22

MORPHO-PHYSIOLOGICAL REACTIONS OF MOSSES TO THE ACTION OF ABIOTIC FACTORS ON POST-TECHNOGENIC AREAS OF SULPHUR DEPOSITE

O. Baik, N. Kit

Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine

4, Kozelnitska St., Lviv 79026, Ukraine

e-mail: baik.oksana@gmail.com

The morphological structure of turfs and the activity of the main enzymes of antioxidant protection: peroxidase, superoxide dismutase (SOD) and catalase of the dominant species of mosses *Barbula unguiculata* Hedw., *Bryum caespitium* Hedw., *Bryum argenteum* Hedw. and *Brachythecium salebrosum* (Hoffm. ex F. Weber & D. Mohr) Schimp. from different transects of the northern exposure of sulfur mining dump No. 1 in the summer and autumn seasons were studied.

It is shown that the morphological structure of the turfs of the mosses *Bryum argenteum* and *Brachythecium salebrosum* in the post-technological areas of sulfur mining is important for moisture conservation and depends on the microclimatic conditions of local growth and the life form of the species. It was found that the activity of enzymes depends on the species characteristics of mosses. The dependence of the activity of antioxidant enzymes in the investigated mosses on the intensity of light and temperature on the transects of dump No. 1 was defined. In the summer period, the highest indicators of the activity of antioxidant enzymes were noted in moss samples from the northern top of the dump, where the influence of high temperatures and light intensity, as well as lack of moisture, are particularly noticeable. Under the experimental conditions, in *Barbula unguiculata* and *Bryum caespitium* from the northern top of the dump, under the influence of 24-hour exposure to a temperature of 42 °C, the most significant increase in peroxidase activity by 1.2–1.4 and SOD by 1.6–1.9 times was found. Increasing in peroxidase activity and SOD caused by hyperthermia were reversed by pretreatment with the protein biosynthesis inhibitor cyclohexamide, that may indicate about involvement of the protein synthesizing system in this process. It is likely that the increasing of the activity of antioxidant enzymes is caused primarily by the change in gene expression of stress proteins that control the synthesis of specific adaptogens and protectors, indicating that the extreme conditions of an anthropogenically transformed environment contribute to the development of forms of organisms with the highest potential opportunities.

Keywords: oxidative stress, peroxidase, superoxide dismutase, catalase, mosses

**ВПЛИВ СПОНТАННОЇ СИЛЬВАТИЗАЦІЇ НА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ
ВЛАСТИВОСТІ ЧОРНОЗЕМІВ ЕКСТРАЗОНАЛЬНИХ ЛУЧНО-СТЕПОВИХ
РОСЛИННИХ УГРУПОВАНЬ БОТАНІЧНОГО ЗАКАЗНИКА “МАКІТРА”
(НПП “ПІВНІЧНЕ ПОДІЛЛЯ”, УКРАЇНА)**

В. Козловський^{1*}, Н. Романюк², Р. Юречко³

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

²*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

³*Національний природний парк “Північне Поділля”
вул. Гагаріна, 2-б, с. Підгірці
Золочівського р-ну Львівської обл. 80660, Україна*

Лучно-степові рослинні угруповання природно-заповідних територій НПП “Північне Поділля”, зокрема, заказника “Макітра”, що розташовані поза межами степового поясу, внаслідок зниження господарської діяльності та дії режиму повного заповідання, перебувають під загрозою спонтанного заліснення і можуть втратити своє первинне призначення. Зміни, що супроводжують процес сильватизації, охоплюють усі складові біогеоценозу; в ході деградації трав’яного фітоценозу змінюються морфологічні особливості та фізико-хімічні властивості ґрунту. Ґрунтові розрізи закладали на північно-східному схилі гори Макітра в лучно-степовому угрупованні. Встановлено, що через 12–15 років від початку заліснення сосною звичайною чорнозем під первинним лучно-степовим угрупованням виявляє очевидні ознаки деградації по всій глибині розрізу: (1) деградація горизонту степової повсті (Hc) та дернового горизонту (Hd); (2) пониження глибини рівня карбонатів у профілі на 10–15 см; (3) втрата органічної речовини на 30–50 %; (4) зменшення ємності катіонного обміну на 15–20 %; (5) вилуговування CaCO₃ (>50 % з горизонту H) та інших макро- (K, Na, Mg, Fe, Al) і мікроелементів (Cu, Zn, Mn, Ni, Pb) (до 10–30 %). Інтенсивність процесів вилуговування на момент дослідження залишається високою, про що свідчить вищий вміст аморфних кремнезему, алюмінію та водорозчинного карбону в ґрунті угруповання, який перебуває на стадії заліснення, порівняно з цілиним чорноземом. Отримані результати дають підстави прогнозувати перебіг ґрунотвірного процесу від чорнозему типового під цілиним лучно-степовим угрупованням до чорнозему вилуженого (чорнозему лісового за Травлєвим, 2008) у процесі заростання сосною звичайною. В обох випадках ґрунотвірний процес ще перебуває в рамках гумусоакумулятивного (дернового) процесу ґрунтоутворення. Однак, зважаючи на виявлену на момент дослідження високу інтенсивність процесів деградації, з’являється ймовірність значного наростання ознак вилуговування, що свідчитиме про вплив на розвиток ґрунтового профілю разом із чорноземним (аккумулятивним) і підзолистим ґрунотвірним процесом.

Ключові слова: спонтанне заліснення, лучно-степові рослинні угруповання, чорнозем, сукцесія, ґрунтоутворення

Степова та Лісостепова зони займають більше 70 % території України, а їхня середня розораність становить 75 %, сягаючи на Лівобережжі навіть 90 % [1]. Як наслідок, цілих степових ділянок, що стали останніми осередками збереження степового біорізноманіття

країни, залишилося не більше 3 % території України [16]. З цієї причини значна кількість степових видів тварин і рослин потрапили до списків Червоної книги України. Залежать від збереження степів 159 із 543 видів тварин і 276 із 826 видів рослин, занесених до Червоної книги України [3, 11]. Як складова частина степових біотопів ці види не можуть існувати в жодному іншому місці. Водночас більшість заповідних територій в Україні зосереджена в Карпатах, Криму та Поліссі. Станом на 2020 рік частка заповідності України становила 6,77 % від загальної площі країни, що значно менше від середньоєвропейського показника у 12–15 % [1]. У контексті сталого розвитку України необхідне збільшення природнозаповідного фонду, з урахуванням наявного не на користь природних степів дисбалансу. Потрібне створення нових і розширення наявних природозаповідних об'єктів з метою збереження й відтворення саме природних степових ландшафтів.

Однак не лише достатня кількість заповідних степових територій є запорукою збереження степового біорізноманіття. Значна кількість природоохоронних об'єктів, метою створення яких було збереження природної лучно-степової рослинності, втрачають своє первинне призначення через процеси спонтанного заліснення, коли внаслідок природних сукцесій відбувається поступове витіснення трав'яних фітоценозів деревними та чагарниковими [5]. Як не дивно, на відміну від недалекого минулого, сприяє цьому в багатьох випадках значне зниження господарської діяльності людини або через введення режиму абсолютного заповідання, або через соціально-економічні причини, коли знижується інтенсивність використання цих територій як пасовищ або сіножатей [3]. Такі зміни відбуваються і на території природоохоронного об'єкта НПП "Північне Поділля" заказника "Макітра". На думку Ю. Р. Шеляг-Сосонка зі співавторами [11, 12], подільські степи мають різне походження. Лучно-степові формації, поширені на Лисій горі, Макітрі, Підліській і на горі Стінка, є первинними, про що свідчить наявність кількох давніх реліктових видів *Coronilla coronata* L., *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szaf., Kucz. et Paw., *Daphne cneorum* L. Унікальні екстразональні оселища лучно-степової рослинності опинилися під загрозою зникнення, а разом з ними під загрозою зникнення перебувають і 17 видів рослин, занесених до Червоної книги України [8, 10–12].

Зміна рослинного покриву детермінує зміну фізико-хімічних властивостей ґрунтів уже в короткочасній перспективі та нерідко і зміну напряму розвитку ґрунотвірного процесу загалом [10]. Це може призвести до критичних змін визначальних ґрунтових параметрів, ключових для існування певних видів рослин і рослинних угруповань. Особливо небезпечні такі зміни для реліктових або екстразональних рослинних угруповань, де за сотні або й за тисячі років ізоляваного існування в нетипових природних умовах склалася хитка рівновага між фітоценозом і навколишнім середовищем, зокрема, з ґрунтом, який власне і є результатом життєдіяльності цього фітоценозу та умовою його існування. Деградація лучно-степових екстразональних фітоценозів НПП "Північне Поділля" внаслідок спонтанної сільватизації (фактично заміни одного з факторів ґрунотворення – рослинності) може спричинити такі зміни фізико-хімічних параметрів локальних чорноземів, які унеможливають відновлення лучно-степової рослинності на цих територіях у майбутньому.

Побутують суперечливі погляди щодо впливу заліснення на фізико-хімічні властивості й розвиток чорноземів. Одні вважають, що розвиток чорноземних ґрунтів під лісовими насадженнями відбувається за напрямом підзолистого типу ґрунотворення (і тоді це пряма загроза для існування лучно-степових угруповань НПП "Північне Поділля"), а інші – що під лісовими насадженнями деградація чорноземів не відбувається

[4]. З метою з'ясування тенденції розвитку чорноземів під впливом сільватизації на конкретних ділянках, зокрема, заказника "Макітра" заповідного фонду НПП "Північне Поділля", й проводили ці дослідження. Предмет досліджень – фізико-хімічні властивості й мікроелементний склад ґрунтів лучних реліктових степових рослинних угруповань і їхні зміни внаслідок природного заліснення.

Матеріали та методи

Об'єктом досліджень були оселища лучно-степової рослинності у природоохоронних об'єктах НПП "Північне Поділля" в межах заказника "Макітра" (північна частина низькогірного пасма "Вороняки"; 50°02'06" пн. ш., 25°16'01" сх. д.). Предмет досліджень – динаміка змін фізико-хімічних властивостей і елементного складу ґрунтів у процесі спонтанного заростання ділянок лучно-степової рослинності сосною звичайною (*Pinus sylvestris* L.). Мета досліджень – встановити особливості трансформаційних процесів, що виникають у ґрунтах лучно-степових рослинних угруповань під впливом спонтанної сільватизації, виявити тенденції розвитку ґрунтовірних процесів у ході спонтанної сільватизації й оцінити ризики для збереження унікальних лучно-степових біогеоценозів у зв'язку з можливими незворотними змінами ґрунту як складової біогеоценозу, що виникають у процесі заростання.

Ґрунтові розрізи закладали на північно-східному схилі гори Макітра в угрупованні ксеромезофільних лучних степів союзу *Cirsio-Brachypodium pinnati* з фрагментами *Festuco-Stipion* (клас *Festuco-Brometea*) і лісостепових галявин союзу *Geranion sanguinei* (клас *Trifolio-Geranietea*) та прилеглий ділянки, де вік спонтанно утвореного угруповання *Pinus sylvestris* L. становив 12–15 років. Зразки ґрунту відбирали відповідно до генетичних горизонтів.

У повітряно-сухих ґрунтових зразках, просіяних крізь сито з діаметром отворів 1 мм, визначали фізико-хімічні показники відповідно до загальноприйнятих методів: ємність катіонного обміну – експрес-методом ЦІНАО для карбонатних, гіпсовмісних і засолених ґрунтів із вмістом органічної речовини не більш ніж 6 %, який ґрунтується на насиченні вбирного комплексу магнієм за допомогою розчину оцтовокислого магнію (0,25 моль/дм³, рН=7,0) з подальшим витісненням увібраного магнію хлористим калієм (0,5 моль/дм³) та на визначенні кількості витісненого магнію, еквівалентного ємності катіонного обміну, комплексонометрично [7]; рН водної витяжки – потенціометрично; валовий вміст органічного карбону – спектрофотометрично [14]; вміст водорозчинного карбону визначали після 30 хв екстракції дистильованою водою (збовтування 30 хв, співвідношення ґрунт-вода 1:10), фільтрування суспензії крізь мембранний фільтр (0,45 мкм), випаровування екстракту на водяній бані з подальшим розчиненням залишку розчином біхромату калію в сірчаній кислоті за [14]; вміст аморфного Fe – у витяжці Честера (150 мл 25 % гідроксиламін гідрохлориду у 350 мл 35 % оцтової кислоти) зі співвідношенням ґрунт-розчин 1:50 після 4 год збовтування; аморфні Si й Al – після екстракції 0,2 N NaOH (співвідношення ґрунт-розчин 1:400, час екстрагування – 24 год) [15, 16] визначали колориметрично у складі комплексів жовтої кремніймолібденової гетерополікислоти ($\lambda=400$ нм) і алюміноном відповідно [19].

Валовий вміст Al, Fe, Mn, Zn, Cd, Pb, Cu, Co, Ni, Na, K, визначали після мінералізації зразків методом сухого спалювання (400–450 °C) з подальшим розчиненням залишку в суміші азотної зі соляною та плавикової кислот [16]. Mn, Fe, Zn, Cd, Pb, Cu, Co, Ni в отриманих екстрактах визначали атомно-абсорбційним методом, Al – з алюміноном; Na, K – методом емісійної фотометрії полум'я [16].

Хімічні аналізи проводили у трьох повторностях. Отримані результати вважали прийнятними за умови різниці отриманих значень не більш ніж 5 %.

Результати і їхнє обговорення

У процесі сільватизації помітні морфологічні зміни верхньої частини ґрунтового профілю. У лучно-степовому угрупованні існує потужний горизонт степової повсті (Hc) – неодмінний атрибут профілю цілинного чорнозему, який дуже фрагментарний на пробній площі з деревною рослинністю або його взагалі немає. Натомість, горизонт підстилки, якого практично немає у лучному угрупованні, стає достатньо потужним і чітко диференційованим на шари різного ступеня розкладання (L, F, H) у сосняку. Гумусовий горизонт у лучному угрупованні складається з двох шарів – верхнього дернового горизонту (Hd), густо пронизаного корінням і кореневищами, та нижнього (H), де кількість коренів різко зменшується. Малопотужний майже мертвий дерновий горизонт усе ще помітний на 10–15-річній стадії заростання сосною. Втрата повстини та дернового горизонту в процесі заростання неминуче призведе до змін водного, температурного й газового режимів цілинного чорнозему. У середній частині ґрунтового профілю сосняка вкраплення CaCO_3 менш потужні й містяться на 10–15 см глибше, порівняно з лучним угрупованням. Тобто вже за морфологічними ознаками ґрунтового профілю помітно, що у процесі заростання відбувається вилугування карбонату кальцію вниз за профілем.

Разом із морфологічними змінами ґрунтового профілю у процесі заростання змінюються і фізико-хімічні параметри ґрунту (див. таблицю). Найпомітнішою є втрата органічної речовини, вміст якої у ґрунтовому профілі 10–15-річного сосняка вже більш ніж удвічі нижчий, порівняно з ґрунтом лучно-степового угруповання. При цьому частка водорозчинного органічного вуглецю в загальній його кількості також вища в сосновому угрупованні, що свідчить про вищу швидкість деградації органічної речовини, ніж це відбувається у ґрунті лучно-степового угруповання. Тобто дегуміфікація через 10–15 років після початку заростання (на момент відбирання зразків) триває і охоплює не лише верхню частину гумусового горизонту, а й ґрунтовий профіль загалом.

Актуальна кислотність ґрунту на цій стадії заростання ще залишається без істотних змін, що, ймовірно, пов'язано з початково високим вмістом карбонатів і органічної речовини гуматного типу в цілинному чорноземі, які й забезпечують його високу буферність. Однак ця буферність у процесі сільватизації знижується. Про це свідчить значне зменшення ємності катіонного обміну (перш за все як наслідку деградації органічної речовини) та вилугування з ґрунтового профілю кальцію (рис. 1, 2). Про зростання інтенсивності процесів вилугування у процесі заростання сосною свідчить також ріст концентрації аморфних форм Si ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) та Al ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$) (див. таблицю). Оксид кремнію – стійкий до міграції мінерал, і його концентрація зазвичай мало змінюється у ґрунтовому профілі. Вміст рухомого алюмінію у ґрунтовому розчині перш за все залежить від кислотно-основних умов. Отже, ріст концентрації рухомих форм кремнію і алюмінію (на тлі незмінного pH) відбувається в основному внаслідок розпаду органічної речовини та має біогенне походження. На тлі інтенсифікування процесів вилугування Si й Al із ґрунтового профілю, внаслідок сільватизації спостерігається також тенденція до збагачення ґрунту алюмінієм, про що свідчать вищі значення молярних співвідношень $\text{SiO}_{2 \text{ аморфний}} / \text{Al}_{2 \text{ аморфний}} \text{O}_3$ (див. таблицю).

Інформативними показниками зміни інтенсивності процесів вилугування хімічних елементів із ґрунтового профілю є співвідношення валового вмісту елемента до вмісту рухомих форм цього елемента у ґрунті. Коефіцієнти $\text{Al}_{\text{валовий}} / \text{Al}_{\text{аморфний}}$, $\text{Fe}_{\text{валовий}}$

/ Fe_{аморфний} свідчать про відносне збагачення рухомими формами заліза й алюмінію ґрунтового профілю стадії заростання, що, як і попередні показники, є ознакою збільшення інтенсивності вилуговування цих елементів у процесі сільватизації.

Фізико-хімічні властивості ґрунтів
(г. Макітра, НПП "Північне Поділля", Україна; 07.2020)

Глибина, см	Генетичний горизонт	Втрата після спалення	pH (H ₂ O)	Ємність катіонного обміну	Al	Si	Fe	С органічний		SiO ₂ / Al ₂ O ₃ аморфний	Al валовий / Al аморфний	Fe валовий / Fe аморфний
					аморфний (витяжка 0,1N NaOH)	аморфний (витяжка Честера)	валовий	водорозчинний				
									%			
Сосняк												
0-10	H(d)	13.20	7.97	33	0.70	0.88	352	2.38	6.05	1.4	36	12
10-20	H	9.02	8.06	21	1.04	1.20	376	1.96	8.21	1.3	28	12
20-30	H	8.00	7.91	21	1.25	1.44	400	2.13	5.38	1.3	25	10
30-40	H	8.13	8.15	20	1.11	1.28	315	2.24	5.84	1.3	25	15
40-50	Hpk	7.81	8.21	21	1.04	1.12	315	1.95	4.73	1.2	28	17
50-60	Hpk	6.78	8.21	27	0.90	1.04	315	1.68	6.18	1.3	29	18
60-70	HPk	5.63	8.21	16	0.83	0.96	339	0.94	15.02	1.3	30	15
70-80	Pk	2.29	8.19		0.45	0.56	485			1.4	39	4
Лука												
0-10	Hd	20.20	7.97	36	0.70	0.72	364	6.00	2.78	1.1	45	17
10-20	H	16.34	7.97	28	0.83	0.88	339	5.06	3.02	1.2	33	15
20-30	H	15.58	7.99	27	0.87	0.78	339	4.69	3.17	0.9	35	15
30-40	H	12.96	7.99	26	0.83	0.88	352	3.92	4.53	1.2	36	15
40-50	Hpk	10.10	8.10	27	0.80	0.83	340	3.50	4.20	1.2	37	16
50-60	Hpk	8.40	8.20	26	0.77	0.80	360	2.70	4.00	1.2	35	15
60-70	HPk	6.50	8.20	25	0.75	0.85	365	1.00	3.50	1.2	37	14

Валовий вміст усіх досліджених макро- (Al, Fe, K, Na, Ca, Mg) (рис. 1, 2) та мікроелементів (Mn, Zn, Ni, Pb, Cu) (рис. 3, 4) виявився помітно вищим у лучно-степовому угрупованні. Тобто впродовж відносно нетривалого періоду заростання у 10–15 років відбулася значна втрата накопичених у цілинному ґрунті лучно-степової рослинної формації основних хімічних елементів. Важливим фактором виникнення і розвитку чорнозему є наявність достатньої кількості неорганічного кальцію, який, утворюючи стабільні та малорухомі комплекси з гуміновими кислотами, сприяє накопиченню у ґрунтовому профілі органічної речовини. Крім того, карбонати кальцію є надійним геохімічним бар'єром на шляху вимивання мікро- та макроелементів із ґрунтового профілю. Пониження межі карбонатів кальцію у ґрунтовому профілі та зменшення їхньої концентрації сприяє втратам органічної речовини й хімічних елементів із ґрунтового профілю у процесі заростання. Характер розподілу хімічних елементів у ґрунтовому профілі, незважаючи на їхню значну втрату за період 10–15-річного заростання, за винятком алюмінію, залишається характерним для чорноземів типових – поступове зниження вмісту макро- та мікроелементів у напрямі до материнської породи, тоді як карбонатний профіль (CaCO₃; MgCO₃) має обернений характер із максимумом у материнській породі. На тлі зниження загального вмісту характер розподілу Al у верхній частині ґрунтового профілю стадії заростання сосною помітно відрізняється від характеру розподілу елемента в лучно-степовому угрупованні – лінія

розподілу елемента у процесі заростання є практично дзеркальною щодо первинного лучного угруповання, тобто відбувається інтенсивне виведення Al із верхньої частини ґрунтового горизонту, ймовірно, перш за все, внаслідок деградації дернового горизонту і пов'язаної з ним органічної речовини ґрунту.

Отже, на основі отриманих даних можемо зробити висновок про те, що у процесі заліснення сосною лучно-степового рослинного угруповання вже через 10–15 років спостерігаються значні зміни морфологічних, фізико-хімічних параметрів і вмісту мікро- та макроелементів у ґрунтовому профілі чорноземів заказника “Макітра”. Можна стверджувати, що у процесі заростання сосною і деградації первинного лучно-степового

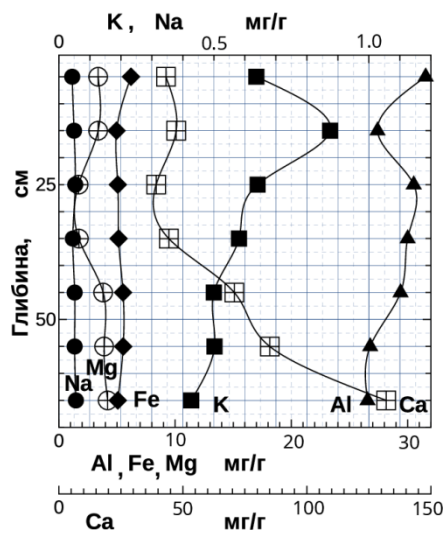


Рис. 1. Вміст макроелементів у ґрунтовому розрізі лучно-степового угруповання

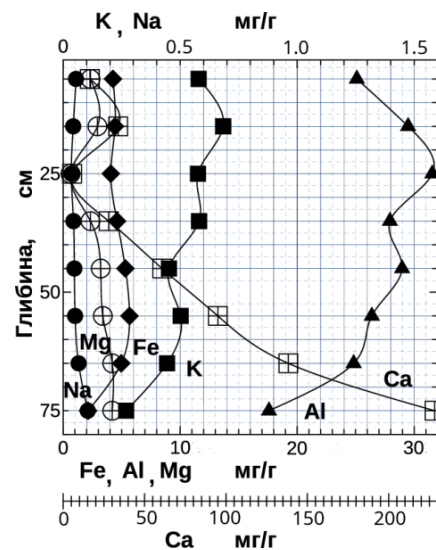


Рис. 2. Вміст макроелементів у ґрунтовому розрізі сосняка

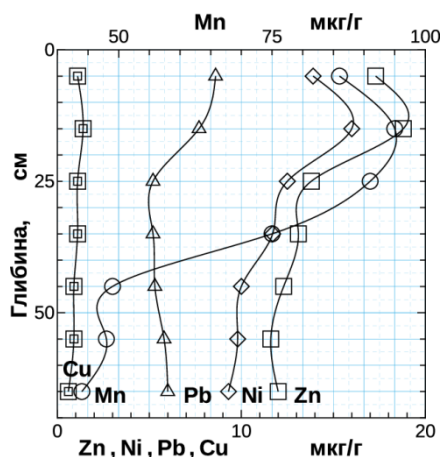


Рис. 3. Вміст мікроелементів у ґрунтовому розрізі лучно-степового угруповання

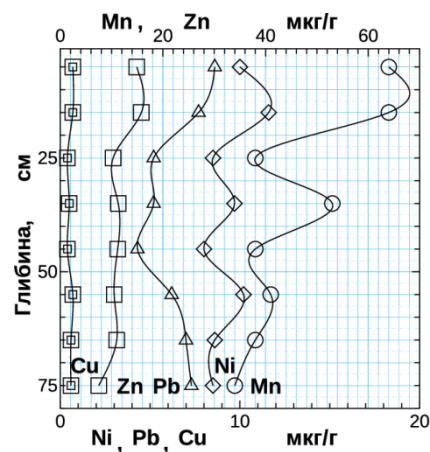


Рис. 4. Вміст мікроелементів у ґрунтовому розрізі сосняка

угруповання відбувається й деградація цілинного чорнозему. Наразі незрозуміло, як далеко зайде процес вилугування цілинного чорнозему і коли зупиниться. Свого часу С. І. Коржинський (1881) запропонував гіпотезу деградації (опідзолювання) чорноземів під дією деревної рослинності, яка змінює трав'яну. Теперішні опідзолені ґрунти (світло-сірі, сірі, темно-сірі, чорноземи) за цією теорією є стадіями послідовного опідзолювання чорноземів [за 6]. Проміжною ланкою між опідзоленими чорноземами і чорноземами типовими є чорноземи вилужнені, для яких, як і для чорноземів типових, характерний гумусово-аккумулятивний (дерновий) процес ґрунтоутворення. Саме такі чорноземи, які розвиваються під деревними угрупованнями Степу і Лісостепу (штучними чи природними), багато дослідників пропонують залучити до особливого підтипу "чорноземи лісові" [2, 9] у системі класифікації чорноземів. Ці ґрунти еволюціонують, незважаючи на певне зниження лінії карбонатів і підкислення профілю, як і чорноземи типові в рамках чорноземного (аккумулятивного) процесу ґрунтоутворення. На час проведення досліджень процеси вилугування, тобто вимивання карбонатів кальцію, втрата органічної речовини і хімічних елементів із ґрунтового профілю значно переважали процеси їхнього накопичення. Такі стрімкі зміни ще не означають, що у процесі розвитку соснового угруповання система не стабілізується та що еволюція чорнозему не відбуватиметься за сценарієм "чорнозему лісового". Але можливий також інший сценарій, коли вилугування продовжиться і коли ґрунтовий профіль набуде ознак опідзолення [19]. Додатковим фактором на користь такого розвитку є власне заростання сосною, яка серед інших деревних видів є найсприятливішим чинником розвитку процесів вилугування [9, 17].

