

УДК 691.581.143: 546.48

- Ю.В. Ситар, к.біол.н., наук. співроб. каф. фізіол. та еколог. рослин
- А.М. Косян, к.біол.н., наук. співроб. каф. фізіол. та еколог. рослин
- Н.В. Новицька, к.біол.н., доц. каф. рослинництва
- Л.М. Бацманова, к.біол.н., ст. наук. співроб. каф. фізіол. та еколог. рослин
- Н.Ю. Таран, д.біол.н., проф., зав. каф. фізіол. та екол. рослин
- *Навчально-науковий центр "Інститут біології", Київський національний університет ім. Тараса Шевченка*
- *Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ*

ВМІСТ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ФЕНОЛЬНОЇ ПРИРОДИ У НАСІННІ СОЇ (*GLYCINE MAX (L.) MERR.*) ЗА ДІЇ НЕІОННИХ КОЛОЇДНИХ РОЗЧИНІВ НАНОЧАСТОК МЕТАЛІВ

Питання раціонального використання мінеральних добрив при вирощуванні сільськогосподарських культур на сьогодні є актуальним для збереження сталості навколишнього середовища та отримання високоякісної продукції рослинництва. Перспективним та багатообіцяючим підходом до вирішення проблеми екологічно збалансованого використання мінеральних добрив для харчових рослин є біофортифікація, яка передбачає спрямоване створення харчових рослин, які будуть здатні самостійно накопичувати підвищені рівні вітамінів, мінералів, інших цільових сполук, та, поряд із цим, міститимуть понижені кількості антинутриєнтів, токсинів та інших небажаних речовин [1]. Особливе місце у біофортифікаційних технологіях відводиться добривам, котрі містять цільові метали, зокрема мікроелементам.

Істотним у механізмах дії всіх мікроелементів є їх здатність утворювати комплексні сполуки з різними органічними речовинами, в тому числі з білками, і в переважній більшості активізувати певні ферментативні системи. Це здійснюється різними шляхами - безпосередньою участю в складі молекул ферментів або їх активацією. Але використання солей металів і їхніх хелатних з'єднань обмежена, з одного боку, існуванням гранично-допустимої дози для рослин, а з іншого - небезпекою забруднення навколишнього середовища іонами металів. Наприклад біофортифікація цинковмісними добривами ($ZnSO_4$) може підвищити врожайність рослин на ґрунтах, що характеризуються дефіцитом цього елемента, а також збільшити концентрацію цинку в істивних частинах рослин. З іншого боку, двовалентне залізо (у формі $FeSO_4$) у ґрунті швидко переходить у тривалентне, тому внесення залізовмісних добрив не спричиняє значного підвищення вмісту заліза в рослинах. Велика кількість заліза, внесена в ґрунт, може пригнічувати ріст рослин та негативно впливати на ґрунтові мікробіоценози. У зв'язку з цим виникає необхідність не тільки заміни солей металів такою формою добрив, яка буде менше забруднювати навколишнє середовище і забезпечить мінімальні вимоги до концентрації, що використовується для обробки рослин та насіння, а також дасть можливість програмувати динаміку накопичення в рослинах біологічно активних сполук та сприяти розвитку біомаси рослини.

До таких форм відносяться продукти нанотехнологій - наночастинки металів. Вони, мають унікальні властивос-

ті, можуть використовуватися як біопрепарати нового покоління, до того ж вони економічно вигідні і впливають на підвищення продуктивності сільськогосподарських рослин і тварин. Відмінною особливістю наночасток металів є їх мала токсичність у порівнянні з солями металів і здатність при дуже малих дозах активізувати фізіологічні та біохімічні процеси. Висока ефективність наночасток металів як стимуляторів росту показана на розвитку вегетативної маси та формуванні продуктивності сільськогосподарських рослин [22]. Однак у комплексі біофортифікаційних заходів залишається практично недослідженою ефективність технологій використання наночасток металів при вирощуванні сої - однієї з найпоширеніших зернобобових й найбільш біофортифікованої селекційним шляхом культури на нашій планеті [7]. Як найважливіша культура з виробництва білка соя також є джерелом біологічно активних речовин фенольної природи, які широко використовуються у фармацевтичній та харчовій промисловості [25].

