

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

Odesa National University Herald

•

Вестник Одесского  
национального университета

•

# ВІСНИК ОДЕСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

Серія: *Біологія*

Науковий журнал  
Виходить 2 рази на рік  
Серія заснована у липні 2007 р.

**Том 25, випуск 1(46) 2020**

Одеса  
ОНУ  
2020

**Засновник та видавець:**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

**Редакційна рада журналу:**

І. М. Коваль, д-р політ. наук (голова ред. ради); В. О. Іваниця, д-р біол. наук (заступник голови ред. ради); С. М. Андрієвський, д-р фіз.-мат. наук; В. В. Глебов, канд. іст. наук; Л. М. Голубенко, канд. філол. наук; Л. М. Дунаєва, д-р політ. наук; В. В. Заморов, канд. біол. наук; О. В. Запорожченко, канд. біол. наук; О. А. Іванова, д-р наук із соц. комунікацій; В. Є. Круглов, канд. фіз.-мат. наук; В. Г. Кушнір, д-р іст. наук; В. В. Менчук, канд. хім. наук; М. О. Подрезова, директор Наукової бібліотеки; Л. М. Солдаткіна, канд. хім. наук; В. І. Труба, канд. юрид. наук; В. М. Хмарський, д-р іст. наук; Є. А. Черкез, д-р геол.-мінерал. наук; Є. М. Черноіваненко, д-р філол. наук.

**Редакційна колегія журналу:**

А. Бюрнер, д.б.н., професор (Німеччина); С. Верба, к.б.н., (Польща); В. В. Заморов, к.б.н., доцент (Україна); В. О. Іваниця, д.б.н., професор (Україна); К. Ковальчик, д.б.н., професор (Польща); С. Н. Оленін, професор (Литва); С. А. Петров, д.б.н., професор (Україна); М. Ю. Русакова, к.б.н., доцент (Україна); З. Селка, к.б.н., (Польща); В. А. Трач, к.б.н., доцент (Україна); Г. Федак, професор (Канада); П. М. Царенко, д.б.н., професор (Україна); С. В. Чеботар, д.б.н., член-кор. НААНУ (Україна) – *науковий редактор*; Т. Г. Алексєєва, к.б.н., доцент (Україна) – *відповідальний секретар*; Г. В. Майкова, к.б.н., доцент (Україна) – *відповідальний секретар*.

«Вісник Одеського національного університету. Біологія»  
входить до Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»).

Затверджено наказом МОН України № 1301 від 15.10.2019 р.

Українською, російською та англійською мовами

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу інформації  
Серія KB № 11455-328P від 7.07.2006 р.

Затверджено до друку Вченою радою  
Одеського національного університету  
імені І. І. Мечникова. Протокол № 11 від 23.06.2020 р.

**Адреса редакції:** 65082, м. Одеса, вул. Дворянська, 2  
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,  
Тел: (+380-48) 68-79-32  
E-mail: gerald.biology.onu@gmail.ru

## ЗМІСТ

### БІОХІМІЯ

Зеленюк К. В., Голіченко О. А., Штеменко О. В., Штеменко Н. І. ПОРІВНЯННЯ ЦИТОТОКСИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЦИСПЛАТИНУ ТА КЛАСТЕРНОЇ СПОЛУКИ РЕНІУ (III) .....	9
---	---

### БОТАНІКА І ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН

Павленко А. О., Красова О. О., Коршиков І. І., Баранець М. О. СОЗОФІТИ У ПОСТМАЙНІНГОВИХ ЛАНДШАФТАХ КРИВБАСУ .....	23
Ткаченко Ф. П., Опалько Т. І. БАЗИДІАЛЬНІ ГРИБИ-КСИЛОТРОФИ ЗЕЛЕНИХ НАСАДЖЕНЬ МІСТА ОДЕСИ .....	42