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аналіз площ природно-заповідного фонду України в розрізі адміністративно-територіальних одиниць: інформаційно-аналітичні матеріали. К.: Міністерство енергетики та захисту довкілля України, 2021. 104 с.
2. Белова Н. А., Травлев А. П. Естественные леса и степные почвы: экология, микроморфология, генезис. Днепропетровск: Изд-во Днепропетр. гос. ун-та, 1999. 348 с.
3. Василюк О. В. Про необхідність охорони природних пасовищ у степовій зоні / Проблеми і перспективи розвитку сучасної аграрної науки: матер. міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. Миколаїв: Миколаївська ДСДС ІЗЗ, 2014. 5 с.
4. Гавва Д. В. Агрогенна і постагрогенна еволюція чорноземів типових Лівобережжя Лісостепу України: монографія / за ред. Д. Г. Тихоненка; Харків. нац. аграр. ун-т ім. В. В. Докучаєва. Х.: Майдан, 2016. 218 с.
5. Гавриленко О. Заліснення українського степу – благо чи катастрофа? // Вісн. Київ. ун-ту. Сер. геогр. 2017. Вип. 1 (66). С. 66–70.
6. Денис В. Морфологічні особливості сірих лісових ґрунтів Пасмового Побужжя // Наук. вісн. Східноєвроп. нац. ун-ту ім. Лесі Українки. 2013. С. 9–14.
7. ДСТУ 8345:2015. Якість ґрунту. Методи визначення ємності катіонного обміну. http://internal.khntusg.com.ua/fulltext/PAZK/UCHEBNIKI/DSTU_grunt_kat_obmen_2014.pdf
8. Кагало О. О., Загульський М. М., Зеленчук А. Т., Сичак Н. М. Судинні рослини державного заказника "Ліса гора та гора Сипуха" в Золочівському районі Львівської області // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. 2004. Вип. 6. С. 66–81.
9. Тихоненко Д., Новосад К., Гавва Д. Еволюція чорноземів агрогенного і постагрогенного використання лівобережного лісостепу України // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. геогр. 2013. Вип. 44. С. 356–363.

10. Травлев А. П., Белова Н. А., Балалаев А. К. Экология почвообразования лесных черноземов // Грунтознавство. 2008. Т. 9. № 1–2. С. 19–29.
11. Червона книга України. Рослинний світ / М-во охорони навколиш. природ. середовища України, НАН України; за ред. Я. П. Дідуха. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 900 с.
12. Шеляг-Сосонко Ю. Р., Дідух Я. П., Єрьоменко Л. П., Куковиця Г. С. Карта рослинності г. Лиса (Львівська область) // Укр. ботан. журнал. 1980. Т. 37. № 1. С. 59–64.
13. Шеляг-Сосонко Ю. Р., Жижин М. П., Куковиця Г. С. Степова рослинність Львівської області // Укр. ботан. журнал. 1975. Т. 32. № 5. С. 630–638.
14. Chester R., Hughes M. J. A chemical technique for the separation of ferro-manganese minerals, carbonate minerals and adsorbed trace elements from pelagic sediments // Chemical Geology. 1967. Vol. 2. P. 249–262.
15. Combs S. M., Nathan M. V. Soil Organic Matter. In: Brown, J.R., Ed., Recommended Chemical Soil Test Procedures for the North Central Region, NCR Publication. No. 221, Missouri Agricultural Experiment Station, Columbia, MO, 1998. P. 53–58.
16. Georgiadis A., Daniela S., Jörn B. et al. Optimising the extraction of amorphous silica by NaOH from soils of temperate-humid climate // Soil Research. 2015. Vol. 53. P. 392–400. <https://doi.org/101071/SR14171>.
17. Haluschak P. Laboratory methods of soil analysis. Canada-Manitoba Soil Survey. 2006. P. 3–133.
18. Parnikoza I., Vasiluk O. Ukrainian Steppes: Current State And Prospects For Preservation // Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska Lublin – Polonia. 2011. Vol. LXVI.I. Sectio C. P. 23–37.
19. Sirotiak M., Bartošova L., Blinov L. UV-VIS Spectrophotometric Determinations of Selected Elements in Modelled Aqueous Solutions // J. Envir. Prot. Saf. Educ. Manag. 2014. Vol. 2. N 3. P. 75–87.
20. Vopravil J., Formánek P., Janků J. et al. Early changes in soil organic carbon following afforestation of former agricultural land // Soil & Water Res. 2021. Vol. 16. P. 228–236.

Стаття надійшла до редакції 01.08.22

доопрацьована 20.09.22

прийнята до друку 01.10.22

INFLUENCE OF SPONTANEOUS SILVATIZATION ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF CHERNOZEM OF EXTRAZONAL MEADOW-STEPPE PLANT COMMUNITIES OF BOTANICAL RESERVE “MAKITRA” (NATIONAL NATURE PARK “NORTHERN PODILLIA”, UKRAINE)**V. Kozlovskyy^{1*}, N. Romanyuk², R. Yurechko³**

^{1*}*Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine
e-mail: vkozlovskyy@gmail.com*

²*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine*

³*National Nature Park “Northern Podillia”
2-b, Gagarin St., Pidhirtsi Vil., Zolochiv District, Lviv Region 80660, Ukraine*

Meadow-steppe plant communities of the nature reserve territories of the National Nature Park “Northern Podillia”, in particular, the “Makitra” reserve located outside the steppe zone, as a result of the decrease in economic activity and the effect of the passive protection mode (absolutely reserved regime) of rare plant species populations are under the threat of spontaneous afforestation and may lose their original purpose. The changes that accompany the sylvatization process concern all components of the biogeocenosis. In the process of degradation of the grass phytocenosis, the morphological features and physical and chemical properties of the soil undergo changes too. Soil profiles were taken on the northeastern slope of Makitra Mountain, in the meadow-steppe plant association. We revealed that 12–15 years after the beginning of afforestation with Scots pine, chernozem under the primary meadow-steppe plant association possesses apparent signs of degradation throughout the depth of the profile: (1) degradation of surface organogenic horizons (Hc + Hd); (2) lowering the depth of the carbonate level in the profile by 10–15 cm; (3) loss of organic matter by 30–50 %; (4) reduction of cation exchange capacity by 15–20 %; (5) leaching of CaCO₃ (>50 % from the H horizon) and other macro- (K, Na, Mg, Fe, Al) and trace elements (Cu, Zn, Mn, Ni, Pb) (up to 10–30 %). The intensity of leaching processes at the study time-point remains high, evidenced by the higher content of amorphous silica, aluminum, and water-soluble carbon in the soil at the afforestation stage, compared to virgin chernozem. The obtained results provide basics for predicting the soil development from typical chernozem under virgin meadow-steppe phytocenosis to leached chernozem (forest chernozem according to Travleev (2008)) in the process of overgrowing with Scots pine. In both cases, the soil-forming process is still within the framework of the humus-accumulative process of soil formation. However, taking into account the high intensity of degradation processes detected at the time of the research, there is a possibility of a significant increase in signs of leaching, which will indicate an impact on the development of the soil profile together with the chernozem (accumulative) and podzolic soil-forming processes.

Keywords: spontaneous afforestation, meadow-steppe plant communities, chernozem, succession, soil formation

ФІТОСАНІТАРНИЙ СТАН *ACER TATARICUM* L. В УРБОЦЕНОЗАХ ПРАВОБЕРЕЖНОЇ ЧАСТИНИ М. ДНІПРА

І. Зайцева*, О. Джиган

Дніпровський державний аграрно-економічний університет
вул. С. Єфремова, 25, Дніпро 49600, Україна
e-mail: dicentra@ukr.net

Представлені результати досліджень життєвого стану дерев *Acer tataricum* L. в умовах зелених насаджень промислового міста в період 2019–2021 рр. У м. Дніпрі клен татарський росте невеликими групами або у рядовій посадці в окремих локалітетах (урочище, острівна територія, центральний парк, територія житлового масиву і шкільного закладу). Всього обстежено 112 дерев *A. tataricum*. Життєвий стан більшості з них (75,0 %) оцінено як задовільний. Середні параметри дерев такі: висота рослин – 6 м, вік – 28 років, діаметр штамбу – 10,2 см. Найкращі середні показники довжини річного приросту мають дерева *A. tataricum* із парку ім. Л. Глоби – 5,8 мм, і урочища Тунельна Балка – 5,7 мм. Діаметр річного приросту достовірно не змінюється і в середньому для всіх дослідних дерев дорівнює 2,3 мм.

Обстеження листків *A. tataricum* для аналізу поширення, рівня шкодочинності й встановлення видового складу філофагів і хвороб листків проводили один раз на декаду. Всього було зібрано 3042 листки. Загальний рівень ушкодження листя філофагами становив 48,6 %. Найбільше було пошкоджених листків із дерев, що ростуть у центральному парку (74,5 %) і урочищі Тунельна Балка (65,4 %), найменше – на острові Монастирський (26,5 %). Серед типів пошкоджень основними були: зміна забарвлення листків унаслідок живлення сисних комах (50,5 % від усіх пошкоджених листків), обгризання листків гризучими комахами з відкритим способом життя (40,3 %); мінування траплялось у 0,4 % випадків, галоутворення – у 0,5 %, відповідно.

За період досліджень виявлено тільки дві хвороби листків. Специфічна хвороба клену татарського, індукована грибом *Taphrina polyspora* (Sorokin) Johanson, 1886, уражує рослини на всіх дослідних ділянках, у деяких випадках рівень пошкодження не тільки листків, а і плодів *A. tataricum* сягав 100 % (ж/м Покровський, о. Монастирський). Борошнисту росу клену виявлено тільки на листках *A. tataricum* у рядовій посадці на території шкільного закладу. Встановлено, що до складу комплексу комах – філофагів і антофагів *A. tataricum*, який росте у зелених насадженнях правобережної частини м. Дніпра, входить 28 видів із 23 родів 15 родин 5 рядів. При цьому частка Hemiptera становить 42,8 %, Lepidoptera – 28,6 %, Coleoptera – 21,4 %, Thysanoptera і Diptera – по 3,6 %.

Ключові слова: міські зелені насадження, клен татарський, життєвий стан, хвороби листків, філофаги

Видовий склад деревних рослин у складі міських насаджень має складатись із максимально стійких порід [1]. Клен татарський (*Acer tataricum* L., Sapindaceae Juss.) [23] є аборигенним видом для Степової зони Придніпров'я, найчастіше займає нижній ярус байрачних лісів. Порівняно з кленом гостролистим і польовим, *A. tataricum* має більшу посухостійкість і солевитривалість [2, 4, 12]. *A. tataricum* витримує посуху як фізичну, так і фізіологічну, тобто є стійким як на сухих ґрунтах, так і на засолених [6, 12, 14]. Клен татарський може використовуватися на змитих, кам'янисто-щебених [11, 15], засолених ґрунтах, тобто там, де інші види неефективні через недостатню стійкість [12]. *A. tataricum* – морозостійкий

вид, заморозками не пошкоджується, добре переносить суворі зими з морозами $-30...-40^{\circ}\text{C}$ [13, 17]. За своїми біологічними властивостями найбільш придатний для лісорозведення на ярах і балках, у сухих степах і пустелях [2]. Широко застосовується в захисних насадженнях у степовій зоні [19]. Клен татарський – тіньовитривала порода. У степу добре відновлюється поростом, відводками і самосівом, які успішно ростуть під пологом навіть густих насаджень. За рахунок поростового відновлення *A. tataricum* живе до 100 років [14].

У системі озеленення населених місць цей вид клену рекомендується для створення живоплотів, узлісь, групових і одиничних посадок у парках. Будучи достатньо газостійкою породою, клен татарський має протистостійкі властивості летючих фракцій фітонцидів. Посадки *A. tataricum* на селітебних територіях сприяють санітарному оздоровленню урбанізованого середовища.

У міських насадженнях на кленах живиться значна кількість видів філофагів [8, 18]. Несприятливі абіотичні фактори техногенного середовища суттєво знижують біологічну стійкість рослин до біотичних факторів, зокрема, й до шкідників, це призводить до зниження або втрати естетичної привабливості, санітарно-гігієнічної цінності й довговічності зелених насаджень населених міст.

Мета роботи – інвентаризація й аналіз фітосанітарного стану дерев *A. tataricum* L. у зелених насадженнях правобережної частини м. Дніпра; дослідження комплексу членистоногих – філофагів клену татарського, й оцінка рівня їхньої шкодочинності.

Матеріали та методи

Дослідження проводили протягом вегетаційних періодів 2019–2021 рр. Об'єктом дослідження слугували 112 модельних дерев *A. tataricum* (далі – МД), які ростуть локальними групами або у рядовій посадці в різних районах правобережної частини м. Дніпра (табл. 1, рис. 1).

Таблиця 1

Розташування стаціонарних дослідних ділянок (СДД) у правобережній частині м. Дніпра для проведення досліджень і збору матеріалу

№ СДД	Назва СДД	Координати розташування МД <i>A. tataricum</i>
1	Урочище Тунельна Балка	48°25'07.3»N 35°02'40.9»E
2	Парк ім. Л. Глоби (центральна частина міста)	48°24'52.8»N 35°01'49.9»E
3	Монастирський острів (Нагірна частина міста)	48°28'11.9»N 35°01'48.2»E
4	Прибудинкова територія на ж/м Покровський (промислова частина міста)	48°27'59.7»N 35°04'20.6»E
		48°28'46.9»N 34°55'31.3»E
		48°28'50.1»N 34°55'25.8»E
		48°28'51.8»N 34°55'26.4»E
		48°28'49.8»N 34°55'09.6»E
5	Територія КЗО «СЗШ № 132» ДМР*	48°28'44.7»N 34°54'20.7»E

Примітка: * – Комунальний заклад освіти «Середня загальноосвітня школа № 132» Дніпровської міської ради (далі – СЗШ № 132)

На визначених ділянках маршрутним методом було виконано інвентаризацію МД *A. tataricum* згідно з «Інструкцією з інвентаризації зелених насаджень...» [7]. У визначеного модельного дерева вимірювали висоту (висотоміром SUUNTO PM-5/1520), діаметр стовбура на висоті 1,3 м (мірною вилкою) і встановлювали приблизний вік. Життєвий стан МД *A. tataricum* оцінювали за шкалою, розробленою Ф. М. Левонимом, із урахуванням втрати листками дерев фотосинтезуючої поверхні [9]. Морфометричні показники річних пагонів вимірювали за загальноприйнятими методиками [3].

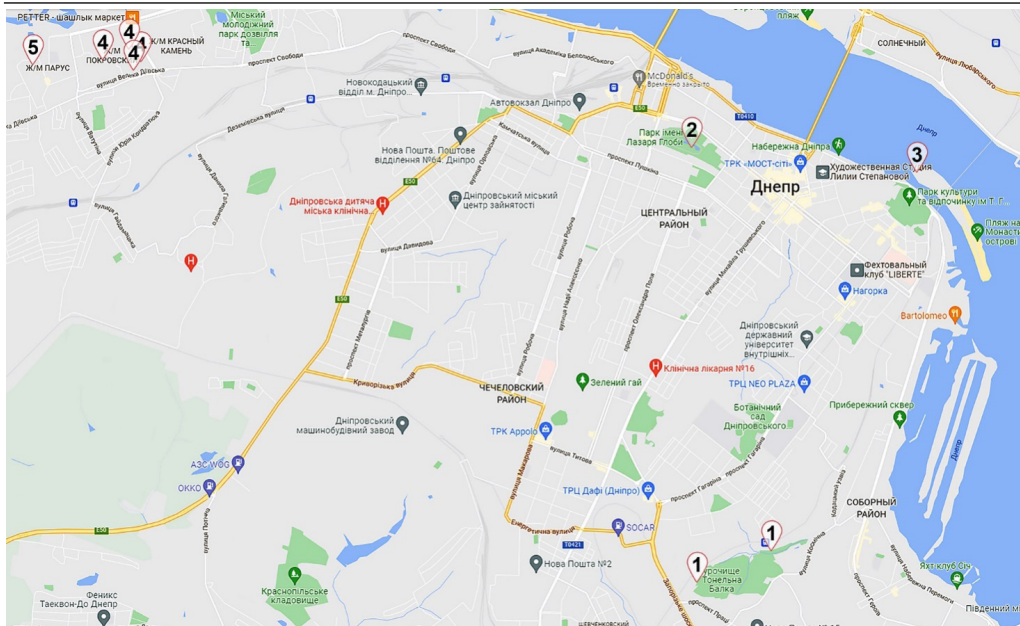


Рис. 1. Картосхема розташування СДД у правобережній частині м. Дніпра

Обстеження листків *A. tataricum* для аналізу поширення, рівня шкодочинності й встановлення видового складу філофагів і хвороб листа проводили один раз на декаду. Під час збору ентомологічного матеріалу застосовували комплекс методів еколого-фауністичних досліджень комах-фітофагів [5].

Зібраний матеріал вивчали у лабораторних умовах із застосуванням тринокулярного мікроскопа XSM-40 Біомед. Ідентифікацію таксономічної приналежності проводили за загальновизнаними джерелами [5].

Фотографії зроблено автором за допомогою планшета Lenovo Tab P11 4/128 LTE (ZA7S0012UA) з використанням спеціальних лінз для макрозйомки.

Результати і їхнє обговорення

За результатами інвентаризації життєвий стан більшості досліджуваних дерев *A. tataricum* (75,0 %) оцінено в 1–2 бали; це дерева, що загалом відповідають нормам і мають 20–25 % недіючої листової поверхні. Найкращий життєвий стан (0 балів) має деревосоли́тер, що росте біля стіни житлового будинку на ж/м Покровський, хороший життєвий стан (1 бал) мають деякі клени в Тунельній Балці і на Монастирському острові. Найгіршим життєвим станом (4 бали) відрізняються 2 МД в урочищі Тунельна Балка. Це старі дерева з пригніченим ростом, приріст поточного року відсутній, мають близько 75–80 % недіючої листової поверхні; є багатостовбуровими, частину стовбурів спіяно.

Висота рослин змінюється від 2,0 м до 11,5 м (Тунельна Балка); в середньому – 6 м. Вік рослин коливається від 17 до 58 років і в середньому становить 28 років. Наймолодші дерева ростуть у рядовій посадці на території СЗШ № 132 (середній показник – 17 років); найстарші – біля води на о. Монастирський (47 років, відповідно). Діаметр штамбу варіює від 2,8 см (СЗШ № 132) до 30,9 см (парк ім. Л. Глоби); в середньому – 10,2 см.

Найкращі середні показники довжини річного приросту мають дерева *A. tataricum* із парку ім. Л. Глоби – 5,8 мм, і урочища Тунельна Балка – 5,7 мм. На інших СДД довжина

річного пагону майже однакова й у середньому становить 4,6 мм. Діаметр річного приросту достовірно не змінюється і в середньому для всіх дослідних дерев дорівнює 2,3 мм.

Усі МД *A. tataricum* ростуть переважно у складі груп, часто змішаних із іншими листяними породами або в рядовій посадці (переважно молоді дерева). Дерева-солітери використовували як модельні тільки в незначній кількості на ж/м Покровський.

Усього досліджено 3042 листки *A. tataricum*, зібрані протягом вегетаційних періодів 2019–2021 рр. на п'яти визначених СДД. Загальний рівень ушкодження листків філофагами становив 48,6 %. Розподіл пошкоджень листків *A. tataricum* за окремими СДД представлено на рис. 2.



Рис. 2. Рівень пошкодження листків *A. tataricum* на окремих СДД у правобережній частині м. Дніпра

Серед типів пошкоджень домінували зміна забарвлення листків унаслідок живлення сисних комах (листоблішки кленової, попелиць, цикадок, клопів) – 50,5 %, щодо всіх пошкоджених листків, і обгризання листків гризучими комахами з відкритим способом життя (гусеницями листовійок, совок, листовими довгоносіками та ін.) – 40,3 %, відповідно. Найменше траплялися мінування (0,4 %) і галоутворення (0,5 %, відповідно).

Рівень ушкодження листків клену татарського виявленими за період дослідження хворобами відображений на рис. 3.



Рис. 3. Рівень ураження листків *A. tataricum* збудниками хвороб: *T. pol.* – чорна плямистість клену татарського (*Taphrina polyspora* (Sorokin) Johanson, 1886); *U. ac.* – борошниста роса клену (*Uncinula aceris* (DC.) Sacc., 1882) в урбоценозах правобережної частини м. Дніпра

Із наведених даних видно, що специфічна хвороба клену татарського, індукована грибом *Taphrina polyspora*, уражує рослини на всіх СДД, у деяких випадках рівень ушкодження хворобою не тільки листків, а і плодів *A. tataricum* досягав 100 % (ж/м Покровський, о. Монастирський) (рис. 4). Водночас борошнисту росу клену виявлено тільки на листках *A. tataricum* у рядовій посадці на території СЗШ № 132 (рис. 5).



А



Б

Рис. 4. Ураження листків (А) (16.05.2021) і плодів (Б) (08.06.2021) клену татарського грибом *T. polyspora*



Рис. 5. Борошниста роса клену на листках *A. tataricum* (21.10.2020)

За визначений період дослідження встановлено комплекс видів комах – шкідників листків і квіток клену татарського (табл. 2).

Таким чином, до складу комплексу комах – філофагів і антофагів *A. tataricum*, що росте у зелених насадженнях правобережної частини м. Дніпра, входить 28 видів із 23 родів 15 родин 5 рядів. При цьому частка Hemiptera становить 42,8 %, Lepidoptera – 28,6 %, Coleoptera – 21,4 %, Thysanoptera і Diptera – по 3,6 % (рис. 6).

Таксономічну структуру наведено відповідно до електронного каталогу «Fauna Europa» [16].