У завдання даної роботи входило дослідження ефективності технологій використання наночасток металів на біохімічні властивості насіння сої як джерела фармакологічно важливих сполук фенольної природи.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили в умовах правобережного Лісостепу України на польовій базі кафедри рослинництва та кормовиробництва ВП „Агрономічна дослідна станція” Національного університету біоресурсів і природокористування України на чорноземах типових середньосуглинкових з вмістом гумусу в орному шарі ґрунту 4, 38-4,53%, рН сольової витяжки 6,9-7,3, вміст азоту - 0,27-0,31%, фосфору - 0,15-0,25%, калію - 2,3-2,5%. Об'єкт досліджень - рослини сої (*Glycine max (L.) Merr.*) сорту вітчизняної селекції Аннушка (ультраскоростиглий).

Для з'ясування параметрів якості насіння сої залежно від обробки насіння розчинами наночастин металів було закладено дрібноділянковий дослід. У дослідженнях використовували передпосівну обробку насіння сої наночастинками цинку, срібла, кобальту, заліза, молібдену, марганцю, міді. Обробку насіння сої неіонними колоїдними розчинами металів проводили з розрахунку 1 л робочого розчину на 1 тону насіння шляхом замочування насіння за добу до сівби. Розчини, використані у дослідженнях,

Біологія та фармація

розроблені кафедрою технології конструкційних матеріалів і матеріалознавства НУБіП України й уперше використані для обробки насіння сої. Колоїдні розчини наночастинок металів (10-9) отримані диспергуванням гранул заліза, міді, кобальту, молібдену, марганцю, цинку і срібла імпульсами електричного струму з амплітудою 100-2000 А у воді. Контрольними варіантами було насіння сої сухе (контроль 1) та замочене за добу до сівби у дистильованій воді (контроль 2). Варіанти досліджень: 1. контроль 1; 2. контроль 2; 3. розчин Fe (10-9); 4. розчин Zn (10-9); 5. розчин Cu (10-9); 6. розчин Mn (10-9); 7. розчин Mo (10-9); 8. розчин Co (10-9); 9. розчин Ag (10-9). Вміст загальних фенолів визначався за допомогою реактиву Фоліна [19]. Вміст загальних танінів визначали за допомогою реактиву Фоліна та полівінілполіпіролідону по модифікованій нами методиці Хагеман та Бултер (1978) [20]. Вміст проантоціанідинів аналізувався за допомогою реакції з бутанол-НСІ [8]. Визначення флавоноїдів проводилось за методикою Маркам [12]. Одержані дані обраховували статистично за допомогою програми Microsoft Excel. Повторність усіх дослідів була триразова, вірогідність різниці між середніми арифметичними значеннями показників встановлювали за критерієм Ст'юдента. Відмінності вважали суттєвими при значенні $P < 0,05$ [2].

Результати дослідження та їх обговорення

При вивченні біохімічного складу фенольних сполук насіння сої, одержаного з рослин, оброблених неіонними частками нанометалів, основна увага була приділена ви-

значенню трансформацій специфічної, фармакологічно активної групи речовин - ізофлавонів.

Ізофлавоони - група природних гетероциклічних сполук фенольної природи зустрічається, головним чином, у рослинах сої (*Glycine max* (L.) Merr.). Основними ізофлавонами сої є геністеїн і даїдзеїн та їх глюкозиди геністин і даїдзин (рис. 1) [10]. Ці природні сполуки проявляють естрогенні, антифунгіцидні, антипухлинні й антимуtagenні властивості [11, 15, 18]. Низька частота деяких захворювань, яка спостерігається в азійських країнах, пояснюється споживанням великої кількості сої та продуктів її переробки. Середнє споживання ізофлавонів сої в цих країнах становить 40-80 мг на добу [14, 16]. Соеві продукти пропонуються для забезпечення захисної дії при серцево-судинних захворюваннях, захворюванні кишечника, печінки, сечового міхура, передміхурової залози, шкіри та шлунку, попередження розвитку ракових пухлин [4, 14].

Експерименти на тваринах і спостереження на людях показали, що соєвий білок проявляє гіпохолестеринемічну і антиатерогенні властивості. Зазначається, що соєвий білок, у порівнянні з білками тваринного походження, може значно зменшити концентрацію загального холестерину у сироватці крові, ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), холестерину і тригліцеридів [5, 17]. Дослідження на приматах показали, що соєвий білок може проявляти свої антиатерогенні ефекти через зв'язані з ним ізофлавоони [24]. Соеві ізофлавоони також мають антиоксидантні властивості, які можуть захищати ЛПНЩ від окиснення [6].