### ГЕНЕТИКА ТА МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ

Алексєєва Т. Г., Шерен А. В., Білоконь С. В. ОЦІНКА ВПЛИВУ ХАРЧОВИХ БАРВНИКІВ НА <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> MEIGH .....	55
Сидоренко М. В., Чеботарь С. В. ВПЛИВ ПОСУХИ НА ПШЕНИЦЮ НА РІЗНИХ СТАДІЯХ РОСТУ .....	67
Шестопад О. Л., Замбріборщ І. С., Шпак Д. В., Алексєєва Т. Г., Афіногенов О. А. ОЦІНКА РЕГЕНЕРАЦІЙНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ГІБРИДНОГО МАТЕРІАЛУ РИСУ ПОСІВНОГО ( <i>ORYZA SATIVA</i> L.) .....	88

### ЗООЛОГІЯ

Микитин Т. В., Стефурак В. П. ВПЛИВ ЦЕМЕНТНОГО ПИЛУ НА УГРУПОВАННЯ МУРАХ (HYMENOPTERA, FORMICIDAE) .....	99
--	----

### ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН

Клімова О. М., Божков А. І., Сушков С. В., Лавінська О. В., Биченко К. О., Агаркова А. М., Ворфоломєєва В. І., Кургузова Н. І. ЕФЕКТИ ПІСЛЯ ІМУНІЗАЦІЇ ТВАРИН МІАСТОГЕННИМИ СИРОВАТКАМИ КРОВІ З РІЗНИМ СТУПЕНЕМ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ .....	111
Макаренко О. А., Майкова Г. В., Кириленко Н. А., Еберле Л. В. ОБМІН РІЗНИХ ФОРМ КАЛЬЦІУ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ З ПРЕДНІЗОЛОНОВИМ ОСТЕОПОРОЗОМ .....	123
Янко Р. В., Чака О. Г., Літовка І. Г. ВПЛИВ ДОЗОВАНОЇ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ГЕПАТОЦИТІВ НОРМОТЕНЗИВНИХ І ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ .....	132

## **ІСТОРІЯ ФАКУЛЬТЕТУ ТА УНІВЕРСИТЕТУ**

**Васильєва Т. В., Коваленко С. Г., Бондаренко О. Ю., Немерцалов В. В.**

**ЗБОРИ ДОСЛІДНИКІВ УГОРСЬКОЇ ФЛОРИ ХІХ СТ. У ГЕРБАРІЇ**

**Е. Е. ЛІНДЕМАННА (MSUD) ..... 145**

**ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ ..... 156**

## CONTENTS

### BIOCHEMISTRY

<b>Zeleniuk K. V., Golichenko A. A., Shtemenko A. V., Shtemenko N. I.</b> COMPARISON OF CYTOTOXIC ACTIVITY OF CISPLATIN AND A CLUSTER RHENIUM (III) COMPOUND .....	9
--	---

### BOTANY AND PLANT PHYSIOLOGY

<b>Pavlenko A. O., Krasova O. O., Korshykov I. I., Baranets M. O.</b> SOZOPHYTES IN POSTMINING LANDSCAPES OF KRYVYI RIH BASIN .....	23
<b>Tkachenko F. P., Opalko T. I.</b> BASIDIAL MUSHROOMS-XYLOTROPHES OF GREEN PLANTATIONS OF TREES OF ODESA .....	42

### GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

<b>Aliexsieva T. G., Sheren A. V., Belokon S. V.</b> ASSESSMENT OF INFLUENCE OF FOOD DYES ON <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> MEIGH .....	55
<b>Sidorenko M. V., Chebotar S. V.</b> THE EFFECT OF DROUGHT ON WHEAT PLANTS AT DIFFERENT GROWTH STAGES .....	67
<b>Shestopal O. L., Zambriborshch I. S., Shpak D. V., Aliexsieva T. G., Afinogenov O. A.</b> VALUATION OF REGENERATION POTENTIAL OF RICE ( <i>ORYZA SATIVA</i> L.) HYBRID MATERIAL .....	88

### ZOOLOGY

<b>Mykityn T. V., Stefurak V. P.</b> INFLUENCE OF THE CEMENT DUST ON ANTS GROUPING (HYMENOPTERA, FORMICIDAE) .....	99
--	----