Таблиця 2

Видовий склад комах – філофагів і антофагів *A. tataricum*,
виявлених у насадженнях правобережної частини м. Дніпра

№ з/п	Вид фітофага	Характерне пошкодження*	Частота трапляння**
Ряд Напівжорсткокрилі (Hemiptera)			
Родина Несправжньощитівки (<i>Coccidae</i> Fallén, 1814)			
1	Несправжньощитівка акацієва (<i>Parthenolecanium corni</i> Bouche, 1844)	Зз на листках і в пазухах молодих бруньок – «бродяжки»	++
Родина Цикадки (<i>Cicadellidae</i> Latreille, 1802)			
2	Цикадка (<i>Zyginella pulchra</i> Löw, 1885) [21]	Зз	+
Родина Листоблішки справжні, або Трав'яні блохи (<i>Psyllidae</i> Latreille, 1807)			
3	Листоблішка кленова (<i>Rhinocola aceris</i> Linnaeus, 1758)	Зз	+++
Родина Попелиці справжні (<i>Aphididae</i> Latreille, 1802)			
4	Попелиця кленова жилкова (<i>Periphyllus testudinaceus</i> Fernie, 1852)	Зз	++
5	Перифіл строкатий (<i>Periphyllus minutus</i> Shap., 1952)	Зз	++
6	Попелиця щетинкова довговуса кленова (<i>Periphyllus aceris</i> Linnaeus, 1761)	Зз	++
7	Попелиця кленова поодинок, або прикрашена (<i>Drepanosiphum acerinum</i> Walker, 1848)	Зз	++
8	Попелиця велика яворова (<i>Drepanosiphum platanoidis</i> Schrank, 1801)	Зз	+++
Родина Сліпняки (<i>Miridae</i> Hahn, 1831)			
9	Клоп багатоїдний (<i>Calocoris biclavatus</i> Herrich-Schäffer, 1835)	П	+
10	Сліпняк звичайний (<i>Lygocoris (=Neolygus) viridis</i> Fallen, 1807)	П	++
11	Клостеротомус жовтоплямистий (<i>Closterotomus fulvotumidus</i> De Geer, 1773)	П	++
Родина Щитники справжні (<i>Pentatomidae</i> Leach, 1815)			
12	Щитник деревний зелений (<i>Palomena prasina</i> Linnaeus, 1761)	П	++
Ряд Бахромчатокрылі, або Трипси (Thysanoptera)			
Родина Трипси справжні (<i>Thripidae</i> Stevens, 1829)			
13	Трипс грушевий (<i>Taeniothrips inconsequens</i> Uzel, 1895) [20]	Зз в квітках	+
Ряд Лускокрилі, або Метелики (Lepidoptera)			
Родина Листовійки (<i>Tortricidae</i> Latreille, 1803)			
14	Листовійка глодова (<i>Archips crataegana</i> Hübner, 1799)	Скр, О	++
15	Листовійка кленова (<i>Acleris forsskaleana</i> Linnaeus, 1758)	Скр, О	++
16	Листовійка свинцево-смугаста (<i>Ptycholoma lecheana</i> Linnaeus, 1758)	Скр, О	+
17	Листовійка строкато-золотиста (<i>Archips xylosteana</i> Linnaeus, 1758)	Скр, О	+

Закінчення табл. 2

Родина Совки (<i>Noctuidae</i> Latreille, 1809)		
18	Совка грушева (<i>Cosmia</i> (= <i>Calymnia</i>) <i>trapezina</i> Linnaeus, 1758)	О +
19	Совка капустяна (<i>Mamestra brassicae</i> Linnaeus, 1758)	О ++
Родина Молі-крихітки (<i>Nepticulidae</i> Stainton, 1854)		
20	Міль-крихітка кленова (<i>Stigmella</i> (= <i>Nepticula</i>) <i>aceris</i> Frey, 1857)	Мін ++
Родина Молі-строкатки (<i>Gracillariidae</i> Stainton, 1854 = <i>Lithocolletis</i> Hubner, 1825)		
21	Міль-строкатка (<i>Caloptilia rufipennella</i> Hubner, 1796) [22]	Мін, Скр ++
Ряд Твердокрилі, або Жуки (<i>Coleoptera</i>)		
Родина Довгоносики (<i>Curculionidae</i> Latreille, 1802)		
22	Довгоносик сережковий (<i>Dorytomus tremulae</i> Fabricius, 1787) [10]	Гоф +
23	Довгоносик листковий довгастий (<i>Phyllobius oblongus</i> Linnaeus, 1758)	О +++
24	Довгоносик кропивний листковий (<i>Phyllobius urticae</i> De Geer, 1775)	О +
25	Довгоносик шовковистий глянсовий (<i>Polydrusus sericeus</i> Schaller, 1783)	О +
Родина Листоїди (<i>Chrysomelidae</i> Latreille, 1802)		
26	Прихованоглав губатий (<i>Cryptocephalus labiatus</i> Linnaeus, 1761)	О +
Родина Кожеїди (<i>Curculionidae</i> Latreille, 1802)		
27	Шкіроїд строкатий, або музейний (<i>Anthrenus picturatus</i> Solskij, 1876)	О +
Ряд Двокрилі, або Мухи (<i>Diptera</i>)		
Родина Галиці (<i>Cecidomyiidae</i> Rye, 1874)		
28	Галиця (<i>Acericecis szepligetii</i> Kieffer, 1901)	Гал +
монофаг <i>A. tataricum</i>		

Примітки: * Розподіл пошкоджень за типами: О – пошкодження гризучими комахами з відкритим способом життя: грубе об'їдання (> 50 % площі листка), крайове обгризання і дірчасте виїдання тканини листка; Скр – скручування листка; Мін – мінування; Гал – галоутворення; Зз – зміна забарвлення внаслідок живлення сисних комах; Гоф – гофрування й ін. деформації; П – проколи; ** – «+++» – висока чисельність; «++» – середня чисельність; «+» – поодинокі випадки

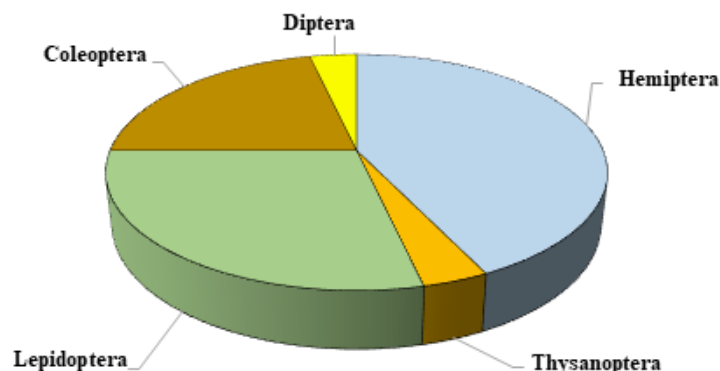
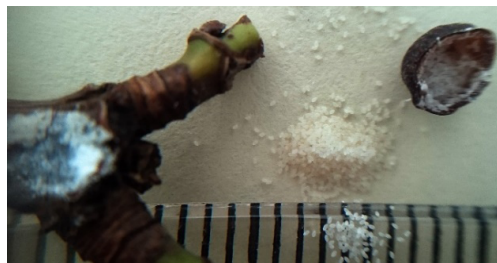
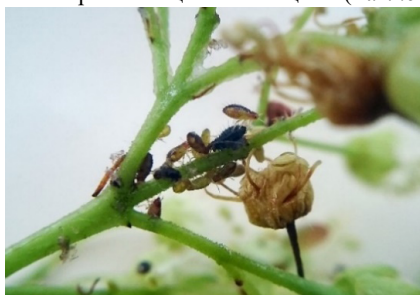


Рис. 6. Таксономічна структура комах-філофагів і антофагів *A. tataricum*, зареєстрованих у насадженнях правобережної частини м. Дніпра

Результати фотофіксації деяких виявлених комах – шкідників *A. tataricum* і спричинюваних ними пошкоджень представлено на рис. 7.



Несправжньоощитівка акацієва (*Parthenolecanium corni*) і яйця під щитком (07.05.2019)



А

Б

Колонія в суцвітті клену татарського (А) і німфа (Б)
попелиці кленової жилкової – *Periphyllus testudinaceus* (19.05.2019)



Імаго листоблішки кленової – *Rhinocola aceris* (15.05.2019)



Оранжеві личинки *Rh. aceris*, що вийшли з
яєць, висмоктують сік із брунькових лусочок
A. tataricum (14.04.2021)



Німфи *Rh. aceris* живляться соком листка
A. tataricum (22.04.2019)



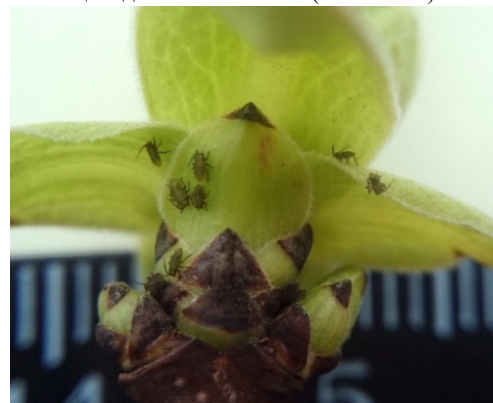
Цикадка – *Zyginella pulchra* (15.05.2021)



Зміна забарвлення листків унаслідок живлення
цикадок – *Cicadellidae* (03.06.2019)



Молода самиця попелиці великої яворової
(*Drepanosiphum platanoidis*), що утворилась із
німфи IV віку (27.05.2019)



Молоді німфи *D. platanoidis* (20.04.2021)



Личинки попелиці щетинкової довговусої
кленової – *Periphyllus aceris* (08.06.2019)



Личинки галиці (*Acericecis szepligetii*)
на молодому плоді *A. tataricum* (16.05.2019)



Гусениця листовійки кленової –
Acleris forsskaeana (07.05.2019)



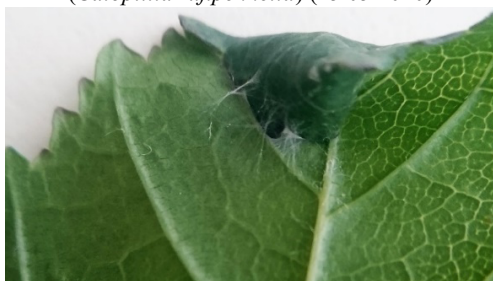
Пошкодження листків *A. tataricum*
листовійками (15.05.2021)



Імаго молі-строкатки
(*Caloptilia rufipennella*) (25.05.2020)



Міна, утворена гусеницею молодшого віку *C. rufipennella* (19.05.2020)



Згортання краю листка гусеницею
C. rufipennella (05.06.2021)



Міни молі-крихітки кленової (*Stigmella aceris*) на
листяку *A. tataricum* (08.06.2021)



Довгоносик сережковий – *Dorytomus tremulae*
(16.05.2019)



Шкіроїд строкатий, або музейний (*Anthrenus picturatus*), знайдений під час живлення у квітах
A. tataricum (19.05.2019)

Рис. 7. Комахи – філофаги й антофаги *A. tataricum*, виявлені в зелених насадженнях правобережної частини м. Дніпра

Підводячи підсумки, можна зазначити, що клен татарський в урбоценозах м. Дніпра трапляється головним чином у вигляді локальних груп. Фітосанітарний стан дерев і їхні декоративно-естетичні властивості у межах норми, за винятком окремих найстаріших екземплярів. Найкращий життєвий стан мають дерева в центральному парку міста і в урочищі Тунельна Балка. Зниження декоративно-естетичної привабливості дерев *A. tataricum* упродовж вегетаційного періоду обумовлено, в першу чергу, чорною плямистістю клену татарського (збудник *Taphrina polyspora* (Sorokin) Johanson, 1886) а також живленням сисних комах.

Пропонується подальше більш детальне дослідження комплексу природних ентомофагів визначених видів шкідників і хвороб для здійснення біологічного контролю за лісовими культурами, що ростуть в умовах промислового міста.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баланчук О. В., Петречка С. П., Цветкова М. Н. и др. Оценка устойчивости лесных биогеоценозов степной зоны // Уч. зап. Таврич. нац. ун-та. 2001. Т. 14 (53). № 1. 5 с.
2. Бельгард А. Л. Степное лесоведение. М.: Лесная пром-сть, 1971. 321 с.
3. Григора І. М., Якубенко Б. Є. Польовий практикум з ботаніки. К.: Арістей, 2005. 340 с.
4. Екологія лісів: навч. посіб. Умань: ВПЦ «Візаві», 2019. 222 с.
5. Зайцева І. А. Дендробіонтні філофаги *Tilia* L. у насадженнях м. Дніпро: весняна фенологічна група // Питання біоіндикації та екології / ЗНУ. 2018. Вип. 23. № 1. С. 146–168. http://nbuv.gov.ua/UJRN/pbte_2018_23_1_14
6. Зайцева І. О., Голикова М. М. Особливості водного режиму кленів в умовах гідротермічного стресу та техногенного навантаження // Питання біоіндикації та екології / ЗНУ. 2010. Вип. 15. № 1. С. 53–63.
7. Інструкція з інвентаризації зелених насаджень в населених пунктах України: зі змінами згідно Наказу Міністерства регіонального розвитку, будівництва та житлово-комунального господарства № 134 (з0544-14) від 12.05.2014. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0182-02#Text>.
8. Кардаш Є. С., Соколова І. М. Структура комплексів комах-філофагів листяних насаджень м. Харків // Біорізноманіття, екологія та експериментальна біологія. 2020. 22 (1). С. 68–81. DOI: <https://doi.org/10.34142/2708-5848.2020.22.1.07>.
9. Левон Ф. М. Зелені насадження в антропогенному трансформованому середовищі: монографія. К.: Вид-во ННЦ ІАЕ, 2008. 364 с.
10. Назаренко В. Ю. Жуки-долгоносики рода *Dorytomus* Germar, 1817 (Coleoptera, Curculionidae) прибрежных зон водоемов г. Киева // Озера й штучні водойми України: сучасний стан і антропогенні зміни: матер. І Міжнар. наук.-практ. конф. (22–24 трав. 2008 р., Луцьк). Луцьк: Вежа, 2008. С. 339–341.
11. Петров М. Ф. Про північну межу природного поширення *Acer tataricum* L. (Aceraceae) на Київському поліссі // Укр. ботан. журнал. 2011. Т. 68, № 2. С. 227–231.
12. Поворотня М. М. Еколого-фізіологічний аналіз стійкості видів роду *Acer* у техногенних умовах теплових електростанцій Дніпропетровщини: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Дніпропетровськ, 2016. 250 с.
13. Собченко В. Ф. Морозо- та зимостійкість деяких деревних рослин // Наук. вісн. НУБіП України: зб. наук. праць. 2009. Вип. 135. С. 16–20.
14. Філімоніхіна О. Г., Лихолат Ю. В. Екологічні принципи формування деревних насаджень для біодренажу в умовах міста на підтоплюваних територіях // Питання степового лісознавства та лісової рекультивації земель. 2013. Вип. 42. С. 64–72.

15. Antonik V. I., Babets Ye. K., Antonik I. P. et al. Topical problems of reclamation of technogenically disturbed lands of Kryvbas // Traditions and innovations of resource-saving technologies in mineral mining and processing : multi-authored monograph. 2019. Romania, Petroșani : UNIVERSITAS Publishing. P. 212–228 (424 p.).
16. De Jong Y. S. D. M. (ed.). Fauna Europaea. version 2.6.2. 2000–2014. <http://www.faunaeur.org>.
17. Fern K. Temperate Plants Database. 2022. <https://temperate.theferns.info/plant/Acer+tataricum>
18. Frank S. D., Klingeman W. E., White S. A. et al. Biology, injury, and management of maple tree pests in nurseries and urban landscapes // J. Integrated Pest Management. 2013. Vol. 4 (1). P. 1–14. DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/IPM12007>
19. Kovalenko A., Sakal O., Tretiak N. et al. Field shelterbelts: current state, land use issues and perspective in Ukraine // Scientific Papers. Series E. Land Reclamation, Earth Observation & Surveying, Environmental Engineering. 2021. Vol. X. C. 229–240.
20. Mound L. A., Collins D. W., Hastings A. Thysanoptera Britannica et Hibernica – Thrips of the British Isles. 2018. https://keys.lucidcentral.org/keys/v3/british_thrips/index.html
21. Radjabi Gh., Mirzayans H. First report of *Zyginella pulchra* Low as a harmful insect on deciduous fruit trees in Iran // Entom et Phytopath Appliquees. 1989. Vol. 56 (1–2). C. 101–103.
22. Shaw M. R. Caloptilia rufipennella (Huebner) (Lep.: Gracillariidae) in the eastern highlands of Scotland // Entomologist's Record and Journal of Variation. 1984. Vol. 96. P. 57–57.
23. UkrBIN : Ukrainian Biodiversity Information Network. Національна мережа інформації з біорізноманіття. 2007–2021. <http://www.ukrbn.com>

Стаття надійшла до редакції 03.08.22

доопрацьована 04.10.22

прийнята до друку 09.10.22

PHYTOSANITARY STATE OF *ACER TATARICUM* L. IN URBOCENOSES OF THE DNIPRO CITY RIGHT-BANK

I. Zaitseva, O. Dzhygan

Dnipro State Agrarian and Economic University
25, S. Efremov St., Dnipro 49600, Ukraine
e-mail: dicentra@ukr.net

The research results of the vital state of *Acer tataricum* L. trees in the green areas of an industrial city in the period 2019–2021 are presented. In the city of Dnipro, Tatar maple grows in small groups or in a row planting in separate localities (stow, island, central park, residential and school area).

A total of 112 *A. tataricum* trees were examined. The vital condition of most of them (75.0 %) was assessed as acceptable. The average parameters of the trees are as follows: plant height – 6 m, age – 28 years, trunk diameter – 10.2 cm. The best average indicators of the length of the annual growth have the trees of *A. tataricum* from the Lazar Globa Park – 5.8 mm, and «Tunelna Balka» stow – 5.7 mm. The diameter of the annual increase does not change reliably and is 2.3 mm on average for all researched trees.

Examination of the leaves of *A. tataricum* to analyze the distribution, level of harmfulness and establish the phyllophages species composition and leaf diseases was carried out once a decade. A total of 3042 leaves were collected. The overall level of leaf damage by

phyllophages was 48.6 %. The most damaged leaves were from trees growing in the central park (74.5 %) and the «Tunelna Balka» stow (65.4 %), the least – on Monastyrskyi Island (26.5 %).

Among the types of damage, the main ones were: change in color of leaves due to feeding by sucking insects (50.5 % of all damaged leaves), leaves gnawing by chewing insects with an open lifestyle (40.3 %); leaf mining in 0.4 % of cases, gall-formation – in 0.5 %, respectively.

During the research period, only two leaf diseases were detected. The specific disease of the Tatar maple, induced by the fungus *Taphrina polyspora* (Sorokin) Johanson, 1886, affects plants in all experimental plots, in some cases the level of damage not only to the leaves, but also to the *A. tataricum* fruits of reached 100 % (Pokrovsky residential area, Monastyrskyi Island). Maple powdery mildew was detected only on the leaves of *A. tataricum* in a row planting on the school territory.

It was established that the complex of insects – phyllophagous and anthrophagous of Tatar maple, which grows in the green areas of the Dnipro right-bank, includes 28 species from 23 genera 15 families 5 orders. The share of Hemiptera is 42.8 %, Lepidoptera – 28.6 %, Coleoptera – 21.4 %, Thysanoptera and Diptera – 3.6 % each.

Keywords: urban green plantations, Tatar maple, vital condition, leaf diseases, phyllophagous

КЛЮЧОВІ ВИДИ ТВАРИН В ЕКОСИСТЕМАХ ЗАХОДУ УКРАЇНИ

Б. Андрійшин¹, Н. Баландюх¹, О. Гнати́на¹, І. Дикий¹, О. Іванець¹, І. Колтун¹,
К. Лесів¹, В. Леснік¹, М. Марців¹, К. Назарук¹, О. Решети́ло^{1,2}, І. Скірпан¹,
І. Хамар¹, І. Царик^{1,2}, Й. Царик¹, І. Шидловський¹

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

² Інститут екології Карпат НАН України
вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна
e-mail: zoo.dep.biology@lnu.edu.ua

Розглянуто актуальність вивчення ключових видів, класифікацію яких обговорювали у статті Й. В. Царика, О. С. Решети́ла й І. Й. Царик, опублікованій у журналі «Біологічні Студії» (Biol. Stud. 2019: 13(1); 161–168). Основну увагу приділено екологічним ключовим видам, але проаналізовано й інші (з охоронним, соціальним значенням тощо). На основі натурних досліджень нами запропонована низка видів як кандидатів до ключових видів для різних екосистем. Так, у лісових екосистемах пропонуємо як ключові види виділяти комах-фітофагів (насамперед це листоїд фіолетовий вільховий *Agelastica alni*, лінеїда вільхова *Linaeidea aenea* та вогнівка кропиво́ва велика *Patania ruralis*), а загалом у наземних екосистемах – таких комах-запилювачів як джміль польовий *Bombus pascuorum* і джміль земляний *B. terrestris* (без урахування бджоли медоносно́ї *Apis mellifera*) і мурашок (*Formica* – для лісових екосистем, а *Lasius*, *Myrmica* і *Tetramorium* – для чагарниково-лучних). Це ж стосується й деяких представників амфібій: ропуха сіра *Bufo bufo*, жаба трав'я́на *Rana temporaria* і жаба їстівна *Pelophylax esculentus*. Серед птахів на роль ключових видів претендують сойка *Garrulus glandarius*, синиця велика *Parus major* і дятли, зокрема, дятел звичайний *Dendrocopos major*.

У водних екосистемах ключовим видом може бути видра річкова *Lutra lutra*. На особливу увагу як ключовий «вид» заслуговує зоопланктон як угруповання загалом. Серед прісноводних моллюсків на роль ключового виду претендує ставковик великий *Lymnaea stagnalis*. Серед риб ключовими видами можуть бути представники родів *Barbatula*, *Cobitis*, *Sabanejewia*, *Misgurnus*, із круглоротих – *Eudontomyzon*.

У наземно-водних екосистемах ключовими видами ми би вважали бобра звичайного *Castor fiber*, видру річкову *L. lutra*, лелеку білого *Ciconia ciconia*, очеретянок тощо. Представлені у цій статті дані про виділені ключові види потребують подальшого вивчення для встановлення їхньої популяційної та консорційної організації, а також функціонального значення у забезпеченні стійкості і стабільності екосистем у мінливих умовах середовища.

Ключові слова: ключові види, лісові, водні, наземно-водні екосистеми, комахи, амфібії, птахи, зоопланктон, моллюски, ссавці

У 2019 р. в журналі «Біологічні студії / Studia biologica» (Biol. Stud. 2019: 13(1); 161–168 • DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.1301.590>) нами опублікована стаття Й. В. Царик, О. С. Решети́ло, І. Й. Царик «Ключові види як осередки формування біорізноманіття» [51]. У цій статті обґрунтовано концепцію щодо вивчення ключових видів як детермінантів консорцій [50], котра дає змогу повніше вивчити фауністичне різноманіття в екосистемах як складову частину загального біорізноманіття, а також охарактеризувати їхню роль у функціонуванні екосистем, зокрема, в аспекті їхньої середовищевірної діяльності.

Звернуто увагу також і на те, що трактувань поняття, що таке ключовий вид, може бути багато, залежно від мети дослідження: екологічне, охоронне, економічне, соціальне та ін. Так, екологічний ключовий вид забезпечує перебіг важливих процесів в екосистемах (наприклад, редуценти, хижаки, запилювачі рослин), завдяки чому досягається відповідне видове різноманіття, цілісність екосистеми та її індикаторне значення. Охоронний належить до переліку локальних, регіональних, національних або міждержавних охоронних списків і потребує збереження, економічний має комерційну цінність, соціальний – вид, який має культурне значення (священне дерево, тварина тощо). Нашими дослідженнями охоплено екологічні та певною мірою охоронні ключові види.

Необхідно звернути увагу також на те, що коли ми досліджуємо ключовий вид, то фактично маємо справу з популяцією чи сукупністю популяцій. У даному разі під терміном популяція розуміємо групу особин одного виду, яка заселяє певний простір і має здатність до тривалого (кілька поколінь) самовідновлення (природно-історична популяція) [7, 26]. Якщо група особин не має цих рис, то вона належить до груп особин популяційного рангу [56]. Тому під час аналізу ключових видів доцільно звернути увагу на статус групи особин.