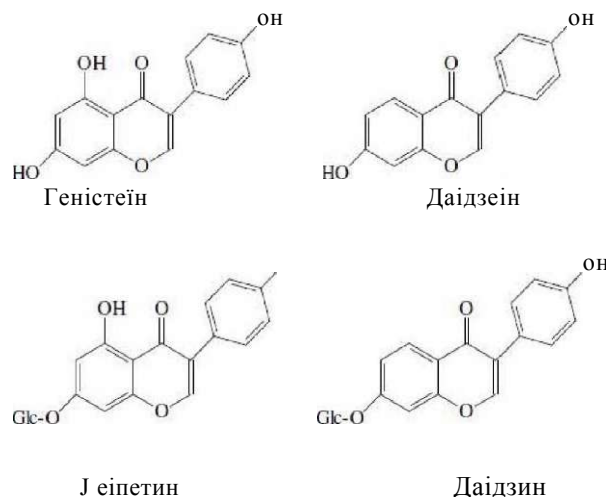


Рис. 1. Хімічна структура ізофлавонових агліконів та їх глюкозидів

Епідеміологічні дослідження показали, що жінки, які споживають багато соєвих продуктів, мають більш низькі показники розвитку остеопорозу [4]. У зв'язку з наявністю в ізофлавонів низької естрогенної активності вживання соєвих продуктів було запропоновано як альтернатива гормональній терапії у жінок в постменопаузі [23].

Враховуючи тісний зв'язок між харчуванням та розвитком захворювань, потенційні наслідки вживання біологічно активних сполук, таких як фітоестрогени, вима-

гають подальшого вивчення. Це особливо характерно для все більш широкого використання соєвих продуктів у харчуванні людей.

Накопичення ізофлавонів у зерні сої дуже залежить від генетичних особливостей сорту та умов вирощування. Так коливання ізофлавонів у зерні 210 сортів сої, вирощених у Південній Дакоті, становило від 1161 до 2743 мкг^г-1, а їх вміст у зерні сої сорту Vinton 81, який вирощувався упродовж декількох років в одній місцевості,

коливався в межах від 1176 до 3309 мкг*г-1, тоді як коливання за один рік становили 1176 до 1749 мкг*г-1 [9]. Тобто кліматичні умови року впливали на накопичення ізофлавонів більше ніж умови місцевості. Китамура зі співавт. [9], та Цукамото зі співавт. [21] показали, що концентрація ізофлавонів у насінні сої, вирощеної за умов дії високої температури була значно нижчою, ніж у насінні рослин, які піддавались впливу низької температури. Для з'ясування специфіки впливу наночасток металів на вміст

речовин фенольної природи у насінні сої була проведена серія польових досліджень у ґрунтово-кліматичних умовах лісостепу України.

При вивченні дії нанопрепаратів на накопичення фенольних сполук у зерні сої було встановлено, що у варіантах з використанням препаратів на основі молібдену, марганцю, міді та заліза спостерігалось достовірне підвищення загального вмісту поліфенолів (рис. 2).

Розчин Д"
Розчин Со
Розчин Мо
Розчин Мп
Розчин Си
Розчин Zn
Розчин Fe
Контроль

Загальні феноли, мг/г сухої речовини

Рис. 2. Вміст суми фенольних сполук зерні сої за передпосівної обробки нанопрепаратами, у перерахунку на галову кислоту

Незначні коливання у варіантах з використанням нанопрепаратів на основі срібла, кобальту, міді та цинку знаходились у межах похибки досліджу.

Достовірне підвищення вмісту танінів у зерні сої спостерігалось лише у варіантах з використанням моліб-

дену та цинку (рис. 3).