### PHYSIOLOGY OF HUMANS AND ANIMALS

<b>Klimova E. M., Bozhkov A. I., Sushkov S. V., Lavinska E. V., Bychenko E. A., Agarkova A. N., Vorfolomeeva V. I., Kurguzova N. I.</b> IMMUNOPHYSIOLOGICAL EFFECTS IN EXPERIMENTAL ANIMALS AFTER ADMINISTRATION OF MYASTHENOGENIC SERUMS WITH VARYING DEGREES OF CYTOTOXICITY .....	111
<b>Makarenko O. A., Maikova H. V., Kirilenko N. A., Eberle L. V.</b> EXCHANGE OF VARIOUS CALCIUM FORMS IN ORGANISM OF RATS WITH PREDNISOLONE OSTEOPOROSIS .....	123
<b>Yanko R. V., Chaka O. G., Litovka I. G.</b> EFFECT OF DOSED NORMOBARIC HYPOXIA ON MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES IN HEPATOCYTES OF NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RATS .....	132

## **HISTORY OF THE FACULTY AND UNIVERSITY**

**Vasylieva T. V., Kovalenko S. G., Bondarenko O.Yu., Nemertsalov V. V.**

**COLLECTIONS OF INVESTIGATORS OF XIX CENTURY HUNGARIAN FLORA**

**IN E.E. LINDEMANN'S HERBARIUM (MSUD) ..... 145**

**RULES FOR THE AUHORS ..... 156**

# **БІОХІМІЯ**





**K. V. Zeleniuk**<sup>1</sup>, junior researcher

**A. A. Golichenko**<sup>1</sup>, doctor of chemical sciences, professor of the department

**A. V. Shtemenko**<sup>1</sup>, doctor of chemical sciences, head of the department

**N. I. Shtemenko**<sup>2</sup>, doctor of biological sciences, professor of the department

<sup>1</sup>Department of inorganic chemistry, Ukrainian state university of chemical technology, 8 Gagarin Avenue, Dnipro, Ukraine, 49005

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Dnipro Technical University, Dmytro Yavornytskyi Av. 19, Dnipro, Ukraine, 49005. e-mail: n.shtemenko@i.ua. Tel. +380505896373

### COMPARISON OF CYTOTOXIC ACTIVITY OF CISPLATIN AND A CLUSTER RHENIUM (III) COMPOUND

We have shown that the cytotoxic activity of  $\text{Re}_2\text{Cl}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{CO}_2)_4$  and cisplatin was close and the cytotoxic activity of the rhenium-platinum system was much more effective than that of  $\text{Re}_2\text{Cl}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{CO}_2)_4$  and cisplatin. Liposomal formulations of investigated preparations are more effective than their solutions, due to a simplified transport mechanism and prevention of the deactivation before penetration to the cancer cell. The obtained results underline perspectives of the use of dirhenium compounds in medicines and emphasize the need of further investigations of mechanisms of anticancer activity of the cluster dirhenium (III) compounds.

**Keywords:** cluster rhenium compound; rhenium-platinum antitumor system; Jurkat cells; cytotoxic activity.

In our previous works it was shown that the cluster rhenium (III) compound dichlorotetra- $\mu$ -isobutirato-dirhenium (III)  $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$  – **I** exhibited pronounced anticancer and antiradical activities *in vivo*, especially effective in combination with cisplatin (Re-Pt system) [22]. Besides, in these and other experiments it was shown that **I** had antioxidant, hepato- and nephroprotective activity in the models of cancer growth and nephrotoxicity [2, 8, 10, 21]. To our mind the compound **I** has several structural features, which might be responsible for the above indicated properties: binuclear clustering of rhenium atoms as the main component of the molecule that is characterized by low toxicity; quadruple bond, which is responsible for antiradical and antioxidant properties; chlorine atoms, which are able to interact with polar molecules; branched alkyl groups and their symmetrical arrangement that provide hydrophobic interactions. **I** showed cytotoxicity against CEM-T4 cells and possibility to interact with supercoiled DNA [14]. Recently the dirhenium cluster compound with an amino acid ligands was tried against T-cells of acute lymphoblastic leukemia (Jurkat cells) [15] and it was shown that it had close to cisplatin toxicity but more proapoptotic than pronecrotic cisplatin action. One of the directions of further studies of the compound **I** and other cluster rhenium compounds is to find

the optimal modes of administration of **I** alone or in the Re-Pt system, in which an effective anticancer activity can be achieved. Also, further investigation of influence of new dirhenium (III) compounds and rhenium-platinum antitumor systems on the human cancer cells is of great importance.