Мета наших досліджень на даному етапі – виявити ймовірні ключові види у деяких наземних, водних та водно-болотних екосистемах заходу України.

Матеріали та методи

Дослідженнями було охоплено лісові, лучні, водно-болотні та водні екосистеми природних заповідників «Розточчя» й Рівненського, природних національних парків «Шацький» і «Прип'ять-Стохід» та околиць міста Львова. Характеристику цих природоохоронних територій можна знайти в багатьох публікаціях [2, 5, 40, 45, 48, 55].

Дослідження проводили протягом 2017–2021 рр. Відбір дослідного матеріалу здійснювали згідно з загальноприйнятими методами зоологічних досліджень, відповідно для кожної з груп безхребетних чи хребетних тварин.

Для обліку та встановлення видового складу фітофагів здійснювали збір матеріалу за допомогою ентомологічного сачка, просіювання сухого листя, моху через ентомологічне сито, застосовували ловчі циліндри, різноманітні пастки (пастка Барбера, клейкі стрічки) та феромонні приманки, а також струшування комах на полотно (мешканці верхніх ярусів) з подальшою фіксацією зібраного матеріалу та визначенням таксономічної приналежності за допомогою визначників. Наявність короїдів встановлювали за смоляними ходами (лійками) на стовбурі дерева [28].

Кількісну оцінку видового складу фітофагів обчислювали за формулою: $V=k/n$, де k – сума особин одного виду у пробах, n – кількість проб. Ще одним важливим показником є визначення домінуючого виду для кожної дослідної ділянки: $D=100 \cdot k/K$, де k – кількість виявлених видів на території, K – кількість особин одного виду [13].

Збір перетинчастокрилих комах здійснювали маршрутним методом на трансектах [81], також проводили вибіркового лов бджолиних за допомогою ентомологічного сачка. Комах ловили під час їхнього фуражування на квітках, у польоті чи біля їхніх гнізд. Згодом комах заморювали й ідентифікували [34–36, 58, 59, 62, 63, 65, 72, 73, 77–81, 85]. Частину комах знайдено вже мертвими, зокрема, на узбіччях великих доріг чи на вулицях міста.

У весняний період комах також ловили пастками Меріке [61]. Крім того, аналізували ентомологічну колекцію Зоологічного музею Львівського національного університету імені Івана Франка (акронім – ZMD). Під час визначення таксономічної приналежності бджолиних за основу використовували класифікацію Ч. Міченера [74].

Особин видів перетинчастокрилих, котрих можливо визначити в польових умовах (наприклад, джмелі), облікували без відлову, фіксували рослину, на якій фуражувала комаха, та по можливості здійснювали фотофіксацію.

Для оцінки відносної чисельності видів використали 5-бальну обмежену зверху логарифмічну шкалу, запропоновану Ю. А. Песенком [38] (табл. 1).

Таблиця 1

Шкала оцінки відносної чисельності особин видів бджолиних

Бал, α	Межі класового інтервалу (кількості особин видів)		Словесна характеристика відносної чисельності виду
	Нижня, $n(\alpha)_{\min}$	Верхня, $n(\alpha)_{\max}$	
1	1	$N^{0,2}$	Поодинокі
2	$N^{0,2} + 1$	$N^{0,4}$	Нечисленні
3	$N^{0,4} + 1$	$N^{0,6}$	Зі середньою кількістю особин
4	$N^{0,6} + 1$	$N^{0,8}$	
5	$N^{0,8} + 1$	$N^1 = N$	Дуже численні (масові)

Примітка: N – кількість особин у вибірці

Основним методом збору мурашок був відбір особин із гнізд. Попереднє визначення видів у польових умовах проводили за допомогою лупи зі збільшенням 15–20х. Багато видів мурашок будують гнізда без видимих зовнішніх куполів, тому суттєвою допомогою у пошуках таких гнізд було застосування приманок із цукру чи білкової їжі. Під час відбору польового матеріалу враховували різну добову активність видів мурашок. У деяких випадках для відлову особин у період спарювання застосовували косіння сачком і ґрунтові пастки [44].

Відбір гідробіологічних проб проводили методом зачерпування з приповерхневих шарів води, відібрану пробу (50 л) профільтрували крізь сітку Апштейна. Фіксацію матеріалу здійснювали формальдегідом 40 %-ної концентрації, який доливали в посудину до появи відчутного характерного запаху [27].

Збір молюсків проводили під час обстеження прибережної зони водойм, використовуючи ручний метод збору, також промивали донні відклади за допомогою гідробіологічного сита. Дослідні ділянки відрізнялися між собою ступенем антропогенного навантаження, затінення, заростання берегів тощо. Для визначення молюсків застосовували конхіологічні ознаки [8, 9, 14]. Для дослідження паразитофауни молюсків керувалися методикою В. І. Здуна [15]. Проводили фото- і відеофіксацію виявлених партеніт. Для визначення їхнього виду використали роботу Л. М. Акімової зі співавторами [1].

Структуру, динаміку та зв'язки рибних угруповань вивчали з використанням малькового сачка-пастки, аматорських знарядь; оглядали улови рибалок. По можливості параметри популяцій і угруповань визначали без вилучення особин із природи. У прозорих водоймах подекуди проводили упізнання й обліки за фотографіями з високою роздільною здатністю. Камеральні дослідження живлення, паразитологічне обстеження, уточнення видової приналежності і внутрішньовидової мінливості (морфометричні дослідження) проводили на мінімальних серіях. Брало до уваги також інформацію про інтродукцію, відновлення запасів нативних видів, надану рибогосподарськими та природоохоронними інституціями [3, 11, 19, 30, 32, 37, 41, 69, 71].

Збір земноводних проводили вручну за допомогою герпетологічного сачка, також здійснювали облік у шлюбний період за вокалізацією самців, відбирали розчавлених земноводних на автошляхах і застосовували відлов відро-пастками. Маршрути обирали так, щоб вони максимально відповідали екологічним вимогам земноводних: оселища поблизу репродуктивної водойми, а також лісу чи луки, які містять кормову базу цих тварин [16, 24, 46]. Окрім цього, було проведено детальні аналізи літературних даних і зразків у колекціях Зоологічного музею ЛНУ імені Івана Франка [18].

Під час дослідження живлення земноводних здобутих тварин розтинали і відпрепаровували шлунок, також проводили аналіз шлунків уже мертвих особин, зокрема, й розчавлених автомобілями на автошляхах. Вміст травного тракту фіксували в 4 %-ному розчині формаліну та зберігали у герметично закритих пакетах. Кожен пакет оснащували відповідною етикеткою. Вміст кожного пакета розбирали на фракції в чашці Петрі з використанням лупи та біокуляра. Далі визначали відсоткові частки подібних харчових об'єктів [16].

Для обліку птахів нами використано методики лінійних трансект (маршрутні обліки) і методики точкових обліків (точкові обліки), схвалені Міжнародним комітетом з обліків птахів, для яких вироблено міжнародні стандарти [42]. Таким чином, різними методами досліджень було охоплено різноманітні біотопи – від відкритих (луки, пасовища) до закритих (лісові масиви), обліками також охоплено й об'єкти природно-заповідного фонду України [54, 56].

Для оцінки харчових преференцій ссавців було отримано їхні шлунки від мисливців під час сезону полювання, а також із тварин, збитих на автошляхах. Вміст шлунків консервували у 70 %-ному розчині спирту і зберігали в герметично закритій посудині до визначення їхнього складу з використанням мікроскопа чи біокуляра.

Збір екскрементів проводили на визначених маршрутах, вибраних у різних біотопах. Відібраний матеріал перед визначенням на добу замочували у воді. Відібрані зразки окремо промивали за допомогою трьох фракцій сит (мін. розмір отвору 0,54 мм). Визначення решток проводили за допомогою визначників і спеціалістів: ентомологів, герпетологів, ботаніків [12, 21–23, 83].

Метод реєстрації здобичі великих хижаків базується на тому, що за характером решток з'їденої жертви, її розташуванням, особливостями пошкоджень на тілі можна визначити видову приналежність хижака, який це зробив.

Так, харчові об'єкти раціону видри розглядали окремо за трьома групами: рослинна їжа, безхребетні тварини та хребетні. Частоту виявлення кожного з харчових компонентів розраховували від загального числа всіх об'єктів вибірки, а не від усього числа екскрементів, які містять цей компонент. Відтак, коефіцієнт різноманітності Шеннона розраховували за формулою [84]:

$$H = - \sum_{i=1}^n p_i \log_2 p_i$$

де $p_i = \frac{x_i}{\sum_{i=1}^n x_i}$ відповідає числу об'єктів певного виду у вибірці (раціоні).

Для зручності розрахунки проводили в комп'ютерній програмі Past.

Результати і їхнє обговорення

1. Наземні (лісові, чагарникові, лучні) екосистеми.

Серед безхребетних ключовими видами заслуговують бути фітофаги, для яких лісові насадження є основою живлення та місцем існування. Фітофаги, розмножуючись у великій кількості, спричиняють загибель не лише окремого дерева, а й цілого лісового масиву. Розвиток фітофагів тісно пов'язаний зі змінами зовнішнього середовища, внаслідок дії як біотичних чи абіотичних, так і антропогенних факторів [29].

Аналіз багаторічних даних виявив, що інтенсивність, частота і тривалість спалахів комах-хвоєлистогризів останнім часом зросли як на Поліссі, так і в Степу [29]. Такі спалахи

є циклічними, вони характеризуються певною амплітудою, частотою і тривалістю періоду підвищеної чисельності. Значною мірою на це впливає зміна клімату.

Протягом 2020–2021 рр. нами зібрано 362 особини фітофагів, переважна більшість із них належить до представників рядів Coleoptera – 161 ос. (44 %) та Lepidoptera – 98 ос. (27 %), значно менше Hemiptera – 47 ос. (13 %), Hymenoptera – 39 ос. (11 %) та Diptera – 17 ос. (5 %). Протягом весняно-літнього періоду 2021 р. у вільхових насадженнях зібрано 104 зразки комах, які належать до 10 видів із 9 родин і 4 рядів: листоїд фіолетовий вільховий *Agelastica alni* L., 1758, лінеїда вільхова *Linnaeidea aenea* L., 1758 із родини листоїдів Chrysomelidae, короїд непарний багатотісний *Xyleborus saxeseni* Ratz., 1837 із родини довгоносиків Curculionidae, ковалик блискучий *Selatosomus aeneus* L., 1758 із родини коваликів Elateridae, мохнатка звичайна *Lagria hirta* L., 1758 із родини мохнаток Lagriidae, листовійка строкато-золотиста *Archips xylosteana* L., 1758 із родини листовійок Tortricidae, *Scolopostethus pictus* Schilling, 1829 із родини Lygaeidae, *Tenthredo* sp. із родини пильщиків Tenthredinidae, гармонія азійська *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) із родини сонечок Coccinellidae, вогнівка кропивова велика *Patania ruralis* Scopoli, 1763 із родини вогнівок Crambidae (табл. 2).

Таблиця 2

Відсоток домінування фітофагів у вільхових насадженнях північно-східної частини
Малого Полісся (Бродівська ТГ, околиці м. Броди)

№ п\п	Вид	Кількість особин	Відсоток домінування
1	<i>Agelastica alni</i> L.	38	36,5
2	<i>Linnaeidea aenea</i> L.	25	24
3	<i>Xyleborus saxeseni</i> Ratz.	5	4,8
4	<i>Selatosomus aeneus</i> L.	7	6,7
5	<i>Lagria hirta</i> L.	3	2,9
6	<i>Archips xylosteana</i> L.	3	2,9
7	<i>Scolopostethus pictus</i> Schilling	4	3,8
8	<i>Tenthredo</i> sp.	2	1,9
9	<i>Harmonia axyridis</i> Pallas	6	6,7
10	<i>Patania ruralis</i> Scopoli	10	9,6

Примітка: > 8 % – домінуючий вид, 4–8 % – субдомінуючий вид, 1–3 % – нечисленний вид, < 1 % – рідкісний вид

У дубово-букових насадженнях переважну більшість фітофагів становили представники родини Chrysomelidae. Про заселення листоїдами листя вказувала наявність на них мін, значна їхня скелетизація, а також траплялися гали.

У дубово-букових насадженнях найбільшу чисельність комах спостерігали навесні (квітень–травень), а найменшу – пізно восени (кінець жовтня – листопад), у вільхових – найбільша – початок літа (травень–червень), у липні чисельність фітофагів, зокрема, короїдів, значно знизилася.

На основі отриманих даних щодо трапляння тих чи інших фітофагів до кандидатів у ключові види варто залучити домінуючі види листогризухих комах (табл. 3): листоїд фіолетовий вільховий і лінеїда вільхова.

Перетинчастокрилі, зокрема, бджолині (Apoidea), є важливим компонентом більшості наземних екосистем, оскільки належать до незамінних запилювачів як дикорослих [60], так і цінних сільськогосподарських рослин [87]. При цьому бджолині є дуже вразливою до змін середовища групою перетинчастокрилих. Вони чутливо

реагують на зміни кліматичних факторів, забруднення, використання людиною пестицидів і трансформацію середовища їхнього проживання та поширення серед комах екзо- й ендопаразитів тощо [10, 75]. За час досліджень ми опрацювали 1951 особину бджолиних.

Таблиця 3

Матриця частоти трапляння видів на трансектах (квадратах)
для підрахунку міри різноманіття за Віттекером

№ з/п	Вид	1	2	3	4	5	Частота трапляння
1	<i>Agelastica alni</i> L.	+	+	+	+	+	5
2	<i>Linnaeidea aenea</i> L.	+	+	+	+	+	5
3	<i>Xyleborus saxeseni</i> Ratz.		+		+	+	3
4	<i>Selatossomus aeneus</i> L.			+	+		2
5	<i>Lagria hirta</i> L.	+					1
6	<i>Archips xylosteana</i> L.				+		1
7	<i>Scolopostethus pictus</i> Schilling				+	+	2
8	<i>Tenthredo</i> sp.			+			1
9	<i>Harmonia axyridis</i> Pallas	+	+				2
10	<i>Patania ruralis</i> Scopoli			+	+	+	3
	Кількість видів	4	4	5	7	5	

Сумарно фауна бджолиних досліджуваних територій налічує 146 видів. Вони об'єднані у 6 родин і 30 родів:

Родина Andrenidae: рід *Andrena* (представлений 38 видами); рід *Panurgus* (1 вид).

Родина Apidae: рід *Anthophora* (представлений 3 видами); рід *Apis* (1 вид); рід *Bombus* (17 видів); рід *Epeoloides* (1 вид); рід *Epeolus* (1 вид); рід *Eucera* (2 види); рід *Melecta* (1 вид); рід *Nomada* (13 видів); рід *Tetralonia* (1 вид); рід *Tetraloniella* (1 вид); рід *Xylocopa* (1 вид).

Родина Colletidae: рід *Colletes* (представлений 3 видами); рід *Hylaeus* (3 види).

Родина Halictidae: рід *Halictus* (представлений 7 видами); рід *Lasioglossum* (20 видів); рід *Rophites* (1 вид); рід *Sphecodes* (6 видів); рід *Systropha* (1 вид).

Родина Megachilidae: рід *Anthidium* (представлений 2 видами); рід *Chelostoma* (2 види); рід *Coelioxys* (1 вид); рід *Heriades* (1 вид); рід *Hoplitis* (1 вид); рід *Megachile* (6 видів); рід *Osmia* (6 видів).

Родина Melittidae: рід *Dasypoda* (представлений 1 видом); рід *Macropis* (2 види); рід *Melitta* (2 види).

На території Українського Розточчя серед 67 видів бджолиних численними (без урахування бджоли медоносної *Apis mellifera* L., 1758 тут і далі) можна вважати лише два види – джмеля польового *Bombus pascuorum* (Scopoli, 1763) та джмеля земляного *B. terrestris* (L., 1758), що пов'язане зі соціальним способом життя. Більшість із решти видів належить до групи “поодинокі” та “нечисленні”. На досліджуваній території виявлено 2 види, котрі належать до категорії “Уразливий” (Vulnerable) у Червоному списку Міжнародного союзу охорони природи (IUCN Red List of Threatened Species): *Bombus muscorum* (L., 1758) та *Halictus leucageneus arenosus* Ebmer, 1976. *B. muscorum* також занесений до Червоної книги України (2009) (природоохоронний статус – “Рідкісний”). Чисельність особин цього виду зменшується через скорочення місць, придатних для гніздування та збору корму. Крім того, гнізда руйнують, а комахи гинуть через розорювання полів, скошування чи спалювання трави, сухого листя і вплив пестицидів [52, 64].

На території міста Львова та його околицях серед виявлених 107 видів бджолиних лише два види є численними – джміль земляний *Bombus terrestris* і андрена рудогруда *Andrena limata* Smith, 1853. Велика кількість особин джмеля земляного у зборах і спостереженнях є цілком очікуваною, адже це соціальний вид, один із найбільш звичайних і поширених практично по всій території України [68]. Натомість, велика чисельність особин андрени рудогрудої, ймовірно, пов'язана з тим, що вид є широким політрофом і невибагливим до середовища проживання [34]. На досліджуваній території виявлено 10 видів, котрі належать до категорії “Близький до загрозливого” (Near threatened) у Червоному списку МСОП. Також на південних околицях міста виявили особин ксилокопи звичайної *Xylocopa (Xylocopa) valga* Gerstaecker, 1872, котра занесена до Червоної книги України (2009) (природоохоронний статус – “Рідкісний”). Чисельність особин виду знижується через скорочення місць, придатних для гніздування (суха деревина), в результаті людської діяльності (вирубування дерев, випалювання полезахисних смуг тощо) та збору корму [52].

Серед 90 видів бджолиних, виявлених на території Малевого Полісся, численним можна вважати тільки один вид – джмеля польового *Bombus pascuorum*. Чотири види у Червоному списку МСОП належать до категорії “Близький до загрозливого” (Near threatened) і два види – до категорії “Уразливий” (Vulnerable): *Bombus muscorum* та *Halictus leucaneus arenosus*. *Bombus muscorum* та *Xylocopa valga* занесені до Червоної книги України (природоохоронний статус – “Рідкісний”) [43; 52]. Причини скорочення чисельності обох видів зазначені вище.

Мурашки (Formicidae), завдяки соціальному способу життя, займають ключові позиції у багатьох екосистемах. Висока чисельність робочих особин мурашок, здатність перетворювати середовище у гнізді та довкола нього, постійність і довготривалість поселень, регулювання чисельності різних груп безхребетних завдяки хижацтву робить Formicidae дієвими компонентами біоценозів. Мурашки під час будівництва гнізд активно перемішують ґрунт, покращуючи механічний склад і збагачуючи його продуктами своєї життєдіяльності. У гніздах мурашок знаходять прихисток багато видів-мірмекофілів, а активна мірмекохорія Formicidae сприяє розповсюдженню діаспор багатьох видів рослин на значні відстані.

Таким чином, мурашки роду *Formica*, а саме підроду *Formica* s. str. та представники родів *Lasius*, *Myrmica*, *Camponotus* становлять основу мірмекофауни багатьох екосистем [44]. Залежно від біотопічної приналежності, евритопними видами є *Tetramorium caespitum* (L., 1758), *Myrmica rubra* (L., 1758), *Formica fusca* L., 1758, *Lasius flavus* Fabricius, 1782.

Представники роду *Myrmica* є мезофілами і живуть як у лісах, так і на луках, сім'ї невеликі, є хижаками. Часом *Myrmica rubra* формує полікалічні сім'ї з чисельністю робочих особин до сотень тисяч і більше. *Tetramorium caespitum* заселяє добре прогріті сонцем, сухі місця з низьким проєктивним покриттям рослинності. Сім'ї великі, до кількох десятків тисяч робочих. Агресивні й активні хижаки, крім того, перебувають у симбіозі з попелицями. Мурашки роду *Formica*, а саме *Formica rufa* L., 1761, заселяють зрілі (більше 40 років) хвойні, мішані та листяні ліси. Будують гнізда з куполами із рослинних залишків, кількість робочих може сягати сотні тисяч і більше. Вид має розвинуту систему доріг для фуражування і є активним хижак. Займає домінуюче положення у коадаптивному мірмекоутгрупованні. Одним із найбагатших на видовий склад є рід *Lasius*, а одним із евритопних видів є *Lasius niger* (L., 1758), який має високу екологічну пластичність і здатність пристосовуватися до різних умов середовища. Гнізда будує в землі із земляними куполами [44]. При великій концентрації гнізд одночасно з них у шлюбний період може

вилітати величезна кількість самок і самців, готових до спарювання. Запліднені самки самостійно започатковують нове гніздо. *Lasius flavus* заселяє різноманітні біотопи, геобіонт, будує гнізда з куполами із винесеного ґрунту, що заростають рослинністю. Досить часто у покинутих гніздах можуть поселятися представники родів *Formica* та *Myrmica*. Часом щільність гнізд є такою високою, що заважає косінню чи іншим сільськогосподарським роботам. Сім'ї моногінні, а запліднені самки формують нові гнізда самостійно.

Загалом мурашки – це одні з небагатьох видів тварин, що мають здатність активно видозмінювати навколишнє середовище, пристосовуючи його під свої потреби. У будь-якій екосистемі мурашки виступають як відносно автономний коадаптивний комплекс, структура якого визначається міжвидовими та внутрішньовидовими взаємозв'язками [44].

Пізнавально цікавою групою тварин, які населяють як водні, так і наземні екосистеми, є амфібії. Нами здійснено інвентаризаційні дослідження батрахофауни в межах Українського Розточчя з метою визначення потенційних ключових видів. Усього на досліджуваних ділянках обліковано 12 видів земноводних, серед яких два види хвостатих – тритон звичайний *Lissotriton vulgaris* (L., 1758) і тритон гребінчастий *Triturus cristatus* (Laurenti, 1768), та 10 видів безхвостих амфібій – кумка червоночерева *Bombina bombina* (L., 1761), квакша східна *Hyla orientalis* Bedriaga, 1890, часничниця звичайна *Pelopates fuscus* (Laurenti, 1768), ропуха сіра *Bufo bufo* (L., 1758), ропуха зелена *Bufo viridis* (Laurenti, 1768), жаба трав'яна *Rana temporaria* L., 1758, жаба гостроморда *Rana arvalis* (Nilsson, 1842), жаба озерна *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771), жаба їстівна *Pelophylax esculentus* (L., 1758), жаба ставкова *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882).

Ропуха сіра переважно трапляється у регіонах із лісовими ландшафтами (хвойні, широколистяні, мішані ліси), а також в антропогенно трансформованих біотопах – сади, поля, рідше парки [39]. Зафіксована нами повсюдно.

В Україні трав'яна жаба *Rana temporaria* поширена у більшій частині північних, західних і східних регіонів країни, майже повністю відсутня у степових районах. Населяє рівнинні та гірські хвойні, мішані й листяні ліси, галявини, луки, болота, антропогенні ландшафти [39]. *R. temporaria* нами виявлено лише на території ПЗ Розточчя. Варто зазначити, що попри високу чисельність особин, жаба трав'яна протягом останніх 10 років втрачає свої типові репродуктивні оселища – це невеликі та неглибокі стоячі водойми, в яких відбувається її нерест.

Жаба їстівна *Pelophylax esculentus* також виявилась одним із найпоширеніших видів земноводних Українського Розточчя. Усі три згадані види залучаємо до ключових як у наземному, так і у водному середовищах.

Серед птахів на роль ключових видів можуть претендувати дятли, синиці, сойки та ін.