Слід відмітити, що сумарний вміст лейкоантоціанів достовірно збільшувався у всіх варіантах з використанням нанопрепаратів (рис. 4)

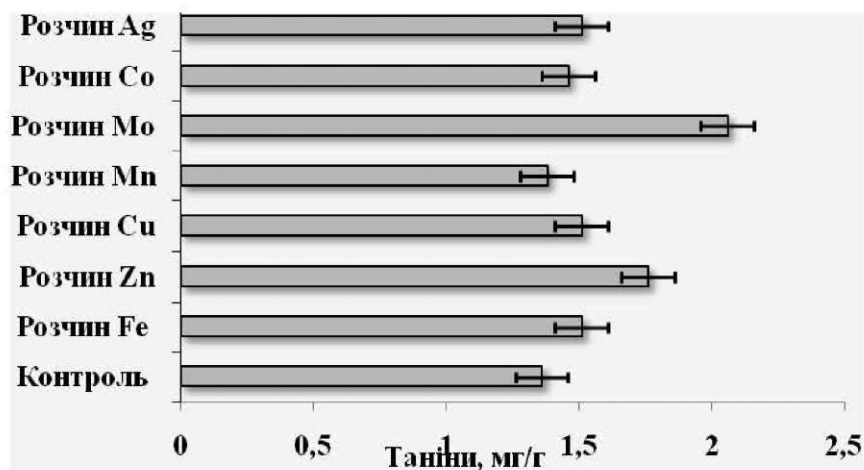


Рис. 3. Вміст танінів у зерні сої за передпосівної обробки нанопрепаратами, у перерахунку на катехін

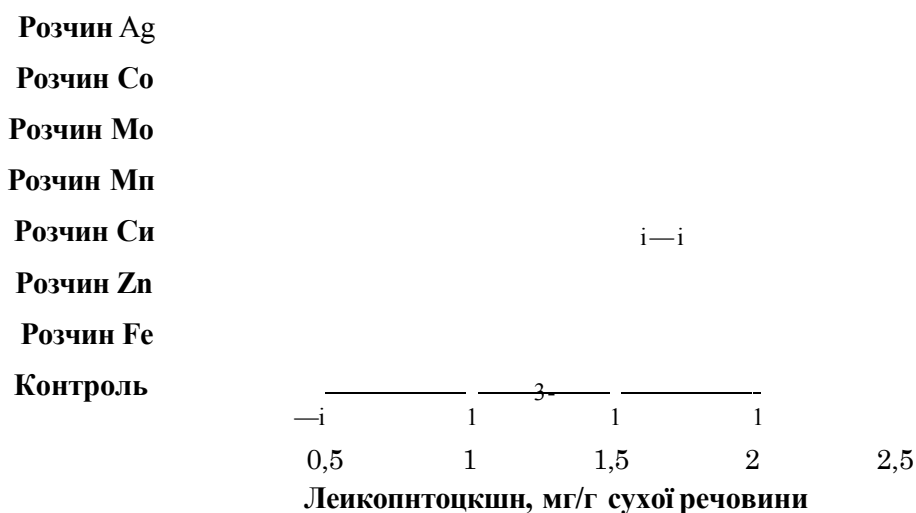


Рис. 4. Вміст лейкоантоціанів у зерні сої за передпосівної обробки нШопрепиратами, у перерахуї ну на лейкоціанідин

Результати аналізів вмісту ізофлавоїнів у зерні сої показали, що у варіантах з обробкою рослин розчинами нанопрепаратів на основі срібла, молібдену, марганцю та

заліза спостерігались достовірні зміни кількісного складу. Так їх вміст, відносно контролю, збільшився у середньому на 30% (рис. 5).