Thus, the aim of this work was to study the influence of **I** and cisplatin in solution and in liposomal forms against T-cells of acute lymphoblastic leukemia (Jurkat cells) and to find difference and synergism in these interactions.

### Materials and Methods

Cisplatin and dichlorotetra- $\mu$ -isobutytratodirhenium (III)  $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$  (**I**) were synthesized at Ukrainian State University of Chemical Technology at the Department of Inorganic Chemistry [5, 21]. Liposomes were prepared according to a published procedure [11]. The Jurkat cells were obtained from the Institute of Cell Biology National Academy of Sciences of Ukraine (Lviv).

The following treatment variants were assessed: solution of cisplatin cPt - cPt; solution of **I** - **I**; **I** in liposomal form - [**I**]; cPt in liposomal form - [cPt]; The final concentrations of the administered rhenium substance were  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  and  $10^{-9}$  M. The rhenium-platinum system was administered in two ways: free **I** and cisplatin in molar ratio 4:1 - **I** + cPt; **I** in liposome form plus cisplatin in a molar ratio 4:1 - [**I**] + cPt so that the concentration of cisplatin was  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  and  $10^{-9}$  M.

Jurkat cells were cultured in 20 cm<sup>2</sup> Carrel glass culture flasks in medium RPMI 1640 (Sigma, USA) with addition of 10% bovine serum (Sigma, USA). The cells were passaged every two days at the concentration  $5 \times 10^5$  cells/ml of culture medium. The cells were plated in 24-well plastic plates (Sarsted, USA) at the concentration  $5 \times 10^5$  cells/ml. The studied compounds were added at various concentrations noted above. After 24, 48, 72, 96 hours of incubation, the alive and dead apoptotic cells were counted according to [9, 14]. In detail: To evaluate the viability of cells, 10  $\mu\text{l}$  of 1% trypan blue (Sigma, USA) solution was added to 100  $\mu\text{l}$  of suspension and incubated for 2-3 min. 20  $\mu\text{l}$  of coloured suspension of cells was added to a Goryaev's chamber and dead and living cells were counted with a luminescent microscope LOMO Mikmed-2 variant 12 (St. Petersburg, Russia) an increase by 200 times. Under these conditions, the living cells differed from the non-viable (dead) ones by the inability to absorb the dye [14].  $\text{LC}_{50}$  index was used, calculated as a lethal concentration of drug, which kills 50 % cells in comparison with a control culture by Reed–Muench method [17].

Statistical analysis of the obtained data was carried using the Student's t-test ( $p \leq 0.05$ ). The data were expressed as  $M \pm m$ .

### Results and discussion

The dependence of viability of the cells on the concentration of **I**, cisplatin (cPt) and the rhenium-platinum system in solutions forms is shown in Figure 1.