Дятлів можна вважати ключовими видами у лісових екосистемах. Завдяки своїй здатності робити дупла вони забезпечують багатьох тварин придатними для існування місцями. У фауні Заходу України відмічено 10 видів Дятлоподібних. Більшість із них видовбують одне дупло для гніздування кожного сезону розмноження. Залежно від умов і виду дерева дупло може існувати більше 20 років [70]. Таким чином, різні види-дуплогнізники – від малої мухоловки *Ficedula parva* (Bechstein, 1792) до голуба-синяка *Columba oenas* L., 1758 – не могли би знайти придатного для розмноження місця, якби дятли не робили щороку багато дупел різного розміру. Завдяки цьому факту, а також тому, що щільність дятла звичайного зазвичай вища у природних лісостанах із наявністю мертвої деревини та старих дерев, ніж у загосподарених, цю групу птахів вважають

індикаторами біорізноманіття в лісових екосистемах [70]. Крім того, деякі дятли є важливими компонентами в живленні птахів-орнітофагів. Наприклад, дятел звичайний становить 6,4 % за біомасою у живленні яструба малого [88].

Синиця велика *Parus major* L., 1758 може відігравати роль ключового виду в різних біотопах. Вона є одним із найпоширеніших і найчисленніших видів осілих птахів у лісових насадженнях та відкритій місцевості, завдяки чому становить помітну частку в живленні яструба малого *Accipiter nisus* (L., 1758) у гніздовий період. Живиться переважно комахами на різних стадіях розвитку, а відтак сприяє зменшенню чисельності основних «шкідників» [17]. Проте її чисельність багато в чому залежить від наявності придатних для влаштування гнізд-дупел. У стиглих лісах, де наявні природні дупла, частота трапляння особин є значною. У молодих лісах відсутність придатних для побудови гнізд місць є вагомою перешкодою щодо трапляння особин цього виду [6].

Помітну роль в екосистемах відіграє також сойка *Garrulus glandarius* (L., 1758), яка завдяки запасанню жолудів сприяє поширенню дуба у лісах і лісових насадженнях, а також бука, черешні, глоду, горобини, малини, низки інших деревних і чагарникових видів рослин. Одна сойка восени може влаштувати до 2 700 схованок (до 4 кг жолудів) [49] і поширити до 4 600 жолудів в радіусі 100 м [25]. Сучасні дослідження показують, що протягом одного вегетаційного періоду одна особина сойки здатна зробити запаси навіть кількох тисяч жолудів на території від 10 до 100 га, поширюючи їх на відстань до кількох сотень метрів від дерева, а іноді до кількох (4–8, максимум 20) кілометрів [76]. Таким чином, сойка відіграє помітну роль у початкових стадіях сукцесійних змін у лісових угрупованнях з участю дуба (*Quercus* sp.) [76]. Сойка споживає багато шкочочинних комах, схильних до масового розмноження (листовійки, п'ядуни, хрущі, вусачі, довгоносики тощо), чим сприяє регулюванню їхньої чисельності й захисту деревних насаджень. Старі сойчині гнізда займають яструб малий та інші птахи [4].

Серед ссавців у лісових екосистемах на роль ключового виду може претендувати ведмідь бурий *Ursus arctos* L., 1758. Для нього оптимальним середовищем є лісові екосистеми, в яких ведмідь бурий відіграє значну роль. Передусім це стосується його участі у трофічних ланцюгах, у яких він є кінцевою ланкою. Крім того, цей хижак-еврифаг виконує значну середовищевітвірну функцію, залишаючи після себе у ґрунті копанки, а також активно поширює з екскрементами велику кількість насіння багатьох видів дерев і трав'яних рослин.

На сьогодні майже не вивченими є особливості біотопного розміщення виду в лісових екосистемах Українських Карпат і його зв'язки з рослинними формаціями, типами лісу й лісорослинними умовами.

2. Водні екосистеми (озера, річки, струмки)

Серед зоопланктонних угруповань важко виділяти ключові види в будь-якому аспекті. Зоопланктери – це невеликі за розміром організми, і зникнення якогось одного виду не призведе до змін в угрупованні, оскільки особини одного виду не можуть суттєво змінити середовище існування. Проте ми можемо говорити про зоопланктонні угруповання як ключові. Зоопланктон відіграє основну роль у харчовому ланцюгу, оскільки він є проміжною ланкою переходу поживних речовин та енергії. Порушення функціонування його може призвести до суттєвих змін водної екосистеми.

Зоопланктонні угруповання сформовані в основному трьома систематичними групами тварин: коловертки (Rotifera), веслоногі (Copepoda) та гіллястовусі ракоподібні (Cladocera). Щодо способів живлення, то всіх ракоподібних можна розподілити на мирних

(живляться фітопланктоном і бактеріями) та хижих (до їхнього раціону додаються мирні зоопланктери). Більшість копепод живляться фітопланктоном, хоча є хижаки, що поїдають і коловерток, і гіллястовусих, і веслоногих ракоподібних. Гіллястовусі ракоподібні живляться в основному дрібним фітопланктоном, але трапляються серед них і хижаки. До мирних зоопланктерів належить молодь усіх популяцій і статевозрілі особини кладоцер. Хижаки – це статевозрілі особини копепод і коловерток [31].

Матеріалом для виділення ключових угруповань були збори зоопланктону, які проводили у березні, липні й серпні 2017 р., у серпні та жовтні 2018 р., у березні, квітні та серпні 2019 р., у квітні, червні та липні 2020 р., у травні, червні, липні та серпні 2021 р. – з водойм природоохоронних науково-дослідних відділень Рівненського ПЗ. Матеріал відібрано зі 49 локалітетів.

Зоопланктонні угруповання за трофічною структурою (розрахунок за щільністю) ми розподілили на вертикаторів (коловертки), первинних і вторинних фільтраторів (гіллястовусі ракоподібні), захоплювачів (веслоногі ракоподібні), збирачів (гіллястовусі та веслоногі ракоподібні). У досліджуваних водоймах загалом переважають збирачі та первинні фільтратори. Така тенденція співвідноситься і з результатами інших досліджень [20; 53].

Важливою групою тварин у водних екосистемах є молюски, які беруть участь у фільтрації води та можуть бути індикаторами якості середовища і проміжними живителями трематод. Загалом нами виявлено особин 29 видів прісноводних молюсків: *Lymnaea stagnalis* (L., 1758), *L. palustris* (O.F.Müller, 1774), *L. ampla* (Hartmann, 1821), *L. auricularia* (L., 1758), *L. ovata* (Draparnaud, 1805), *L. peregra* (O.F. Müller, 1774), *L. truncatula* O.F. Müller, 1774, *L. corvus* (Gmelin, 1791), *Theodoxus fluviatilis* (L., 1758), *Planorbis* *corneus* (L., 1758), *P. planorbis* (L., 1758), *Segmentina nitida* (O.F.Müller, 1774), *Gyraulus leavis* (Alder, 1838), *Anisus spirorbis* (L., 1758), *A. leucostoma* (Millet, 1813), *A. vortex* (L., 1758), *Hippeutis complanatus* (L., 1758), *Viviparus contectus* (Millet, 1813), *V. viviparus* (L., 1758), *Bithynia tentaculata* (L., 1758), *Valvata piscinalis* (O. F. Müller, 1774), *Potamopyrgus antipodarum* (Gray, 1843), *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), *Unio pictorum* (L., 1758), *U. tumidus* Philipsson, 1788, *Anodonta cygnea* (L., 1758), *A. anatina* (L., 1758), *Sphaerium corneum* (L., 1758), *Pisidium amnicum* (O. F. Müller, 1774) [47; 82].

Найвища частота трапляння характерна для представників родини Lymneidae, які заселяють усі досліджувані водойми Шацького національного природного парку у великій щільності кожного року. Як екологічний ключовий вид можна виділити ставковика звичайного, або великого, *Lymnaea stagnalis*, популяція якого є важливим компонентом гідробіоценозу, адже бере участь у колообігу речовин і трансформації енергії та формує складну консорційну систему. Ставковик великий є домінуючим видом у всіх досліджуваних озерах, щільність якого з кожним роком зростає.

Ключовими видами для рибних угруповань природних водних об'єктів заходу України є, як правило, аборигенні види, які забезпечують найбільшу частку енергетичних та інформаційних зв'язків у відповідних екосистемах. Виняток становлять такі вселенці, як карась сріблястий *Carassius gibelio* (Bloch, 1782), головешка-ротань амурська *Percottus glenii* Dybowski, 1877, чиї позиції зміцніли, а подекуди й абсолютизувались у порушених, трансформованих водоймах.

У гірських струмках по обидва боки вододілу в Карпатах такими є бабці – строкатоногий *Cottus poecilopus* Heckel, 1837, малоротий *C. microstomus* Heckel, 1837 і звичайний *C. gobio* L., 1758, бистрянкя *Alburnoides bipunctatus* (Bloch, 1782), голянь

річковий *Phoxinus phoxinus* (L., 1758). Для передгірських водотоків другого-четвертого порядків це головень *Squalis cephalus* (L., 1758), пічкурі родів *Gobio* і *Romanogobio*, вусачі марена звичайна *Barbus barbus* L., 1758, марена карпатська *B. carpaticus* Kotlík, Tsigenopoulos, Ráb & Berrebi, 2002. У головних руслах басейнів ключовими є ті ж вусачі й головень, ще підуст звичайний *Chondrostoma nasus* L., 1758, рибець звичайний *Vimba vimba* L., 1758.

У рівнинних водотоках (басейн Прип'яті, Західного Бугу) ключовими видами від витоків за градієнтом потужності русла є щипавка звичайна *Cobitis taenia* L., 1758 і балтійська *C. elongate* Heckel & Kner, 1858, пічкур звичайний *G. gobio* (L., 1758), верховодка звичайна *Alburnus alburnus* L., 1758, плітка звичайна *Rutilus rutilus* L., 1758, плоскирка *Blicca bjoerkna* (L., 1758), шука звичайна *Esox lucius* L., 1758. У лімнічних водоймах, залежно від типу живлення, характеру донних відкладів і заростання, ключовими є головешка-ротань, карась сріблястий, краснопірка звичайна *Scardinius erythrophthalmus* (L., 1758), вівсянка *Leucaspis delineates* Heckel, 1843.

В охоплених дослідженнями водних басейнах заходу України нами залучено до ключових видів таких риб із родів слиж *Barbatula*, щипавка *Cobitis*, *Sabanejewia*, в'юн *Misgurnus*, 3-поміж міног – види роду *Eudontomyzon*.

3. Наземно-водні екосистеми

Серед претендентів на роль ключових видів птахів цього типу екосистем можуть бути лелеки. Лелека білий *Ciconia ciconia* (L., 1758) може виконувати функції інженера екосистем. Його масивні гнізда створюють придатні умови для розмноження інших видів птахів. Нами неодноразово було виявлено таких сусідів лелеки білого як горобці хатній *Passer domesticus* (L., 1758), польовий *P. montanus* (L., 1758), іноді шпак звичайний *Sturnus vulgaris* L., 1758.

Лелека білий на досліджуваній території може також претендувати на роль соціального ключового виду, оскільки є помітним і одним із улюблених птахів, невід'ємною складовою культури українців. До нього ставляться з пошаною і любов'ю. Лелеку з нетерпінням чекають із вирію, зі сумом проводжають у далеку й небезпечну дорогу до місць зимівлі, із цим птахом пов'язано багато приказок і вірувань, про нього складено чимало пісень.

Очеретянки роду *Acrocephalus* є досить поширеними (очеретянки велика, ставкова, лучна) чи рідкісними (очеретянка прудка) у водно-болотних угіддях і в рудеральних угрупованнях (очеретянка чагарникова). Консортивними зв'язками вони пов'язані з великою кількістю інших організмів. Зокрема, очеретянка ставкова та чагарникова відіграють важливу роль у вигодовуванні пташенят зозулі *Cuculus canorus* L., 1758. У деяких країнах Європи вони є ключовими для існування цього гніздового паразита. Наприклад, у Великобританії згадані вище два види очеретянок, тинівка лісова *Prunella modularis* (L., 1758) та щеврик лучний *Anthus pratensis* (L., 1758) забезпечують більше 77 % усіх випадків гніздового паразитизму зозулі [86]. Очеретянка прудка *Acrocephalus paludicola* Louis Jean Pierre Vieillot, 1817 є дуже вимогливою до характеристики гніздового біотопу, тому може бути видом-індикатором. Заселяє болота й вологі луки з постійним рівнем неглибокої води (до 10 см) та щільним, невисоким рослинним покривом зазвичай у заплавах річок Полісся й Лісостепу. Є дуже чутливою до змін у гніздовому біотопі. Осушення територій з подальшими рослинними сукцесіями призводить до відмови цього стенотопного виду від гніздування. Тому очеретянка прудка перебуває під охороною на різних рівнях: категорія "Вразливий" у Червоному переліку видів, яким загрожує зникнення, Міжнародної спілки охорони природи (IUCN), категорія SPEC 1 (глобально

вразливий вид), “Зникаючий” у Червоній книзі України тощо. А для збереження цього глобально вразливого виду необхідним є збереження його оселищ.

Ще одним видом, який претендує на ключовий, є пісочник великий *Charadrius hiaticula* L., 1758. Це стенотопний вид птахів, який обирає для гніздування піщані пляжі в межах меандрів річок або узбереж озер чи піщані дюни або рідкі, короткотравні пасовища в долинах рівнинних річок із проєктивним покриттям злаків до 70–80 %. Отже, він помітно реагує на сукцесії в межах відкритих піщаних біотопів, а саме – на заростання їх через занедбання окремих територій або припинення прогону чи випасу худоби.

Іншим ключовим видом, але мокрих заболочених угідь, виступає грицик великий *Limosa limosa* (L., 1758). Цей вид птахів гніздиться на заплавних луках у долинах річок і озер, де рівень глибини води протягом гніздового періоду (травень–червень), хоч в окремих мікропониженнях, але зберігається до 20–25 см, а сам біотоп представлений найчастіше різнотрав'ям. Протягом останнього десятиліття відмічено різке падіння чисельності цього виду птахів у межах основного ареалу поширення, в Україні в тому числі [66].

Одним із ключових видів із водяних ссавців є видра річкова, яка була взята в Україні під охорону з 1994 р., з цього часу занесена до «Червоної книги України». До третього видання «Червоної книги України» видра річкова була внесена як «неоцінений вид» [52]. На міжнародному природоохоронному рівні видра – вразливий вид, включений до Європейського Червоного списку тварин, що перебувають під загрозою зникнення у світовому масштабі (1991), Вашингтонської (Додаток II) і Бернської Конвенцій (Додаток II), також Директиви щодо Охорони Середовища (Додаток IV).

Згідно з аналізом раціону видри, проведеного на території Палеарктики, риба є основою живлення видри. Також жертвами видри часто стають членистоногі, великі молюски й амфібії, які вважаються альтернативним кормом. Наявність їх у раціоні видри напряму залежить від кількості риби в оселищі [67].

На основі досліджень фауністичного різноманіття лісових, чагарникових, лучних, водно-болотних екосистем Заходу України нами було виділено потенційні ключові види в різних екосистемах. Так, у лісових екосистемах ми звернули увагу на комах-фітофагів, які у процесі своєї життєдіяльності впливають на функціонування екосистем. Серед них можна виділити листоїда фіолетового вільхового, лінеїду вільхову, вогнівку кропивоу. Із комах-запилювачів рослин ключовими видами є бджола медоносна, джміль земляний, джміль польовий, котрі є найчисленнішими на досліджуваній території. Із мурашок ключовими видами можуть бути *Myrmica rubra*, *Tetramorium caespitum*, *Formica rufa*, *F. fusca*, *Lasius niger*, *L. flavus*.

Екосистемну важливість ключових видів у випадку амфібій слід розглядати в кількох аспектах. Перший – це фоновість виду, де чітко виділяємо ропуху сіру, жабу трав'яну і жабу їстівну, які завдяки своїй повсюдності й екологічній пластичності є ключовими в більшості досліджуваних екосистем. Другий аспект – це, навпаки, екологічна вибагливість виду. Серед них: кумка червоночерева і жаба гостроморда. Наявність таких «парасолькових» видів у екосистемі свідчить про оптимальну структуру оселищ, які додатково забезпечують придатні умови існування і багатьом іншим видам амфібій. І третій аспект – екологічні особливості виду, який потребує певного специфічного компонента екосистем або специфічних умов його існування (відповідна рослинність для квакші східної, певний хімізм води для ропухи зеленої тощо).

Серед птахів на роль ключових доцільно залучити дятлів, сойку, синицю велику. Серед ссавців ключовим видом є ведмідь бурий.

У водних екосистемах ключовим видом може бути видра річкова.

На особливу увагу заслуговує зоопланктон загалом, який сформований із коловерток, веслоногих і гіллястовусих ракоподібних. Серед зоопланктерів можемо залучити до ключових лише цілі угруповання, а не види. Розглядаючи трофічну структуру, встановили переважання збирачів і первинних фільтраторів. А отже, їх ми можемо залучити до ключових.

Серед 29 виявлених видів моллюсків на роль ключових видів претендує ставковик великий. Інші 28 видів потребують детального вивчення їхньої функціональної ролі у водних екосистемах.

Серед риб ключовими видами можуть бути представники родів *Barbatula*, *Cobitis*, *Sabanejewia*, *Misgurnus*, із круглоротих – *Eudontomyzon*.

У наземно-водних екосистемах ключовими видами ссавців можуть бути бобер звичайний і видра річкова, а серед птахів – лелека білий, очеретянки ставкова, чагарникова та прудка, пісочник великий і грицик великий.

Власне перелік претендентів на ключові види є підставою для подальших фундаментальних досліджень їхньої ролі у структурі й функціонуванні наземних, наземно-водних і водних екосистем.

Безумовно, складений нами перелік видів не є повним, його доцільно коригувати, але це перша спроба такого аналізу. У подальшому доцільно проаналізувати структуру цих видів в аспекті їхньої популяційної організації та участі в консортивних зв'язках, у яких найбільш повно проявляються фундаментальні зв'язки між консументами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Акимова Л. Н., Ризевский, С. В., Дунец, Т. Г., Курченко В. П. Морфологическая и молекулярно-генетическая идентификация личинок трематод // Тр. Белорус. гос. ун-та. Серия «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем». 2007. Т. 6. Ч. 2. С. 225–247.
2. Андрієнко Т. Л., Балашов Л. С., Прядко О. І. Унікальний болотний масив Переброди на Ровенщині // Укр. бот. журнал. 1976. Т. 33. № 5. С. 532–536.
3. Балабай П. П. До вивчення іхтіофауни басейну верхнього Дністра // Наук. зап. Львів. природнич. музею ін-ту агробіології. 1952. Т. 2. С. 3–26
4. Бондаренко В. Д., Капелюх Я. І. Сойка (*Garrulus glandarius* L.) та її значення в екосистемі лісу // Лісівнича академія наук України: наук. праці. Актуальні питання сьогодення. 2004. Вип. 2. С. 100–102.
5. Водно-болотні угіддя України: довідник / під ред. Г. Б. Марушевського, І. С. Жарук. К.: Чорноморська програма Ветландс Інтернешнл, 2006. 312 с.
6. Гнатина О. С., Шкаран В. І., Сребродольська Є. Б., Савицька О. М. Будівельні матеріали гнізд синиці великої (*Parus major* L., 1758) зі штучних гніздівель у Шацькому національному природному парку // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку: матер. наук. конф. (10–13 вересня 2009 р., смт Шацьк). Львів: СПОЛОМ, 2009. С. 23–25.
7. Голубець М. Екосистемологія. Львів: Поллі, 2000. 315 с.
8. Гураль Р. І., Гураль-Сверлова Н. В. Прісноводні моллюски України: ілюстрована база даних. Львів: Держ. природозн. музей НАН України, 2012–2020. Режим доступу: URL: <http://www.pir-mollusca.org/page/phg/freshwater/index.php> (дата звернення: 13.06.2022).
9. Гураль-Сверлова Н. В., Гураль Р. І. Моллюски семейства Unionidae в фондах Государственного природоведческого музея НАН Украины, их конхологическая

- изменчивость и особенности диагностики [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.pip-mollusca.org/page/epubl/unionidae.php>
10. Гусев В. И. Атлас комаров Украины. К.: Рад. школа, 1962. 307 с.
 11. Діденко О. В., Великопольський І. Й., Устич В. І. Ефективність використання деяких знарядь лову для проведення іхтіологічної зйомки в річках Закарпаття // Рибогосп. наука України. 2010. № 2. С. 40–46.
 12. Доброчаева Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. и др. Определитель высших растений Украины. К.: Наук. думка, 1987. 548 с.
 13. Дунаев Е. А. Методы эколого-энтомологических исследований. М.: МоскгорСОН, 1997. 44 с.
 14. Жадин В. И. Моллюски пресных вод СССР. М.: АН СССР, 1952. 376 с.
 15. Здун В. И. Обследование моллюсков на зараженность личинками дигенетических трематод // Методы изучения паразитологической ситуации и борьба с паразитами сельскохозяйственных животных. К.: Изд-во АН УССР, 1961. С. 96–135.
 16. Измерение и мониторинг биологического разнообразия: стандартные методы для земноводных / пер. с англ. М.: Изд-во КМК, 2003. 380 с.
 17. Капельох Я. І. Синиця велика (*Parus major* L.) – основний фоновий вид біотопів заповідника “Медобори” та його околиць // Наук. вісн. УкрДЛТУ. 2004. Вип. 14.8. С. 382–386.
 18. Каталог земноводних Зоологічного музею Львівського національного університету імені Івана Франка / [Затушевський А. Т., Шидловський І. В., Біляк І. Т., Смірнов Н. А., Гнати́на О. С.]. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2017. 48 с. (Серія «Зоологічні надбання»).
 19. Кафанова В. В. Методы определения возраста и роста рыб: уч. пособ. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1984. 255 с.
 20. Крылов А. В. Зоопланктон равнинных малых рек. М.: Наука, 2005. 262 с.
 21. Кузнецов Б. А. Определитель позвоночных животных фауны СССР: в 3-х ч. Ч. 1. Круглоротые. Рыбы. Земноводные. Пресмыкающиеся. М.: Просвещение, 1974. 190 с.
 22. Кузнецов Б. А. Определитель позвоночных животных фауны СССР: в 3-х ч. Ч. 2. Птицы. М.: Просвещение, 1974. 286 с.
 23. Кузнецов Б. А. Определитель позвоночных животных фауны СССР: в 3-х ч. Ч. 3. Млекопитающие. М.: Просвещение, 1975. 208 с.
 24. Лада Г. А., Соколов А. С. Методы исследования земноводных: науч.-метод. пособие. Тамбов, 1999. 75 с.
 25. Лесная экология / С. Г. Спур, Б. В. Барнес; пер. с англ. М.: Лесн. пром-сть, 1984. 480 с.
 26. Межжерин С. В. Животные ресурсы Украины в свете стратегии устойчивого развития: аналит. справочник. К.: Логос, 2008. 282 с.
 27. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / О. М. Арсан, О. А. Давидов, Т. М. Дьяченко [та ін.]; за заг. ред. В. Д. Романенка. К.: Логос, 2006. 408 с.
 28. Методичні вказівки з нагляду, обліку та прогнозування поширення шкідників і хвороб лісу для рівнинної частини України / за ред. В. Л. Мешкової; виконавці: В. Л. Мешкова, О. М. Кукіна, Ю. Є. Скрильник, О. В. Зінченко, І. М. Соколова, К. В. Давиденко, С. В. Назаренко, І. О. Бобров, О. І. Борисенко, В. Л. Борисова, Я. В. Кошеляєва. Харків: ТОВ Планета-Прінт, 2020. 92 с.
 29. Мешкова В. Л. Лісова ентомологія і лісове господарство // Захист і карантин рослин: міжвід. темат. наук. зб. 2008. Вип. 54. С. 292–299.