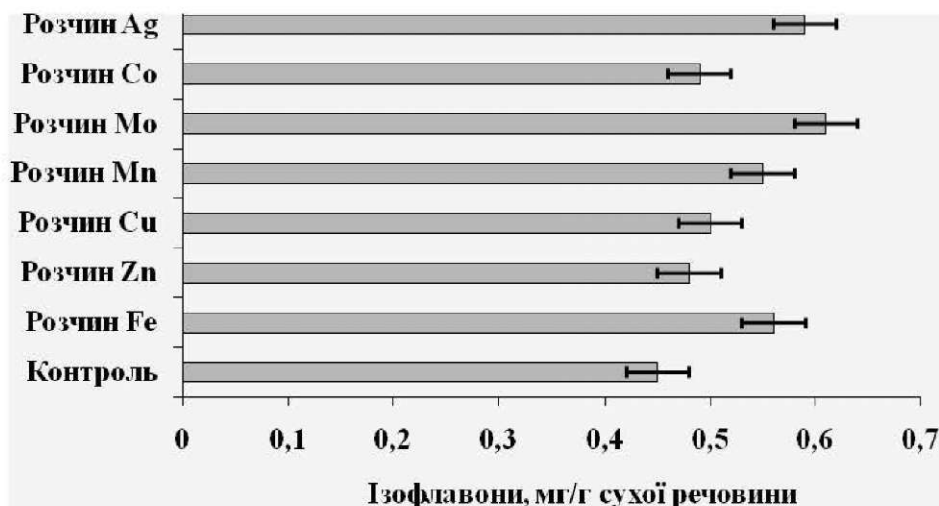


Рис. 5. Вміст ізофлавоїнів у зерні сої за передпосівної обробки нанопрепаратами, у перерахуї ну на геїїстеїї

Висновок

Доведено можливість регуляції вмісту фармакологічно активних речовин у насінні сої елементами мінерального живлення. Біофортифікація наночастинками металів сприяє підвищенню вмісту харчових та фармакологічно активних сполук фенольної природи в насінні сої. Зокрема, передпосівна обробка неїонними колоїдними розчинами наночасток металів на

основі срібла, молібдену, марганцю та заліза сприяла зростанню вмісту лейкоантоціанів, вміст ізофлавоїнів збільшився у середньому на 30% відносно контролю. Також було відмічено достовірне зростання вмісту поліфенолів, що може свідчити про позитивний вплив передпосівної обробки неїонними колоїдними розчинами наночасток металів на синтез та акумуляцію сполук фенольної природи у насінні сої.