30. Мрук А. І., Устич В. І., Маслянка І. І. Сучасний стан та перспективи відтворення цінних лососевих видів риб в Закарпатті // Проблеми воспроизводства аборигенных видов рыб: науч. сб. К.: Світ рибалки, 2005. С. 196–200.
31. Неверова Г. П., Жданова О. Л., Колбина Е. А., Абакумов А. И. Планктонное сообщество: влияние зоопланктона на динамику фитопланктона // Компьютерные исследования и моделирование. 2019. Т. 11. № 4. С. 751–768.
32. Никольский Г. В. Экология рыб. М.: Высшая школа, 1974. 367 с.
33. Опалатенко Л. К. Икhtiофауна бассейна верхнего Днестра: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Кишинев, 1967. 26 с.
34. Осичнюк Г. З. Бджоли-андрениди // Фауна України. К.: Наук. думка, 1977. Т. 12. Вип. 5. 328 с.
35. Осичнюк Г. З. Бджоли-колетиди // Фауна України. К.: Наук. думка, 1974. Т. 12. Вип. 4. 328 с.
36. Осычнюк Г. З., Панфилов Д. В., Пономарева А. А. Надсемейство Apoidea // Определитель насекомых Европейской части СССР Ч. 3. Перепончатокрылые. Ч. 1 / под ред. Г. С. Медведева. Л.: Наука, 1978. С. 279–518.
37. Павлов Д. С., Скоробагатов М. А. Миграции рыб в зарегулированных реках. М.: Тов-во науч. изданий КМК, 2014. 413 с.
38. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М.: Наука, 1982. 288 с.
39. Писанець Є. М. Земноводні України. Київ, 2007. 192 с.
40. Положення про Рівненський природний заповідник [затв. Наказом Мін. екології та природних ресурсів 14.08. 2014. № 264]. Сарни, 2014. 13 с.
41. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1966. 376 с.
42. Приедниекс Я., Курессо А., Курлавичюс П. Рекомендации к орнитологическому мониторингу в Прибалтике. Рига: Зинатне, 1986. 63 с.
43. Про затвердження переліків видів тварин, що заносяться до Червоної книги України (тваринний світ), та видів тварин, що виключені з Червоної книги України (тваринний світ): Наказ Мін. захисту довкілля і природ. ресурсів України № 29 від 19.01.2021. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0260-21#Text>
44. Радченко А. Г. Муравьи (Hymenoptera. Formicidae) Украины. Киев, 2016. 480 с.
45. Раритети біоти Шацького національного природного парку (поширення, оселища, загрози та збереження) / [Юрчук П. В., Матейчик В. І., Ященко П. Т. та ін.]. К.: ЦП КОМПРИНТ, 2014. 111 с. + 108 додатків.
46. Решетило О. С., Микітчак Т. І. Загибель земноводних (Amphibia) на автошляхах Львівщини: стан проблеми та критерії оцінювання // Вісн. зоології. 2008. 42 (4). С. 315–323.
47. Романенко В. Д. Основи гідроекології. К.: Обереги, 2001. С. 590–595.
48. Фактори загроз біорізноманіттю заповідних територій Українських Карпат, Розточчя та Західного Полісся [текст]: моногр. / [Й.В. Царик, І.М. Горбань, О.С. Решетило та ін.]. – [за ред. Й. В. Царика]. Львів: СПОЛОМ, 2016. С. 120.
49. Формозов А. Н. Звери, птицы и их взаимосвязи со средой обитания. М.: Наука, 1976. 273 с.
50. Царик Й. В. Етологічні зв'язки в консорції // Біологічні студії. 2017. Т. 11. № 2. С. 137–140.
51. Царик Й. В., Решетило О. С., Царик І. Й. Ключові види як осередки формування біорізноманіття // Біол. студії. 2019. Т. 13. № 1. С. 161–168.
52. Червона книга України. Тваринний світ / М-во охорони навколиш. природ. середовища України, НАН України; під заг. ред. чл.-кор. НАН України І. А. Акімова. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 623 с.

53. Черевичко А. В. Зоопланктон водоемов и водотоков Полистово-Ловатской болотной системы: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.18. Борок, 2009. 24 с.
54. Черничко И. И., Сиохин В. Д., Андриющенко Ю. А., Черничко Р. Н. Инструкция по организации и ведению мониторинга птиц ВБУ. Мелитополь, 1998. 14 с.
55. Шацьке Поозер'я. Тваринний світ: кол. моногр. / А.-Т. В. Башта, В. К. Бігун, М. Г. Білецька [та ін.]; за ред. П. Я. Кіличицького. Луцьк: Вежа-Друк, 2016. (електрон. опт. диск (CD-ROM). Об'єм даних 486 Мб).
56. Щербак М. М., Воїнственський М. А., Михалевич О. А. та ін. Методичні рекомендації щодо проведення моніторингу біологічних об'єктів на заповідних територіях. Київ, 1996. 36 с.
57. Яблоков А. В., Юсуфов А. Г. Эволюционное учение. М.: Высшая школа, 2006. 318 с.
58. Banaszak J., Romasenko L., Cierzniaak T. Hymenoptera, Pszczółowate – Apidae Podrodzina: Megachilinae. Klucze do oznaczania Owadów Polski, Toruń. Część XXIV, Zeszyt 68b, 2001. 156 s.
59. Bogusch P., Straka J. Review and identification of the cuckoo bees of central Europe (Hymenoptera: Halictidae: Sphecoides) // Zootaxa. 2012. Vol. 3311. P. 1–41.
60. Burd M. Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set // Botanical Review. 1994. Vol. 60. P. 83–139.
61. Campbell J. W., Hanula J. L. Efficiency of malaise traps and colored pan traps for collecting flower visiting insects from three forested ecosystems // J. Insect Conserv. 2007. Vol. 11. P. 399–408.
62. Celary W. Melittidae of Poland (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila), their Biodiversity and Biology. Kraków: Wydawnictwo Instytutu Systematyki i Ewolucji Zwierząt, 2005. 177 p.
63. Choren A. Systématique et chorologie des Anthophorini (Hymenoptera: Apidae) de Belgique et du Nord de la France, avec une première analyse de leurs sécrétions volatiles // Mons, Belgium: Mémoire de fin d'études, Université de Mons-Hainaut. 2007. 80 p.
64. Darvill B., J. Ellis S., Lye G. C., Goulson D. Population structure and inbreeding in a rare and declining bumblebee, *Bombus muscorum* (Hymenoptera: Apidae) // Molecular Ecology. 2006. Vol. 15. P. 601–611.
65. Dylewska M. Hymenoptera, Pszczółowate – Apidae Podrodzina: Andreninae. Błonkówki. Klucze do oznaczania Owadów Polski: Część XXIV, Zeszyt 68d. Toruń, 2000. 153 s.
66. European Red List of Birds. Compiled by BirdLife International. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2021. 51 p
67. Jedrzejewska B., Sidorovich V. E., Pikulik M.M., Jedrzejewski W. Feeding habits of the otter and the American mink in Białowieża Primeval Forest (Poland) compared to other Eurasian populations // Ecography. 2001. Vol. 24. P. 165–180.
68. Konovalova I. B. The bumble bees of Ukraine: species distribution and floral preferences // Psyche: Hindawi Publishing Corporation. 2020. Vol. 2010. Article ID 819740. 10 p.
69. Korte E., Lesnik V., Lelek A., Sondermann W. Impact of overexploitation on fish community structure in the upper River Dniester (Ukraine) // Folia Zoologica. 1999. 48 (2). P. 137–142.
70. Kotowska D., Zegarek M., Osojca G. et al. Spatial patterns of bat diversity overlap with woodpecker abundance // Peer J. 2020. 18 p.
71. Lelek A. The freshwater fishes of Europe. Vol. 9: Threatened fishes of Europe. Aula-Verlag, Wiesbaden, 1987. 343 pp.
72. Løken A. Scandinavian species of the genus *Psithyrus* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) // Entomologica Scandinavica. 1984. Vol. 20. P. 1–25.
73. Løken A. Studies on Scandinavian Bumble Bees (Hymenoptera, Apidae) // Norsk Entomologisk Tidsskrift. 1973. Vol. 20. P. 1–218.

74. Michener C. D. The Bees of the World, 2nd Ed. Baltimore, USA: J. Hopkins Univ. Press., 2007. 992 p.
75. Nieto A., Roberts S.P.M., Kemp J. et al. European Red List of bees. Luxembourg: Publication Office of the European Union, 2014. 86 p.
76. Olszewski A., Brzezicki B. Rola sójki (*Garrulus glandarius*) w inicjowaniu przemian sukcesyjnych zbiorowisk leśnych z udziałem dębu (*Quercus* sp.) // Sylwan. 2019. 163 (6). S. 479–488.
77. Pauly A. Clés illustrées pour l'identification des abeilles de Belgique et des régions limitrophes (Hymenoptera: Apoidea). I. Halictidae. Document de Travail du Projet BELBEES, 2015. 118 p.
78. Pauly A. Clés illustrées pour l'identification des abeilles de de Belgique et des régions limitrophes (Hymenoptera Apoidea). II. Megachilidae. Document de Travail du Projet BELBEES, 2015. 61 p.
79. Pauly A. Les espèces du genre *Sphecodes* Latreille, 1804, en Belgique (Hymenoptera, Apoidea, Halictidae). Document de travail du projet BELBEES, 2016. 93 p.
80. Pawlikowski T., Celary W. Pszczołowate – Apidae. Wstęp i podrodzina lepiarkowate – Colletinae. Klucze do oznaczania owadów Polski. Część XXIV. Zeszyt 68a. Seria Kluczy, Nr. 167. Polskie Towarzystwo Entomologiczne, 2003. 65 s.
81. Pesenko Yu. A., Banaszak J., Radchenko V. G., Cierznia T. Bees of the family Halictidae (excluding *Sphecodes*) of Poland: taxonomy, ecology, bionomics. Bydgoszcz: Wydawnictwo Uczelniane Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Bydgoszczy, 2000. 348 p.
82. Power M. E., Tilman D., Estes J. A. et al. Challenges in the quest for keystones // BioScience. 1996. Vol. 46. P. 609–620.
83. Pucek Z. Klucz do oznaczania ssaków Polski. Warszawa: PWN, 1984. 386 p.
84. Shannon C. E. A mathematical theory of communication // Bell Syst. Tech. J. 1948. 27 (3). P. 379–423.
85. Smit J. De wespbijen (Nomada) van Nederland (Hymenoptera: Apidae) // Nederlandse Faunistische Mededelingen. 2004. Vol. 20. P. 33–126.
86. Soler J. J., Moller A. P., Soler M. A comparative study of host selection in the European cuckoo *Cuculus canorus* // Oecologia. 1999. 118. P. 265–276.
87. Williams P. H. The dependence of crop pollination within the European Union on pollination by honey bees // Agric. Zool. Rev. 1994. Vol. 6. P. 229–257.
88. Zawadzka D., Zawadzki J. Breeding populations and diets of the Sparrowhawk *Accipiter nisus* and the Hobby *Falco subbuteo* in Wigry National Park (NE Poland). // Acta Ornithol. 2001. Vol. 36. P. 25–31.

Стаття надійшла до редакції 28.06.22

доопрацьована 15.07.22

прийнята до друку 23.07.22

ANIMAL KEY SPECIES OF THE ECOSYSTEMS OF WESTERN UKRAINE

**B. Andriishyn¹, N. Balandiukh¹, O. Hnatyna¹, I. Dykyy¹, O. Ivanets¹, I. Koltun¹,
K. Lesiv¹, V. Liesnik¹, M. Martsiv¹, K. Nazaruk¹, O. Reshetylo^{1,2}, I. Skyrpan¹,
I. Khamar¹, I. Tsaryk^{1,2}, Y. Tsaryk¹, I. Shydlovskyy¹**

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

² Institute of Ecology of the Carpathians, NAS of Ukraine,
4, Kozelnytska St., Lviv 79026, Ukraine
e-mail: zoo.dep.biology@lnu.edu.ua

The attention in the article is paid to the key species research importance. Their classification was discussed in our article published in “Studia Biologica” (Y. Tsaryk, O. Reshetylo, I. Tsaryk, Biol. Stud. 2019: 13(1); 161–168). The main emphasis was made on ecological key species, while other categories were analyzed as well (protective, social etc.). A row of potential key species in different ecosystems was proposed based on the original field research. So, such phytophagous insects like the alder leaf beetles *Agelastica alni*, *Linnaeidea aenea*, and the mother of pearl moth *Patania ruralis* are proposed to be the key species in forest ecosystems. Altogether in terrestrial ecosystems such species as the common carder bee *Bombus pascuorum* and the buff-tailed bumblebee *B. terrestris* are tend to be the key species among the pollinators (excluding European honey bee *Apis mellifera*). Ants are important invertebrate key species as well: *Formica* – in forest ecosystems, *Lasius*, *Myrmica* and *Tetramorium* – shrub and meadow ones. Almost the same we can say about some species of amphibians (the common toad *Bufo bufo*, the common frog *Rana temporaria*, and the edible frog *Pelophylax esculentus*). Eurasian jay *Garrulus glandarius*, the great tit *Parus major*, and woodpeckers, the great spotted woodpecker *Dendrocopos major* in particular, are among the birds’ key species on our minds.

European otter *Lutra lutra* is the possible key species in freshwater ecosystems. Zooplankton as a whole community might be considered a key “species” too. The great pond snail *Lymnaea stagnalis* is the key species among freshwater mollusks. The fish of *Barbatula*, *Cobitis*, *Sabanejewia*, *Misgurnus* genera, and *Eudontomyzon* representatives are the key species in streams and rivers.

European beaver *Castor fiber*, European otter *L. lutra*, the white stork *Ciconia ciconia*, and reed warblers are thought to be the key species in semiaquatic ecosystems. The presented data about the key species need further research on their population and consortive organizations, as well as their functional role in the support of ecosystem stability under the environmental stochasticity, has to be clarified.

Keywords: key species, forest, freshwater, semiaquatic ecosystems, insects, amphibians, birds, zooplankton, mollusks, mammals

РОЗВИТОК ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ ЗА АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

В. Кіка^{1*}, О. Макаренко²

¹Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Шампанський пров., 2, Одеса 65058, Україна

²Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії
Національної академії медичних наук»
вул. Рішельєвська, 11, Одеса 65026, Україна
e-mail: kikavladislav@gmail.com

Актуальність проблеми: дисбаланс між утворенням активних форм оксигену (АФО) та здатністю клітини їх нейтралізувати характеризується як оксидативний стрес і має місце практично за будь-якого патологічного стану. Реакції перетворення етанолу до оцтової кислоти супроводжуються збільшенням продукції АФО. Зважаючи на поширеність зловживанням алкоголем і внесок оксидативного стресу в розвиток патологічних станів, ми сформулювали **мету** нашої роботи: оцінити вплив хронічної алкогольної інтоксикації на розвиток оксидативного стресу у слизових оболонках травного тракту, печінці, сироватці крові та кістковій тканині щелеп лабораторних щурів.

Методи дослідження: експеримент проводили на двомісячних щурах обох статей. Спосіб алкоголізації «напівдобровільний». Дослідним групам етанол додавали у воду, починаючи з 5 %-го розчину та поступово збільшуючи до 15 %-го. Тривалість експерименту – 108 днів. У сироватці крові, печінці, кістковій тканині щелеп, слизових оболонках ротової порожнини, шлунку, тонкої кишки, товстої кишки щурів визначали активність каталази (маркер стану антиоксидантної системи) та вміст малонового діальдегіду (показник рівня перекисного окиснення ліпідів). За значеннями цих показників розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс.

Основні результати дослідження: тривале вживання самцями та самицями алкоголю призвело до зниження активності каталази у тканинах травного тракту від 16,0 % у слизовій оболонці товстої кишки до 25,0 % у слизовій оболонці тонкої кишки, і, навпаки, до підвищення активності каталази у щелепах, слизовій оболонці ротової порожнини та печінці на 1,2–38,6 %.

Хронічне введення алкоголю щурам сприяло зростанню вмісту малонового діальдегіду у слизових оболонках шлунково-кишкового тракту на 20,3–96,6 %, у сироватці крові – на 20,4–33,3 %, кістковій тканині – на 44,8–58,7 %.

Баланс між антиоксидантами та прооксидантами у тканинах найбільш чітко відображає антиоксидантно-прооксидантний індекс. Вживання алкоголю сприяло зменшенню антиоксидантно-прооксидантного індексу у тканинах травного тракту на 37,6–65,0 %, у печінці на 24,7 %, у сироватці крові на 38,3 %, у щелепах на 4,2–15,9 %. У слизовій оболонці ротової порожнини цей показник, навпаки, збільшився: на 6,0–10,0 %.

Висновки: за результатами нашого дослідження оксидативний стрес, що індукований етанолом, більшою мірою розвинувся у слизовій оболонці тонкої кишки, а найменшою мірою – у слизовій оболонці порожнини рота і кістковій тканині щелеп. Тканини самиць більш стійкі до розвитку оксидативного стресу внаслідок тривалого вживання алкоголю.

Ключові слова: алкогольна інтоксикація, щури, каталаза, малоновий діальдегід, оксидативний стрес

Активні форми кисню (АФО) виробляються за дії ендогенних (НАДФН-оксидаза, мієлопероксидаза) й екзогенних (забруднене повітря та вода, тютюн, алкоголь, ліки) факторів, а їхні негативні ефекти нейтралізуються антиоксидантною системою. У нормі існує певний баланс між утворенням АФО й активністю антиоксидантів. Клітини мають складні механізми для підтримання такого балансу, а його порушення дає глибокі патофізіологічні наслідки.

Оксидативний стрес виникає під час дисбалансу між утворенням АФО та здатністю клітини їх нейтралізувати. Оксидативний стрес має місце у патогенезі широкого спектра захворювань, включаючи атеросклероз, синдром Альцгеймера, рак, діабет, захворювання нирок, шлунково-кишкового тракту і печінки, виступаючи основною причиною патології або вторинним фактором прогресування захворювання [7, 17]. Не стало винятком і тривале вживання алкоголю. Добре відомо, що реакції перетворення етанолу до оцтової кислоти супроводжуються збільшенням продукції АФО та накопиченням їх в організмі, але чи однаково реагує антиоксидантна система різних органів на тривале споживання алкоголю, не зрозуміло [6, 10].

Наукова новизна проведених досліджень полягає у проведенні порівняльного аналізу реакцій антиоксидантно-прооксидантної системи слизових оболонок травного тракту на тривале введення алкоголю щурам різної статі. Тому, зважаючи на поширеність зловживання алкоголем і внесок оксидативного стресу в розвиток патологічних станів, ми сформулювали **мету нашої роботи**: оцінити вплив хронічної алкогольної інтоксикації на розвиток оксидативного стресу в слизових оболонках травного тракту, печінці, сироватці крові та кістковій тканині щелеп лабораторних щурів.

Матеріали та методи

Експеримент проводили на двомісячних щурах обох статей. Тварин поділили на 4 групи: 2 контрольні (самці, самки) та 2 дослідні, по 7 тварин у кожній групі. Спосіб алкоголізації «напівдобровільний», коли єдиним джерелом рідини для тварини був розчин етанолу. Дослідним групам етанол додавали у воду, починаючи з 5 %-го розчину та поступово збільшуючи до 15 %-го [16]. Робота була спрямована насамперед на отримання даних впливу алкогольної інтоксикації на кісткову тканину, тому ми обрали довготривалий експеримент (108 днів). Щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання зі серця. Збирали кров для отримання сироватки, виділяли печінку, щелепи, слизові оболонки ротової порожнини, шлунку, тонкої кишки, товстої кишки.

Для проведення біохімічних досліджень у гомогенатах тканин (50 мг/мл 0,05 М буферу тріс-НСІ рН 7,5) визначали активність каталази (принцип методу визначення активності каталази заснований на можливості гідроген пероксиду розщеплюватися за наявності каталази, з'єднуватися зі солями молібдату у стійкий помаранчевий комплекс) [1] і концентрацію малонового діальдегіду (МДА) (принцип методу визначення концентрації МДА – за високої температури в кислому середовищі МДА реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметильний комплекс) [4]. За значеннями цих показників розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ [2]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою t-критерію Стьюдента.

Перед дослідженням проведено експертизу комісією з біоетики в ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національної академії медичних наук», протокол

№ 24 від 23.09.20. Експериментальні дослідження проводили з дотриманням етичних норм (Directive 86/609/EEC) положень Європейської конвенції про захист безхребетних тварин, які використовуються для експериментів і наукових цілей (2005) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (2013).

Результати і їхнє обговорення

У табл. 1 представлено результати визначення активності каталази у слизових оболонках шлунково-кишкового тракту (ШКТ), печінці, сироватці та щелепах. Як видно з табл. 1, тривале вживання самцями алкоголю призвело до зниження активності каталази у слизовій оболонці шлунку – на 16,4 %, у слизовій оболонці тонкої кишки – на 25,0 %, у слизовій оболонці товстої кишки – на 15,7 %, а також у сироватці крові – на 18,2 %. Навпаки, активність цього антиоксидантного ферменту після хронічного введення алкоголю самцям підвищилась у слизовій оболонці ротової порожнини на 32,5 %, у печінці – на 5,3 %, у щелепах – на 33,3 %.

Після тривалого вживання етанолу самицями активність каталази в окремих тканинах змінилася більш значно, ніж у самців. Так, у самиць дослідної групи цей маркер зменшився у слизовій оболонці шлунку на 24,3 %, у слизовій оболонці тонкої кишки – на 24,4 %, у слизовій оболонці товстої кишки – на 16,1 %, у сироватці – на 25,0 %. Хронічне введення алкоголю самицям призвело до підвищення активності каталази у слизовій оболонці ротової порожнини на 37,9 %, у печінці – на 1,2 %, у щелепах – на 38,6 %.

Активність каталази статистично значущо змінилась у всіх досліджених тканинах, за винятком рівня активності ферменту в сироватці та слизовій оболонці шлунку самців і печінці самиць, де видно лише тенденцію до зміни цього показника (табл. 1).

Необхідно підкреслити, що найвразливішою до дії алкоголю виявилася каталаза слизової оболонки тонкої кишки, в якій зареєстровано найзначніше зниження активності цього ферменту (24,4–25,0 %). Водночас під впливом алкоголю зареєстровано суттєве збільшення активності цього маркера антиоксидантної системи у слизовій оболонці порожнини рота і кісткової тканини щелеп, більш виражене в самиць - у середньому на 5,4 % (табл. 1).

Таблиця 1

Активність каталази у слизових оболонках травного тракту, сироватці крові та щелепах щурів під впливом алкогольної інтоксикації (мкат/кг, сироватка – мкат/л)

Тканини	Самці		Самиці	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Слизові оболонки ротової порожнини	7,7±0,45	10,2±0,48	6,6±0,28	9,1±0,40
шлунку	3,17±0,19	p<0,002 2,65±0,20	3,41±0,29	p<0,001 2,58±0,17
тонкої кишки	3,84±0,17	p>0,1 2,88±0,18	3,77±0,23	p<0,02 2,85±0,08
товстої кишки	4,07±0,12	p<0,002 3,43±0,12	3,42±0,16	p<0,002 2,87 ±0,06
Печінка	5,65±0,09	p<0,002 5,95±0,12	5,77±0,11	p<0,01 5,84±0,09
Сироватка	0,11±0,01	p<0,05 0,09±0,01	0,12±0,004	p>0,7 0,09±0,01
Щелепи	2,10 ±0,07	p>0,2 2,80±0,15	2,10±0,15	p<0,02 2,91±0,06
		p<0,001		p<0,001

Примітка: р – вірогідність щодо показника в інтактній групі

Каталаза є ферментом антиоксидантного захисту, наявна майже у всіх органах, в основному, в пероксисомах, і каталізує дисмутацію гідроген пероксиду до води та молекулярного кисню. Зменшення активності каталази в слизових оболонках ШКТ (окрім ротової порожнини) та сироватці тварин на тлі хронічного вживання алкоголю свідчить про порушення окисного балансу клітин, а саме пригнічення перетворення гідроген пероксиду до води та молекулярного кисню. Наслідком цього буде накопичення гідроген пероксиду в тканинах, що, враховуючи агресивність цієї речовини, є передумовою пошкодження мембран клітин тканин і розвитку патологічних станів після тривалого вживання етанолу.

Низьку активність каталази спостерігали автори за різних патологій ШКТ: колоректальний рак, аденокарцинома шлунку, хвороба Крона [17]. У дослідженні за 6-тижневої інтоксикації етиловим спиртом молодих щурів відмічають зниження активності каталази в печінці [11]. Дослідження Ramírez et al. вказують на таку ж зміну активності каталази у клітинах печінки за алкогольної інтоксикації [15]. Зміна активності антиоксидантних ферментів, викликана етанолом, порушує оксидативний баланс клітин. Вказують на розвиток оксидативного стресу та запалення печінки у молодих щурів за тривалої алкогольної інтоксикації [12]. Наші дослідження, навпаки, показали деяке підвищення активності каталази в печінці щурів обох статей після тривалого вживання алкоголю. Це можна пояснити накопиченням гідроген пероксиду в гепатоцитах за алкогольний інтоксикації, а, як відомо, рівень активності каталази залежить від рівня гідроген пероксиду в клітині [8].

Зареєстроване нами підвищення активності каталази у слизовій оболонці порожнини рота й кісткової тканини щелеп може бути адаптивним процесом у результаті збільшення вироблення гідроген пероксиду, як це відбувається в ЦНС тварин, що вживали високі дози алкоголю [9]. Загалом підвищена активність каталази у тканинах після впливу етанолу передбачає підвищене окиснення етанолу й утворення ацетальдегіду [16, 17]. Підвищення активності каталази у кістковій тканині щелеп тварин, що отримували етанол, також можна пояснити накопиченням супероксид аніон-радикала внаслідок зниженої активності СОД під впливом етанолу, що було встановлено нами раніше [3].

Ліпіди, ДНК, білки можуть модифікуватися під час взаємодії з АФО, утворюючи стабільні сполуки, які можна використовувати як маркери окисного стресу. Серед продуктів окиснення ліпідів, котрі беруть участь у багатьох патологічних процесах, найбільш вивчені 4-гідрокси-транс-2-ноненаль і МДА.

Згідно з даними табл. 2, концентрація МДА в дослідній групі самців у слизовій оболонці ротової порожнини зросла на 20,3 % порівняно з контрольною групою, у слизовій оболонці шлунку – на 32,3 %, у слизовій оболонці тонкої кишки – на 96,6 %, у слизовій оболонці товстої кишки – на 50,2 %, у печінці – на 39,4 %, у сироватці крові – на 33,3 %, у кістковій тканині щелеп – на 58,2 % (табл. 2).

Після тривалого вживання алкоголю самками вміст МДА в їхніх тканинах також значно зріс: у слизовій оболонці ротової порожнини цей показник збільшився на 29,5 % порівняно з контролем, у слизовій оболонці шлунку – на 22,9 %, у слизовій оболонці тонкої кишки – на 64,8 %, у слизовій оболонці товстої кишки – на 31,7 %, у печінці – на 33,7 %, у сироватці крові – на 20,4 %, у кістковій тканині щелеп – на 44,8 % (табл. 2). Отже, отримані результати демонструють статистично значуще підвищення концентрації МДА за хронічної алкогольної інтоксикації.

Порівнюючи ступені підвищення рівня МДА у різних тканинах під впливом алкоголю, необхідно звернути увагу на те, що найвищі значення МДА, а отже, і найбільшу

інтенсивність оксидативного стресу, зареєстровано у слизовій оболонці тонкої кишки самок і самців, а найнижчі – у слизовій оболонці порожнини рота тварин. Крім того, у більшості тканин самок цей показник оксидативного стресу збільшився меншою мірою, ніж у відповідних тканинах самців (табл. 2). Отримані нами дані підтверджуються роботою [5], де встановлено кореляцію розвитку оксидативного стресу за алкогольної інтоксикації з підвищенням проникності кишечника та порушення цілісності кишкового бар'єру.

У дослідженні Hideo Ohira et al. також вказують на збільшення інших маркерів оксидативного стресу в товстій кишці за хронічної алкогольної інтоксикації – кінцеві продукти глікозилювання (AGE_s) та рецепторів кінцевих продуктів глікування (RAGE), збільшення яких пов'язано з накопиченням АФО й оксидативним стресом. RAGE-опосередкований сигнальний шлях на сьогодні вважається сполучною ланкою між накопиченням AGEs та розвитком багатьох видів коліту і раку [14].

Вживання алкоголю порушує ліпідний гомеостаз, сприяє загостренню алкогольного стеатозу печінки. Окиснення ліпідів є джерелом токсичних продуктів, наприклад, МДА, 4-гідроксинафталену [13].

Таблиця 2

Вміст МДА у слизових оболонках травного тракту, сироватці крові та щелепах шурів під впливом алкогольної інтоксикації (ммоль/кг, сироватка – ммоль/л)

Тканини	Самці		Самиці	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Слизові оболонки ротової порожнини шлунку	35,0±1,2	42,1±1,8	27,1±2,1	35,1±1,8
		p<0,01		p<0,02
	6,34±0,49	8,50±0,33	5,90±0,19	7,25±0,11
		p<0,01		p<0,001
тонкої кишки	2,05±0,19	4,40±0,47	2,67±0,46	4,03±0,49
		p<0,002		p<0,02
товстої кишки	2,49±0,18	3,74±0,35	2,78±0,31	3,66±0,24
		p<0,01		p<0,05
Печінка	39,8±1,4	55,5±2,9	44,8±2,0	59,9±1,9
		p<0,001		p<0,001
Сироватка	0,60±0,07	0,80±0,07	0,54±0,03	0,65±0,01
		p<0,05		p<0,01
Щелепи	8,77±0,66	13,92±0,73	7,94±0,58	11,50±0,49
		p<0,001		p<0,001

Примітка: p – вірогідність щодо показника в інтактній групі

Баланс між антиоксидантами і прооксидантами у тканинах найбільш чітко відображає антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ), результати розрахунку якого представлено у табл. 3. Бачимо незначний приріст АПІ лише у слизовій оболонці ротової порожнини на 10,0 % у самців та на 6,0 % у самиць, які вживали етанол. У всіх інших тканинах шурів відбувалося зменшення АПІ. Так, у слизовій оболонці шлунку під впливом тривалого вживання алкоголю АПІ зменшився на 37,6 % у самців та на 38,4 % у самиць; у слизовій оболонці тонкої кишки – на 65,0 % у самців та на 49,9 % у самиць; у слизовій оболонці товстої кишки – на 43,9 % у самців та на 36,3 % у самиць; у печінці – на 24,6 % у самців та на 24,8 % у самиць; у сироватці крові – на 38,8 % у самців та на 37,8 % у самиць; у кістковій тканині щелеп – на 15,9 % у самців та на 4,2 % у самиць.

Результати табл. 3 вказують на зсув антиоксидантно-прооксидантного балансу в бік активації пероксидації ліпідів і накопичення прооксидантів у тканинах шурів, які довго

вживали алкоголь, а отже, і на наявність оксидативного стресу. Найбільш активний розвиток оксидативного стресу під впливом етанолу відзначено у слизових оболонках шлунка, тонкої й товстої кишки щурів. Більш стійкими тканинами до дії алкоголю виявилися слизова оболонка порожнини рота й кісткова тканина. Також необхідно зазначити, що в слизових оболонках тонкої та товстої кишки, а також у кістковій тканині щелеп самиць оксидативний стрес, індукований алкоголем, був виражений меншою мірою – на 15,1 %, 7,6 % і 11,6 %, відповідно.

Таблиця 3

Індекс АПІ в слизових оболонках травного тракту, сироватці крові та щелепах щурів під впливом алкогольної інтоксикації (%)

Тканини	Самці		Самиці	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Слизові оболонки	22,0±1,1	24,2±0,8	24,4±0,7	25,9±1,1
ротової порожнини		p>0,1		p>0,25
шлунку	50,0±3,5	31,2±1,3	57,8±1,8	35,6±2,5
тонкої кишки	187,3±8,8	p<0,001 65,5±2,4	141,2±19,7	p<0,001 70,7±3,5
товстої кишки	163,5±4,7	p<0,001 91,7±11,0	123,0±10,5	p<0,002 78,4±2,0
Печінка	14,2±0,2	p<0,001 10,7±0,3	12,9±0,2	p<0,001 9,7±0,1
Сироватка	18,3±1,2	p<0,001 11,2±1,2	22,2±0,4	p<0,001 13,8±0,5
Щелепи	23,9±0,9	p<0,001 20,1±0,5	26,4±0,84	p<0,001 25,3±0,5
		p<0,002		p>0,3

Примітка: p – вірогідність щодо показника в інтактній групі

Таким чином, проведене дослідження встановило зниження активності антиоксидантного ферменту каталази й індексу АПІ у слизових оболонках травного тракту (окрім слизової оболонки ротової порожнини і печінки) та сироватці крові після тривалого вживання етанолу як самцями, так і самицями щурів. Зниження активності каталази під впливом алкоголю супроводжувалося збільшенням концентрації МДА у травному тракті тварин. Отримані результати вказують на пригнічення антиоксидантного захисту і розвиток оксидативного стресу в досліджуваних тканинах.

Найбільш вразливою до дії алкоголю виявилася слизова оболонка тонкої кишки, в якій зареєстровано найбільше зниження активності каталази, індексу АПІ на тлі найвищої інтенсивності перекисного окиснення ліпідів, яке визначали по рівню МДА. Найменшою мірою розвиток оксидативного стресу за результатами нашого дослідження активності каталази, вмісту МДА та індексу АПІ зареєстровано у слизовій оболонці ротової порожнини, кістковій тканині щелеп і печінці тварин, які тривало вживали етанол.

Тривале вживання самцями та самицями алкоголю призвело до зниження активності каталази у тканинах травного тракту щурів. Під впливом етанолу активність каталази у щелепах, слизовій оболонці ротової порожнини та печінці зросла на 1,2–38,6 %.

Хронічне введення алкоголю щурам сприяло зростанню вмісту малонового діальдегіду в слизових оболонках шлунково-кишкового тракту на 20,3–96,6 %, у сироватці крові – на 20,4–33,3 %, у кістковій тканині – на 44,8–58,7 %.

Вживання алкоголю сприяло зменшенню антиоксидантно-прооксидантного індексу у тканинах травного тракту на 37,6–65,0 %, у печінці на 24,7 %, у сироватці крові на 38,3 %, у щелепах на 4,2–15,9 %. У слизовій оболонці ротової порожнини цей показник, навпаки, зріс на 6,0–10,0 %.

За результатами нашого дослідження оксидативний стрес, індукований етанолом, більшою мірою розвинувся у слизовій оболонці тонкої кишки, а найменшою мірою – у слизовій оболонці порожнини рота й кісткової тканини щелеп. Тканини самиць більш стійкі до розвитку оксидативного стресу внаслідок тривалого вживання алкоголю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Гурин С. В.* Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах // Лабор. диагностика. 1999. № 4. С. 45–46.
2. *Левицький А. П., Почтар В. М., Макаренко О. А., Гридіна Л. І.* Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами // Одеськ. мед. журнал. 2006. № 1(93). С. 22–25.
3. *Макаренко О. А., Кіка В. В., Мудрик Л. М.* Дисбаланс антиоксидантно-прооксидантної системи у кістковій тканині щелеп щурів при тривалому введенні етанолу // Вісн. ОНУ. Сер. біол. 2021. Т. 26. Вип. 1(48). С. 105–114. doi 10.18524/2077-1746.2021.1(48).232849
4. *Шнайдер С. А., Левицький А. П.* Экспериментальная стоматология. Одесса: КП ОГТ, 2017. 168 с.
5. *Ballway J. W., & Song B. J.* Translational Approaches with Antioxidant Phytochemicals against Alcohol-Mediated Oxidative Stress, Gut Dysbiosis, Intestinal Barrier Dysfunction, and Fatty Liver Disease // Antioxidants (Basel, Switzerland). 2021. 10(3). P. 384. <https://doi.org/10.3390/antiox10030384>
6. *Birková A., Hubková B., Čižmarová B., Bolerázská B.* Current View on the Mechanisms of Alcohol-Mediated Toxicity // Int. J. Mol. Sci. 2021. 22(18). P. 9686. doi:10.3390/ijms22189686
7. *Forman H. J., Zhang H.* Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy // Nat. Rev. Drug Discov. 2021. 20(9). P. 689–709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>
8. *Harrison-Findik D. D., Lu S.* The effect of alcohol and hydrogen peroxide on liver hepcidin gene expression in mice lacking antioxidant enzymes, glutathione peroxidase-1 or catalase // Biomolecules. 2015. 5(2). P. 793–807. doi:10.3390/biom5020793
9. *Hernández J. A., López-Sánchez R. C., Rendón-Ramírez A.* Lipids and Oxidative Stress Associated with Ethanol-Induced Neurological Damage // Oxidative Med. Cell. Longev. 2016. 1543809. <https://doi.org/10.1155/2016/1543809>
10. *Jin M., Ande A., Kumar A., Kumar S.* Regulation of cytochrome P450 2e1 expression by ethanol: role of oxidative stress-mediated p38/jnk/sp1 pathway // Cell Death Disease. 2013. 4(3):e554. doi:10.1038/cddis.2013.78
11. *Kolota A., Głabbska D., Oczkowski M., Gromadzka-Ostrowska J.* Influence of Alcohol Consumption on Body Mass Gain and Liver Antioxidant Defense in Adolescent Growing Male Rats // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2019. 16(13). P. 2320. <https://doi.org/10.3390/ijerph16132320>
12. *Kolota A., Głabbska D., Oczkowski M., Gromadzka-Ostrowska J.* Oxidative Stress Parameters in the Liver of Growing Male Rats Receiving Various Alcoholic Beverages // Nutrients. 2020. 12(1). P. 158. <https://doi.org/10.3390/nu12010158>

13. Michalak A., Lach T., Cichoż-Lach H. Oxidative Stress-A Key Player in the Course of Alcohol-Related Liver Disease // J. Clin. Med. 2021. 10(14). P. 3011. <https://doi.org/10.3390/jcm10143011>
14. Ohira H., Tsuruya A., Oikawa D., Nakagawa W. Alteration of oxidative-stress and related marker levels in mouse colonic tissues and fecal microbiota structures with chronic ethanol administration: Implications for the pathogenesis of ethanol-related colorectal cancer // PloS one. 2021. 16(2), e0246580. 20 p. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246580>
15. Ramírez A., Vázquez-Sánchez A. Y., Carrión-Robalino N., Camacho J. Ion Channels and Oxidative Stress as a Potential Link for the Diagnosis or Treatment of Liver Diseases // Oxidative Med. Cell. Longev. 2016. Vol. 2016. Article ID 3928714, 17 p. <https://doi.org/10.1155/2016/3928714>
16. Rosa R. C., Rodrigues W. F., Miguel C. B., Cardoso F. A. G. Chronic consumption of alcohol adversely affects the bone of young rats // Acta Ortopedica Brasileira. 2019. Nov-Dec; 27(6). P. 321–324. doi: 10.1590/1413-785220192706222834.
17. Vona R., Pallotta L., Cappelletti M. et al. The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders // Antioxidants (Basel, Switzerland). 2021. 10(2). P. 201. <https://doi.org/10.3390/antiox10020201>

Стаття надійшла до редакції 02.05.22

доопрацьована 17.06.22

прийнята до друку 24.06.22

DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS IN LABORATORY RATS WITH ALCOHOL INTOXICATION

V. Kika¹, O. Makarenko²

¹Odesa National Mechnykov University
2, Shampanskii Lane, Odesa 65026, Ukraine

²State Establishment «The Institute of Stomatology and Maxillo-Facial
Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine»
11, Risheljevskaya St., Odesa 65026, Ukraine
e-mail: kikavladislav@gmail.com

Introduction: the imbalance between the formation of reactive oxygen species (ROS) and the ability of cells to neutralize them is characterized as oxidative stress and occurs in almost any pathological condition. Reactions to convert ethanol to acetic acid are accompanied by an increase in ROS production. Given the prevalence of alcohol abuse and the contribution of oxidative stress to the development of pathological conditions, we formulated **the aim** of our work: to assess the impact of chronic alcohol intoxication on the development of oxidative stress in the mucous membranes of the digestive tract, liver, serum and bone of laboratory rats.

Materials and Methods: the experiment was performed on 2-month-old rats of both sexes. The method of alcoholization is “semi-voluntary”. The experimental groups were given ethanol with 5 % drinking water at the beginning of the experiment and gradually increased to 15 %. The duration of the experiment is 108 days. Catalase activity (a marker of the antioxidant system) and malonic dialdehyde content (an indicator of the degree of lipid peroxidation) were determined in the serum, liver, jaw bone, mucous membranes of the mouth, stomach, small intestine, and colon of rats. The antioxidant-prooxidant index was

calculated from the values of these indicators.

Results: prolonged consumption of alcohol by males and females led to a decrease in catalase activity in the tissues of the digestive tract from 16.0 % in the large intestinal to 25.0 % in the small intestinal mucosa, and, conversely, to increase in the jaws. the mucous membrane of the oral cavity and liver increased by 1.2–38.6 %.

Chronic alcohol consumption increased the concentration of malonic dialdehyde in the mucous membranes of the gastrointestinal tract by 20.3–96.6 %, in serum – by 20.4–33.3 %, bone tissue – by 44.8–58.7 %.

The balance between antioxidants and prooxidants in tissues most clearly reflects the antioxidant-prooxidant index. Alcohol consumption contributed to the reduction of anti-oxidant-prooxidant index in the tissues of the digestive tract by 37.6–65.0 %, in the liver by 24.7 %, in serum by 38.3 %, in the jaws by 4.2–15.9 %. In the mucous membrane of the oral cavity, this figure increased by 6.0–10.0 %.

Conclusions: According to the results of our study, oxidative stress induced by ethanol developed to a greater extent in the mucous membrane of the small intestine, and to a lesser extent – in the mucous membrane of the mouth and jaw bone. Female tissues are more resistant to the development of oxidative stress due to prolonged alcohol consumption.

Keywords: alcohol consumption, rats, catalase, malonic dialdehyde, oxidative stress

ВПЛИВ ІНТЕРВАЛЬНОГО ГОЛОДУВАННЯ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ДОРОСЛИХ ЩУРІВ

Р. Янко

*Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України
вул. Богомольця, 4, Київ 01024, Україна
e-mail: biolag@ukr.net*

Літературні дані щодо впливу інтервального голодування (ІГ) на морфофункціональні зміни підшлункової залози (ПЗ), особливо її екзокринної частини, поодинокі. Мета нашої роботи полягала у дослідженні морфологічних змін екзо- й ендокринної частини ПЗ дорослих щурів після впливу ІГ. Дослідження проведено на 24 щурах-самцях лінії Wistar віком 15 місяців. Дослідні щури перебували на ІГ: 1 день повне голодування / 2 дні стандартний раціон. Доступ до води був вільним. Тривалість експерименту становила 28 діб. Щурів декапітували під легким ефірним наркозом. Роботу зі щурами проводили відповідно до принципів Гельсінської декларації. Із центральної частини (тіла залози) ПЗ виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою. З мікропрепаратів залози робили фотознімки за допомогою цифрової камери. Морфометрію залози здійснювали на цифрових зображеннях за допомогою комп'ютерної програми «Image J». Виявлено, що в екзокринній частині ПЗ дорослих щурів, які перебували на ІГ, збільшується площа ацинусів, ядер екзокриноцитів і зростає кількість у них ядерців, підвищується ядерно-цитоплазматичне співвідношення. В ендокринній частині залози дослідних щурів відбуваються більш інтенсивні морфологічні зміни, а саме: вірогідно збільшується її відносна площа (на 108 %), зростає середня кількість острівців Лангерганса на одиницю площі (на 44 %) і їхні лінійні розміри, підвищується кількість ендокриноцитів у острівцях (на 20 %). Також у залозі цих тварин виявлено зменшення відносної площі стромы (на 21 %) і стромально-паренхіматозного індексу (на 28 %), а також зниження ширини прошарків міжчасточкової (на 28 %) і міжацинусної (на 34 %) сполучної тканини, що поліпшує умови для перебігу процесів метаболізму. Таким чином, вплив ІГ супроводжується появою морфологічних ознак зростання активності як екзокринної, так і ендокринної (більшою мірою) частини ПЗ у дорослих щурів. Отримані дані можуть становити інтерес для практичної медицини у вирішенні питання про призначення даного типу голодування людям зі зниженою функцією ПЗ.

Ключові слова: інтервальне голодування, підшлункова залоза, морфометрія

Періоди добровільної відмови від їжі (тобто інтервальне голодування) практикували з найдавніших часів народи всього світу. Книги з етнології та релігії описують дивовижне різноманіття форм і практик голодування. Про поновлення інтересу до режимів голодування свідчить велика кількість наукових публікацій і рекомендацій щодо дієти [15].

Інтервальне голодування (ІГ) викликає еволюційно збережені адаптивні клітинні реакції, які інтегруються між органами. ІГ покращує регуляцію глюкози, підвищує стійкість до стресу та пригнічує запалення. Під час голодування клітини активують шляхи, які посилюють внутрішній захист проти окисного та метаболічного стресу, а також ті, які видаляють або відновлюють пошкоджені молекули [6, 13]. Під час періоду голодування клітини беруть участь у специфічних для тканин процесах росту і пластичності. Дослідження на тваринах постійно показують надійну ефективність дії ІГ на широкий спектр хронічних

захворювань, включаючи ожиріння, цукровий діабет, серцево-судинні й ендокринні патології, новоутворення та нейродегенеративні захворювання мозку [17–19].

Але, незважаючи на добре вивчений ефект від голодування на організм, літературних даних щодо його впливу на морфофункціональну активність підшлункової залози (ПЗ) недостатньо, а отримані результати нерідко мають суперечливий характер. Більшість досліджень присвячено вивченню ефектів від голодування на ендокринну частину залози [8, 14]. Відомо, що голодування викликає фізіологічні зміни ендокринної частини ПЗ, а саме – зміни в секретії інсуліну, метаболізмі острівців Лангерганса та редокс-стані β -клітин [5]. Літературних даних щодо того, як змінюється гістоморфологічна структура екзокринної частини ПЗ при ІГ, нами не знайдено.

Метою нашої роботи було дослідити морфологічні зміни екзо- й ендокринної частини підшлункової залози дорослих щурів після впливу інтервального голодування.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на 24 щурах-самцях лінії Wistar у віці 15 місяців (вагою 420 ± 10 г) в уніфікованих умовах, на стандартному раціоні харчування. Щури були поділені на 2 групи (по 12 тварин у кожній): І – контрольні тварини, ІІ – дослідні щури, які перебували на ІГ, а саме: 1 день – повне голодування / 2 дні – стандартний раціон віварію. Доступ до води був вільний. Тривалість експерименту становила 28 діб. Щурів декапітували під легким ефірним наркозом. Роботу зі щурами проводили відповідно до принципів Гельсінської декларації 1975 р. та її перегляду 1983 р., а також згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затвердженими МОЗ України.

Для морфологічних і морфометричних досліджень із центральних ділянок тканини ПЗ виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою: фіксували у рідині Бюена, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та діоксані, заливали у парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном Бемера й еозинном, а для виявлення елементів сполучної тканини – методом Ван-Гізона [1]. Використовуючи цифрову камеру, мікропрепарати фотографували на мікроскопі «Nikon Eclipse E100» (Японія). На цифрових зображеннях препаратів здійснювали морфометричні виміри за допомогою комп'ютерної програми «Image J».

На гістологічних зрізах тканини ПЗ проводили гістоморфометричний аналіз її екзо- й ендокринної частин. В екзокринній частині залози вимірювали діаметр і площу поперечного перерізу ацинусів, висоту й площу екзокриноцитів, їхніх ядер і цитоплазми, підраховували кількість ядерців у ядрах екзокриноцитів і середню кількість клітин в ацинусі. В ендокринній частині залози підраховували середню кількість панкреатичних острівців на одиницю площі ($0,25 \text{ мм}^2$) та кількість у них ендокриноцитів, вимірювали площу й діаметр поперечного перерізу острівців, а також визначали щільність розташування клітин. Для визначення стану сполучнотканинних елементів у залозі вимірювали ширину прошарків міжчасточкової та міжацинусної сполучної тканини. Методом накладання точкових морфометричних сіток визначали відносну площу екзо- й ендокринної частини, а також строми в залозі [2, 3].