Література

1. Бурлака О.М. Рослинні біотехнології: біофортificaція харчових рослин/Бурлака О.М., Сорочинський Б.В.// 2010 .- Київ. ДІА.- 88С.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта.//Доспехов Б.А.// 5 изд., перераб. и доп. - М.: Агрпромиздат, 1985. - 351 с.
3. Aldercreutz C. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk//C. Aldercreutz //J. Nutrit. -1995 - Vol. 25. - N13. - P. 757-770.
4. Anderson J.J. Orally dosed genistein from soy and prevention of cancerous bone loss in two ovariectomized rat models //J.J. Anderson, W.W. Ambrose, S.C. Gamer //J. Nutrit. - 1995. - Vol. 123. - P. 799.
5. Anthony M. Effects of soy protein and phytoestrogens on cardiovascular risk factors in rhesus monkeys/ M. Anthony, T. Clarkson, D. Weddle, M. Wolfe //J. Nutrit. - 1995. - Vol. 25. - N 3. - P. 803-804.
6. Cassidy A. Biological effects of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women /A. Cassidy, S. Bingham, K. D. Setchell//Amer. J. Clinic. Nutrit. - 1994. - Vol. 60. - P. 333-340.
7. Malencic D. Phenolic Content and Antioxidant Properties of Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Seeds /D. Malencic, M. Popovic, J. Miladinovic //Molecules, 2007 - 12 - P. 576-581.
8. Hagerman A. Quantification of Tannins in Tree Foliage - a Laboratory Manual/ A. Hagerman, I. Harvey-Mueller, H.P.S. Makkar //FAO/IAEA: Vienna, 2000.
9. Kitamura K. Low isoflavone content in some early maturing cultivars so-called summer-type soybeans / K. Kitamura, K. Igita, A. Kikuchi, S. Kudou, K. Okubo //Jpn. J. Breed. - 1991. - Vol. 41. - P. 651-654.
10. Liggins J. Extraction and quantification of daidzein and genistein in food /J. Liggins, L.J.C. Bluck, W.A. Coward, A. Bingham //Anal. Biochem. - 1998. - Vol. 264. - P. 1-7.
11. Lori Coward N. Daidzein and their (3-glycosidic conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets /N. Lori Coward, C.B.K.D.R. Setchell, S. Genistein Barnes //J. Agric. Food Chem. - 1993. - Vol. 41. - P. 1961-1967.
12. Marckam K.R. Methods in Plant Biochemistry/ K.R. Marckam //Academic Press: London, 1989.
13. Messina M. The role of soybean products in reducing cancer risks / M. Messina, S. Barnes // Journal Of The National Cancer Institute. - 1991. - V. 83. - P. 541-546.
14. Messina M. Soy intake and cancer risk: A review of the in vitro and in vivo data /M. Messina, V. Persky, K. Setchell, S. Barnes //Nutrition Cancer. - 1994. - Vol. 27. - N 2. - P. 113-131.
15. Miyazawa M. Antimutagenic activity of isoflavones from soybeans seeds (*Glycine max* Merrill) /M. Miyazawa, K. Sakano, S. Nakamura, H. Kosaka //J. Agric. Food Chem. - 1999. - V. 47. - P. 1346-1349.
16. Pariza M. Soybeans inhibit mammary tumours in models of breast cancer /M. Pariza, H. Aeschbacher, J. Felton, S. Sato // Mutagens and carcinogens in the diet. - New York: Wiley-Liss, 1990. - P. 239-253.
17. Potter S. Soy protein and cardiovascular disease: The impact of bioactive components in soy /S. Potter //Nutrition Reviews. - 1998. - Vol. 56. - N 8. - P. 231-235.
18. Rishi R.K. Phytoestrogens in health and illness/R.K. Rishi // Indian J. Pharmacol. - 2002. - Vol. 34. - P. 311-320.
19. Singleton V.L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents / V.L. Singleton, J.A. Rossi //Am. J. Enol. Vitic. - 1965-16- P.144-58.
20. Tannin assay Adapted from A.E. Hagerman and L.G. Butler. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. /A.E. Hagerman, L.G. Butler //J. Agric. Food Chem. 1978-26-P.809-812.
21. Tsukamoto C. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: Changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development / C. Tsukamoto, S. Shimada, K. Igita, S. Kudou, M. Kokubun, K. Okubo, K. Kitamura //J. Agric. Food Chem. - 1995. - Vol. 43. - P. 1184-1192.
22. Vishal S. Influence of Metal Nanoparticles on the Soil Microbial Community and Germination of Lettuce Seeds/Vishal Shah, I. Belozeroва // Water Air Soil Pollut. - 2009 - 197-P.143-148.
23. Wang C. Isoflavone content among maturity group 0 to II soybean s/ C. Wang, M. Sherrard, S. Pagadola, R. Wixon, R.A. Scott// J. Am. Oil Chem. Soc. - 2000. - Vol. 77. - P. 483-487.
24. Wei H. Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein /H. Wei, R. Bowen, Q. Cai, S. Barnes, Y. Wang // Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. - 1995. - V. 208. - P. 124-130.
25. Xu B. Characterization of phenolic substances and antioxidant properties of food soybeans grown in the North Dakota-Minnesota region/B. Xu, S.K. Chang //J. Agric. Food Chem. - 2008 - 56(19) - P. 9102-13.

Надійшла до редакції 12.04.2012

УДК 691.581.143: 546.48

О.В. Ситар, А.М. Косян, Н.В. Новицька,
Л.М. Бацманова, Н.Ю. Таран

ВМІСТ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ФЕНОЛЬНОЇ ПРИРОДИ У НАСІННІ СОЇ (*GLYCINE MAX* (L.) MERR.) ЗА ДІЇ НЕІОННИХ КОЛОЇДНИХ РОЗЧИНІВ НАНОЧАСТОК МЕТАЛІВ

Ключові слова: соя, наночастинки металів, лейкоантоціани, ізофлавонони, таніни.

У даній роботі досліджено вплив передпосівної обробки насіння сої розчинами наночастинок металів для регуляції його біохімічного складу, як джерела фармакологічно важливих сполук фенольної природи. Встановлено позитивний вплив обробки насіння сої неіонними колоїдними розчинами наночастинок на основі срібла, молібдену, марганцю та заліза для зростання вмісту лейкоантоціанів, ізофлавононів та поліфенолів у насінні сої.

Біологія та фармація

О.В. Ситар, А.М. Косян, Н.В. Новицкая,
Л.М. Бацманова, Н.Ю. Таран

СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В СЕМЕНАХ СОИ (GLYCINE MAX (L.) MERR.) ЗА ДЕЙСТВИЯ НЕИОННЫХ КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРОВ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ

Ключевые слова: соя, наночастицы металлов, лейкоантоцианы, изофлавоны, танины.

В данной работе исследовано влияние предпосевной обработки семян сои растворами наночастиц металлов для регуляции его биохимического состава, как источника фармакологически важных соединений фенольной природы. Установлено положительное влияние обработки семян сои неионными коллоидными растворами наночастиц на основе серебра, молибдена, марганца и железа для роста содержания лейкоантоцианов, изофлавонов и полифенолов в семенах сои.

O.V. Sytar, A.M. Kosyan, N.V. Novicka,
L.M. Bacmanova, N.U. Taran

THE CONTENT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF PHENOLIC NATURE IN THE SEEDS OF SOYBEAN (GLYCINE MAX (L.) MERR.) UNDER THE ACTION OF IONIC COLLOIDAL SOLUTIONS OF METAL NANOPARTICLES

Key words: soybean, nanoparticles of metals, leucoanthocyanins, isoflavones, tannins.

The effect of before sowing processing of soybean seeds by solutions of metals nanoparticles on the content leucoanthocyanins, isoflavones, polyphenols and tannins in the seeds of soybeans has been investigated. The positive effect in increasing content of leucoanthocyanins, isoflavones and polyphenols in soybean seeds after their treatment by solutions of metal nanoparticles based on silver, molybdenum, manganese and iron was recorded.

Роботу виконано за фінансової підтримки Державного агентства з питань науки, інновацій та інформатизації України (за договором № ДЗ/493-2011 від 29 вересня 2011 р.).

УДК 581.92 (477,87) (234,421)

- Л.М. Боднар, здоб. каф. ботаніки
- Ужгородський національний університет

ЗАПАСИ ТРАВИ ЧИСТОТІЛУ ЗВИЧАЙНОГО (CHELIDONIUM MAJUS L.) В ЗАКАРПАТСЬКІЙ ОБЛАСТІ

Однією з важливих проблем сьогодення є вивчення біорізноманіття і фіторізноманіття.

Важливою складовою флори є група рослин, які активно експлуатуються людиною. Це лікарські, харчові, кормові, медоносні, декоративні, технічні рослини. Останнім часом зростає потреба до узагальнення результатів флористичних, філогенетичних, етномедичних, фітохімічних, фітотоксикологічних, фармакологічних і досліджень регіональних флор [9].

Флора Закарпатської області багата і оригінальна і містить великі потенційні можливості для використання у практичних цілях, і в першу чергу - лікарська флора.

З кожним роком збільшується об'єм заготівлі лікарської сировини з метою виготовлення фітопрепаратів. Перевага рослинних ліків перед синтетичними полягає у тому, що при тривалому використанні не дають істотних побічних явищ, а їхній хімічний склад наближається до організму людини. Побічна та небажана дія багатьох синтетичних препаратів, зокрема алергічні реакції, призводять до ширшого використання препаратів рослинного походження. А надмірне вживання хімічних лікарських препаратів за останні десятиліття призвело до появи нової нозологічної форми - симптому так званої «лікарської хвороби». Тому потреба використання лікарських препаратів рослинного походження залишається постійно актуальною, навіть у нинішній період розвитку надзвичайно

високого рівня розвитку фармацевтичної хімії [9].

Але безконтрольна заготівля лікарської сировини та інтенсивна експлуатація природних заростей і відсутність лімітів об'єму щорічної заготівлі приводять до скорочення ареалів лікарських рослин через деградацію популяцій. Для планування об'ємів заготівлі необхідно знати величину виявлених запасів і строки відновлення популяцій після закінчення заготівлі. Природні осередки лікарських рослин потребують наукового, раціонального використання та інвентаризації з максимальним збереженням у природі відновних потенціалів видів.

Вивчення запасів лікарських рослин проводили співробітники кафедри Ужгородського університету Комендар В.І., Сабадош В.І., Будніков Г.Б., Мигаль А.В., Фельбаба - Клушина Л.М. у 1971., 1988., 1994 роках. Але під впливом антропогенних факторів проходить зміна рослинності області, тоді як заготівля лікарської сировини збільшується, і тому потрібна періодична інвентаризація запасів дикорослих лікарських рослин в області.

Метою наших досліджень було вивчення сучасного стану популяції *Chelidonium majus* (чистотілу звичайного), встановлення запасів лікарської сировини і можливих заготівель на території Закарпатської області.

Матеріали та методи дослідження

Потреба у проведенні нашого дослідження з обраної