Отримані дані опрацьовували методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення «Statistica 6.0». Нормальність розподілу цифрових масивів перевіряли, використовуючи критерій Пірсона. Усі результати досліджень підпорядковувалися законові нормального розподілу. Достовірність відмінностей між контрольною та дослідною групами оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Відмінності вважали достовірними за значенням $P < 0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Маса тіла контрольних щурів за час експерименту мала незначну тенденцію до зростання, а у тварин, які перебували на ІГ, навпаки, зменшилася на 11 %. У дослідних щурів абсолютна маса ПЗ залишалася на рівні контролю, тоді як її відносна маса була вірогідно більшою на 16 % ($P<0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1

Маса тіла та підшлункової залози ($M\pm m$; $n=12$)

Показники	Маса тіла, г		Маса підшлункової залози	
	На початку дослід	Наприкінці дослід	Абсолютна, мг	Відносна (мг/г маси тіла)
Контроль	430 $\pm$ 7	440 $\pm$ 8	795 $\pm$ 7	1,81 $\pm$ 0,08
Дослід	435 $\pm$ 13	385 $\pm$ 13*	810 $\pm$ 3	2,1 $\pm$ 0,1*

Примітка: тут і в табл. 2 * $P<0,05$ – вірогідність порівняно з контролем

Паренхіма ПЗ у щурів, які зазнавали впливу ІГ, зберігала фізіологічну структуру, що візуально поділялася на екзо- й ендокринну частини. Ацинуси мали округлу, овальну та видовжену форму. Зісередини ацинуси вистелені екзокриноцитами, які звуженою частиною (верхівкою) спрямовані до центру ацинуса, а протилежною, розширеною частиною (основа) – назовні. Цитоплазма клітин мала добре виражену зернистість, особливо у напрямку апікального полюсу. Ядро перебувало біля основи, де зернистість була виражена меншою мірою, і містило ядерця. Ацинуси об'єднувалися в часточки, покриті зовні сполучнотканинною оболонкою (рис. 1).

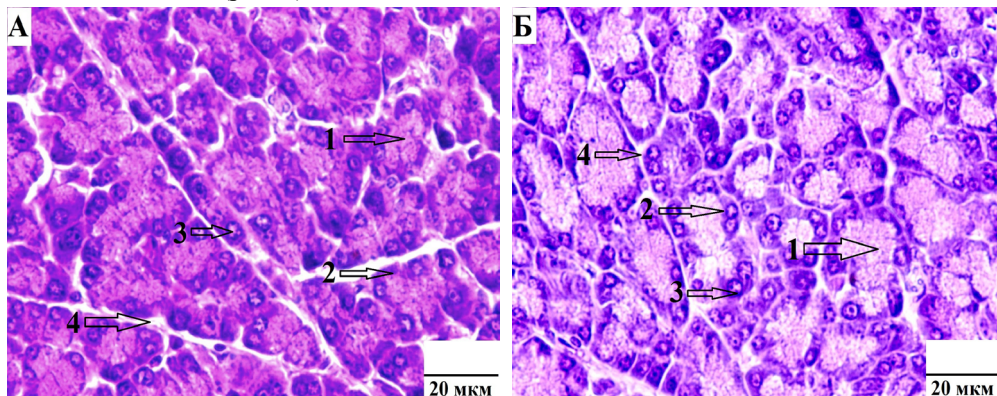


Рис. 1. Мікрофотографія екзокринної частини підшлункової залози щура контрольної групи (А) та після впливу інтервального голодування (Б): 1 – ацинус; 2 – екзокриноцит; 3 – ядро екзокриноцита; 4 – міжчасточкова сполучна тканина. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 800$

У дослідних щурів після впливу ІГ виявили вірогідне збільшення площі ацинусів на 13 % порівняно з контролем. Площа екзокриноцитів і їхньої цитоплазми у цих щурів не змінювалася. Тоді ж площа ядра вірогідно збільшилася на 13 %, що призвело до зростання ядерно-цитоплазматичного співвідношення на 18 %. Кількість ядерців у ядрах екзокриноцитів дослідних щурів була на 29 % ($P<0,05$) більшою, ніж у контролі. Гіперплазія ядерців може бути однією з ознак активації білоксинтезувальної функції клітин або ознакою посилення фізіологічної регенерації на внутрішньоклітинному рівні [4]. У ПЗ тварин, які зазнавали впливу ІГ, виявили тенденцію до зростання висоти епітелію ацинусів на 6 % (табл. 2). Зміна цих показників свідчить про активацію функціонального стану екзокринної частини залози після впливу ІГ.

Таблиця 2

Морфометричні показники підшлункової залози ($M \pm m$; $n=12$)

Показники	Контроль	Дослід
Екзокринна частина		
Відносна площа екзокрин. частини, %	73,2 $\pm$ 1,7	75,6 $\pm$ 1,9
Середній діаметр ацинуса, мкм	27,7 $\pm$ 0,71	28,9 $\pm$ 0,5
Площа поперечного перерізу ацинуса, мкм ²	692 $\pm$ 16	784 $\pm$ 19*
Площа, мкм ²		
екзокриноцита	120,6 $\pm$ 2,5	121,3 $\pm$ 4,9
ядра	17,6 $\pm$ 0,4	19,8 $\pm$ 0,4*
цитоплазми	103 $\pm$ 2,6	101,5 $\pm$ 4,3
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення	0,170 $\pm$ 0,006	0,20 $\pm$ 0,006*
Кількість ядерців в екзокриноциті, шт	1,48 $\pm$ 0,05	1,91 $\pm$ 0,07*
Висота епітелію ацинуса, мкм	11,2 $\pm$ 0,2	11,9 $\pm$ 0,4
Кількість екзокриноцитів в ацинусі, шт	7,8 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,2
Ендокринна частина		
Відносна площа ендокр. частини, %	2,6 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,7*
Середня кількість острівців (на 0,25 мм ²), шт	0,9 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1*
Площа поперечного перерізу острівка, мкм ²	9538 $\pm$ 92	12543 $\pm$ 153*
Середній діаметр острівка, мкм	93,8 $\pm$ 3,9	111,0 $\pm$ 5,0*
Кількість ендокриноцитів в острівці, шт	119,8 $\pm$ 16,8	144,2 $\pm$ 17,6*
Щільність розміщення ендокриноцитів в острівці, шт/мкм ²	0,013 $\pm$ 0,001	0,011 $\pm$ 0,001*
Сполучна тканина		
Відносна площа строми, %	24,2 $\pm$ 1,0	19,0 $\pm$ 1,1*
Стромально-паренхіматозний індекс	0,32 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,03*
Ширина прошарків спол. тканини, мкм		
міжчасточкова	3,81 $\pm$ 0,32	2,76 $\pm$ 0,15*
міжацинусна	0,96 $\pm$ 0,02	0,63 $\pm$ 0,02*

Ендокринна частина займає значно меншу частину тканини ПЗ. Вона утворена острівцями Лангерганса (ОЛ), які дисперсно розміщені в залозі. ОЛ відмежовані від ацинусів тонким сполучнотканинним прошарком і являють собою пронизані густою сіткою капілярів скупчення ендокриноцитів [12]. Форма ОЛ дослідних тварин переважно округла й овальна, рідше візуалізуються острівці видовженої форми (рис. 2).

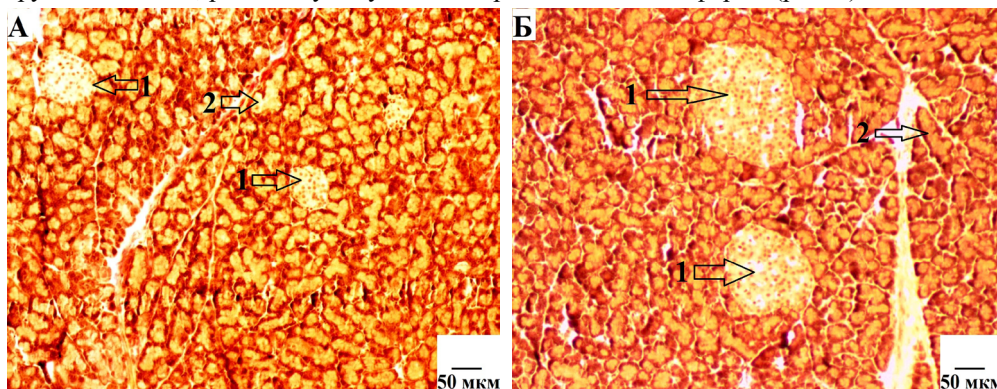


Рис. 2. Мікрофотографія підшлункової залози щура контрольної групи (А) та після впливу інтервального голодування (Б): 1 – острівець Лангерганса; 2 – ацинус. Забарвлення за методом Ван-Гізона. $\times 200$

В ендокринній частині ПЗ дослідних тварин після впливу ІГ виявили значні структурні зміни. Так, у них спостерігали вірогідне збільшення відносної площі ендокринної частини на 108 %. Середня кількість ОЛ (на 0,25 мм²) становила 1,3, що є на 44 % більшим, ніж у контролі. Також виявили достовірне зростання розмірів ОЛ, а саме: площі – на 32 % і

діаметра – на 18 %. Кількість ендокриноцитів у ОЛ дослідних щурів була більшою на 20 % ($P < 0,05$) порівняно з контрольними показниками (табл. 2; рис. 2). Зміна цих показників свідчить про суттєву активацію ендокринної частини ПЗ дорослих тварин після впливу ІГ.

До складу сполучнотканинних утворень ПЗ входить капсула та строма органа. В останній розділяють ацинозну, острівцеву та міжацинозну сполучну тканину (СТ); сполучнотканинні оболонки часток і часточок; міжчасткову і міжчасточкову СТ, а також СТ, яка оточує кровоносні судини й вивідні протоки. Усі перелічені утворення мають схожу структуру та переходять один в одного без різких меж. Але кожний із елементів сполучнотканинного остову має особливості архітекtonіки, якісного і кількісного складу волокнистих структур, кількості основної речовини, кількості й форми фібробластів [12, 16].

Нами виявлено, що у ПЗ щурів після впливу ІГ кількість строми знижувалась. Про це свідчить вірогідно менша її відносна площа на 21 % і стромально-паренхіматозний індекс (відношення відносної площі строми до площі паренхіми) – на 28 % порівняно з контролем. Ширина прошарків міжчасточкової та міжацинозної СТ була вірогідно меншою на 28 і 34 % відповідно (табл. 2). Строма є найважливішим складовим компонентом гістогематичного бар'єру, і зменшення її кількості й товщини прошарків полегшує транспорт кисню до паренхіматозних елементів залози, поліпшує умови перебігу процесів метаболізму, сприяє кращому проникненню гормонів через гістогематичний бар'єр у кров.

Позитивну роль голодування на ПЗ виявили й інші дослідники. В експериментах на мишах з індукованим цукровим діабетом, які перебували на ІГ, виявлено зниження симптомів даної патології. Так, у цих тварин ІГ збільшувало проліферацію β -клітин, нівелювало симптоми діабету, відновлювало секрецію інсуліну і гомеостаз глюкози [8]. Однак механізм, за допомогою якого обмежене харчування впливає на функцію β -клітин, залишається нез'ясованим. В іншому дослідженні показано, що 8-тижневі щури лінії Sprague-Dawley, які отримували раціон зі зниженою на 30 % калорійністю, мали більшу активність β -клітин. Про це свідчить рання секреція інсуліну під час внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози, ніж у контрольних тварин. Крім того, тварини після впливу обмеженого харчування мали більшу масу β -клітин і проліферацію їх у ПЗ [10]. Також виявлено, що обмеження калорій здатне перешкоджати розвитку та викликає затримку в прогресуванні панкреатичних інтраепітеліальних новоутворень [11]. Інші автори дослідили, що ІГ має значно більший протираковий ефект у ПЗ генетично модифікованих моделей мишей, ніж постійна дія обмеженого харчування [7]. Показано, що вплив 40 % обмеженого харчування змінює β -клітинну дисфункцію і резистентність до інсуліну, відновлює гомеостаз глюкози, активує аутофагію β -клітин у мишей [9]. У іншому дослідженні, проведеному на місячних самках щурів, показано, що ІГ (1 день повне голодування / 1 день звичайний раціон) протягом 12 тижнів призводить до зменшення маси ПЗ, збільшує продукцію активних форм кисню й активує апоптоз в ОЛ, сприяє дисфункції β -клітин [14].

Таким чином, аналіз літератури ще раз підтверджує неоднозначність даних стосовно морфофункціонального стану ендокринної частини ПЗ тварин, які отримували обмежене харчування. Це може бути пов'язано з різними типами голодування, різною тривалістю проведення експериментів, віком і статтю тварин тощо. Усе це обумовлює продовження досліджень у даному напрямі для розкриття механізмів впливу голодування на активність ПЗ.

Отже, 28-добовий вплив ІГ (1 день повне голодування / 2 дні стандартний раціон) має морфологічні ознаки підвищення функціональної активності як екзокринної, так і ендокринної (більшою мірою) частини ПЗ у дорослих щурів. В екзокринній частині про це свідчить зростання площі ацинусів, ядер ексзокриноцитів і збільшення кількості в них яде-

рець, підвищення ядерно-цитоплазматичного співвідношення. На підвищення активності ендокринної частини ПЗ після впливу ІГ вказують суттєве збільшення її відносної площі, зростання середньої кількості острівців Лангерганса та їхніх розмірів, а також кількості ендокриноцитів в острівцях. Зменшення кількості строми в залозі полегшує транспорт кисню до її паренхіматозних елементів і поліпшує умови перебігу процесів метаболізму. Ці дані можуть мати теоретичне значення і водночас становлять певний практичний інтерес щодо використання ІГ для підвищення функції ПЗ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Журавлева С. А. Гистология. Практикум. Минск: Вышэйшая школа, 2013. 320 с.
2. Янко Р. В., Левашов М. И. Морфологические отличия поджелудочной железы нормо- и гипертензивных крыс после сочетанного воздействия прерывистой гипоксии и мелатонина // Журнал Белорус. гос. ун-та. Биология. 2021. № 1. С. 3–11. DOI: 10.33581/2521-1722-2021-1-3-11.
3. Adeyemi D., Komolafe O. O., Obuotor E. et al. Histomorphological and morphometric studies of the pancreatic islet cells of diabetic rats treated with extracts of *Annona muricata* // Folia Morphol. 2010. Vol. 69. N 2. P. 92–100.
4. Boisvert F., Konningsbruggen S., Navascues J., Lamond A. The multifunctional nucleolus // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2007. Vol. 8. N 7. P. 574–585.
5. Bonassa A. M., Carpinelli A. R. Intermittent fasting for three months decreases pancreatic islet mass and increases insulin resistance in Wistar rats // Endocrine Abstracts. 2018. Vol. 56. P. 519. DOI: 10.1530/endoabs.56.P519.
6. Cabo R., Mattson M. P. Effects of intermittent fasting on health, aging, and disease // N Engl. J. Med. 2019. Vol. 381. P. 2541–2551. DOI: 10.1056/NEJMra1905136.
7. Chen Y., Ling L., Su G. et al. Effect of intermittent versus chronic calorie restriction on tumor incidence: A systematic review and meta-analysis of animal studies // Scientific Reports. 2016. N 6. P. 33739. DOI: 10.1038/srep33739.
8. Cheng C. W., Villani V., Buono R. et al. Fasting-Mimicking diet promotes Ngn3-Driven b-cell regeneration to reverse diabetes // Cell. 2017. Vol. 168. N 5. P. 775–788. DOI: 10.1016/j.cell.2017.01.040.
9. Gao X., Yan D., Zhao Y. et al. Moderate calorie restriction to achieve normal weight reverses β -cell dysfunction in diet-induced obese mice: involvement of autophagy // Nutrition & Metabolism. 2015. N 12. P. 34. DOI: 10.1186/s12986-015-0028-z.
10. He X. Y., Zhao X. L., Gu Q. et al. Calorie restriction from a young age preserves the functions of pancreatic β cells in aging rats // Tohoku J. Exp. Med. 2012. Vol. 227. N 4. P. 245–252.
11. Lanza-Jacoby S., Yan G., Radice G. et al. Calorie restriction delays the progression of lesions to pancreatic cancer in the LSL-KrasG12D; Pdx-1/Cre mouse model of pancreatic cancer // Exp Biol Med (Maywood). 2013. Vol. 238. N 7. P. 787–797. DOI: 10.1177/1535370213493727.
12. Longnecker D. S. Anatomy and histology of the pancreas. Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base. 2021. DOI: 10.3998/panc.2021.01.
13. Longo V. D., Mattson M. P. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications // Cell Metab. 2014. Vol. 19. N 2. P. 181–192. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.12.008.
14. Munhoz A. C., Vilas-Boas E. A., Panveloski-Costa A. C. et al. Intermittent fasting for twelve weeks leads to increases in fat mass and hyperinsulinemia in young female Wistar rats // Nutrients. 2020. Vol. 12. N 4. P. 1029. DOI:10.3390/nu12041029.
15. Patterson R. E., Laughlin G. A., LaCroix A. Z. et al. Intermittent Fasting and Human Metabolic Health // J. Acad. Nutr. Diet. 2015. Vol. 115. N 8. P. 1203–1212. DOI:10.1016/j.jand.2015.02.018.

16. Purice G. I., Onose G. Microanatomical study of the human pancreatic made on necroptic pieces // J. Med. Life. 2012. № 5 (Spec Issue). P. 102–109.
17. Speakman J. R., Mitchell S. E. Caloric restriction // Mol. Aspects. Med. 2011. Vol. 32. P. 159–221.
18. Weiss E. P., Fontana L. Caloric restriction: powerful protection for the aging heart and vasculature // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2011. Vol. 301. N 4. P. H1205–H1219. DOI: 10.1152/ajpheart.00685.2011.
19. Yanko R. V., Levashov M. I. Effect of interval fasting on morphological changes in the rat thyroid gland of different age // Biological Sciences of Kazakhstan. 2021. N 1. P. 8–18. DOI: 10.52301/1684-940X-2021-1-8-18.

Стаття надійшла до редакції 17.06.22

доопрацьована 05.07.22

прийнята до друку 06.07.22

EFFECT OF INTERVAL FASTING ON THE MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF THE PANCREAS IN ADULT RATS

R. Yanko

*Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine
4, Bogomoletz St., Kyiv 01024, Ukraine
e-mail: biolag@ukr.net*

Literature data on the effect of interval fasting (IF) on the morphological and functional changes in the pancreas, especially its exocrine part, are rare. The aim of our work was to study the morphological changes in the exo- and endocrine pancreas of adult rats after the influence of IF. The study was carried out on 24 male Wistar rats at the age of 15 months. Experimental rats were on IF: 1 day – complete fasting / 2 days – standard diet. Access to water was free. The duration of the experiment was 28 days. Rats were decapitated under light ether anesthesia. Work with rats was carried out in accordance with the principles of the Helsinki Declaration. Histological preparations were made from the central part (the body of the gland) according to the standard method. From micropreparations of the gland, photographs were taken using a digital camera. Gland morphometry was performed on digital images using the «Image J» computer program. It was revealed that in the exocrine pancreas of adult rats that were on IF, the area of acinus, nucleus of exocrinocytes increases and the number of nucleolus increases, the nuclear-cytoplasmic ratio increases. In the endocrine pancreas of experimental rats, more intense morphological changes occur, namely: its relative area probably increases (by 108 %), the average number of Langerhans islets increases (by 44 %) and their linear dimensions increase, the number of endocrine cells increases (by 20 %). Also in the gland of these animals, a decrease in the relative area of the stroma (by 21 %) and the stromal-parenchymal index (by 28 %), as well as a decrease in the width of the layers of the interlobular (by 28 %) and interacinus (by 34 %) connective tissue, which improves conditions for the course of metabolic processes. Thus, the effect of IF is accompanied by the appearance of morphological signs of an increase in the activity of both the exocrine and endocrine (to a greater extent) pancreas in adult rats. The data obtained may be of interest for practical medicine when deciding whether to prescribe this type of hunger strike to people with reduced pancreas function.

Keywords: interval fasting, pancreas, morphometry

ЗМІСТ

БІОФІЗИКА

<i>Н. Гарасим, Н. Боднарчук, В. Отчич, О. Кінаш, Н. Мельник, А. Зинь</i> Зміна окремих показників еритроцитів крові щурів за впливу гістаміну і кверцетину	3
--	---

БОТАНІКА

<i>О. Яковенко</i> Вища водяна рослинність лесових «островів» Чернігівського Полісся	23
---	----

ГЕНЕТИКА

<i>В. Файт, І. Балашова</i> Різноманіття <i>Ppd-1</i> генотипів сортів ярої та озимої м'якої пшениці (<i>Triticum aestivum</i> L.) України	32
<i>S. Melnyk, P. Hrab, B. Ostash</i> Genomic potential of <i>Streptomyces roseochromogenes</i> NRRL 3504 for the production of specialized metabolites: analysis <i>in silico</i>	45

ЕКОЛОГІЯ

<i>Г. Кurychuk, А. Stadnychenko, О. Uvayeva</i> Combined impact of toxicants and helminths on great pond snail (<i>Lymnaea stagnalis</i> L.) homeostasis stability	54
<i>О. Лобачевська</i> Стрес-індуковані реакції мохів на періодичне короткочасне і тривале висушування залежно від водного режиму їхніх місцевиростань	62
<i>О. Байк, Н. Kim</i> Морфофізіологічні реакції мохів на дію абіотичних чинників на посттехногенних територіях видобутку сірки	76
<i>В. Козловський, Н. Романюк, Р. Юречко</i> Вплив спонтанної сильватизації на фізико-хімічні властивості чорноземів екстрazonальних лучно-степових рослинних угруповань ботанічного заказника “Макітра” (НПП “Північне Поділля”, Україна)	90
<i>І. Зайцева, О. Джиган</i> Фітосанітарний стан <i>Acer tataricum</i> L. в урбоценозах правобережної частини м. Дніпра	99

ЗООЛОГІЯ

<i>Б. Андрійшин, Н. Баландюх, О. Гнати́на, І. Дикий, О. Іванець, І. Колтун, К. Лесів, В. Леснік, М. Марців, К. Назарук, О. Решети́ло, І. Скурпан, І. Хамар, І. Царик, Й. Царик, І. Шидловський</i> Ключові види тварин в екосистемах заходу України	112
--	-----

ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

<i>В. Кіка, О. Макаренко</i> Розвиток оксидативного стресу у лабораторних щурів за алкогольної інтоксикації	130
<i>Р. Янко</i> Вплив інтервального голодування на морфофункціональний стан підшлункової залози дорослих щурів	139

CONTENTS

BIOPHYSICS

<i>N. Harasym, N. Bodnarchuk, V. Otchych, O. Kinash, N. Melnyk, A. Zyn</i> Changes in certain indicators of rat blood erythrocytes under the influence of histamine and quercetin	3
---	---

BOTANICS

<i>O. Yakovenko</i> The higher water vegetation of loess «islands» of Chernihiv Polissia	23
---	----

GENETICS

<i>V. Fait, I. Balashova</i> Diversity of <i>Ppd-1</i> genotypes of spring and winter bread wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) of Ukraine	32
<i>S. Melnyk, P. Hrab, B. Ostash</i> Genomic potential of <i>Streptomyces roseochromogenes</i> NRRL 3504 for the production of specialized metabolites: analysis <i>in silico</i>	45

ECOLOGY

<i>G. Kyrychuk, A. Stadnychenko, O. Uvayeva</i> Combined impact of toxicants and helminths on great pond snail (<i>Lymnaea stagnalis</i> L.) homeostasis stability	54
<i>O. Lobachevska</i> Stress-induced reactions of mosses to periodic short-term and long-term drying depending on the water regime of their habitats	62
<i>O. Baik, N. Kit</i> Morpho-physiological reactions of mosses to the action of abiotic factors on post-technogenic areas of sulphur deposit	76
<i>V. Kozlovskyy, N. Romanyuk, R. Yurechko</i> Influence of spontaneous silvaticization on physicochemical properties of chernozem of extrazonal meadow-steppe plant communities of Botanical Reserve “Makitra” (National Nature Park “Northern Podillia”, Ukraine)	90
<i>I. Zaitseva, O. Dzhygan</i> Phytosanitary state of <i>Acer tataricum</i> L. in urbocenoses of the Dnipro sity right-bank	99

ZOOLOGY

<i>B. Andriishyn, N. Balandiukh, O. Hnatyna, I. Dykyy, O. Ivanets, I. Koltun, K. Lesiv, V. Liesnik, M. Martsiv, K. Nazaruk, O. Reshetylo, I. S kyrpan, I. Khamar, I. Tsaryk, Y. Tsaryk, I. Shydlovskyy</i> Animal key species of the ecosystems of western Ukraine	112
---	-----

HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

<i>V. Kika, O. Makarenko</i> Development of oxidative stress in laboratory rats with alcohol intoxication	130
<i>R. Yanko</i> Effect of interval fasting on the morpho-functional state of the pancreas in adult rats	139