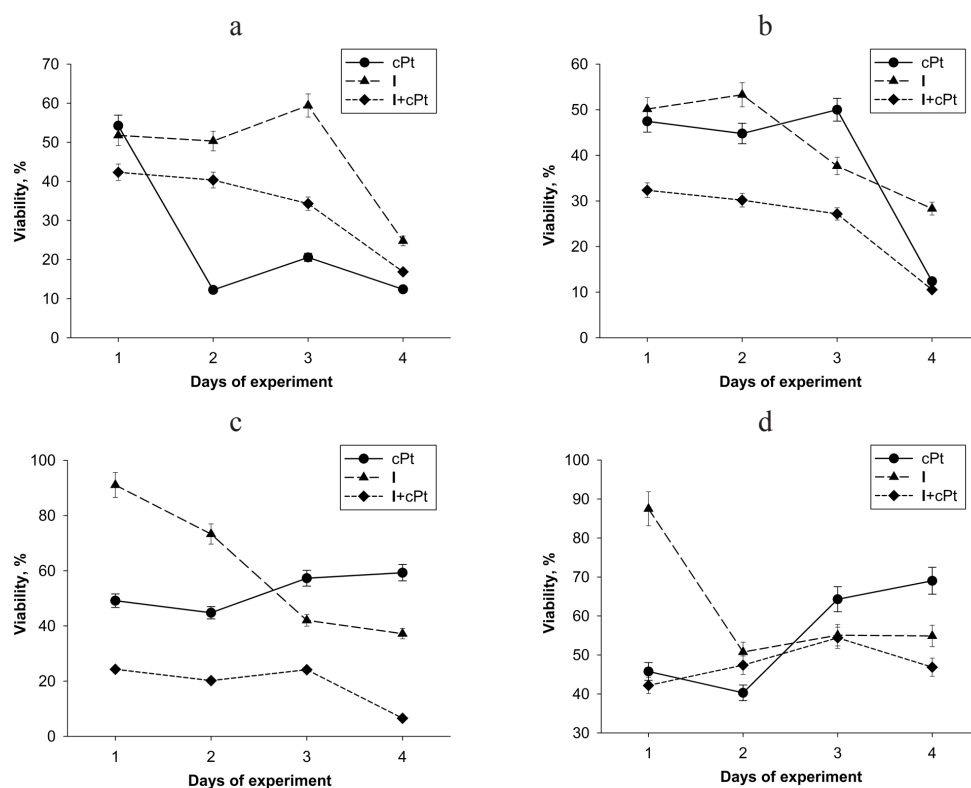


Fig. 1. Cytotoxicity of cPt, I and cPt + I in free forms in concentrations: a –  $10^{-5}$ , b –  $10^{-6}$ , c –  $10^{-7}$ , d –  $10^{-8} M$

As it is clear, the cytotoxic activity of I and cisplatin was close and the cytotoxic activity of the rhenium-platinum system was much more effective than that of I and cisplatin. There was no linear concentration dependence in obtained results for I and cisplatin in these experiments that may be explained by non-monotonic development of the Jurkat cells population, Fig. 2.

As the most intensive growth and quantity of the cells are found on the 4th day, it is reasonable to compare the results on the 4th day: under high concentration  $10^{-5} M$  of components the cytotoxic activity of the introductions has the following range  $cisPt > cisPt + I > I$ ; under concentration  $10^{-6} M$   $cPt + I = cPt > I$  and under the  $10^{-7} M$  and lower it becomes  $cisPt + I > I > cisPt$ , absolutely vice versa. It means, that in the range of low concentrations I is more effective in solutions than cisplatin and that both cytostatics had synergistic or additive effect. This may be the explanation of much lower toxicity of the rhenium compounds in our experiments with Guerink carcinoma and partly the efficacy of the dirhenium (III) based therapy. As for the rhenium-platinum system on its base, it is not possible to compare as the concentration of I in these experiments is four times higher and was introduced following the

experiments *in vivo*, where the rhenium-platinum antitumor system was introduced in the ratio 1 : 4 (cisplatin : a rhenium substance).

Introductions of the liposomes also led to death of Jurkat cells during all days of the experiment, Fig.3.

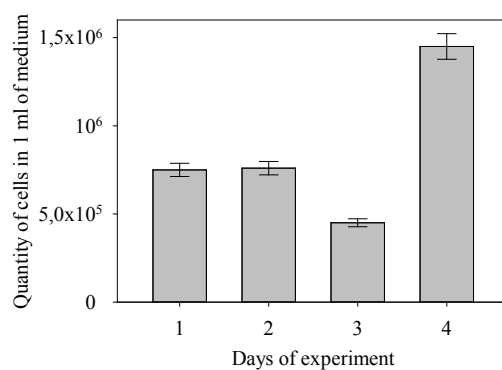


Fig. 2. Growth of Jurkat cells in control

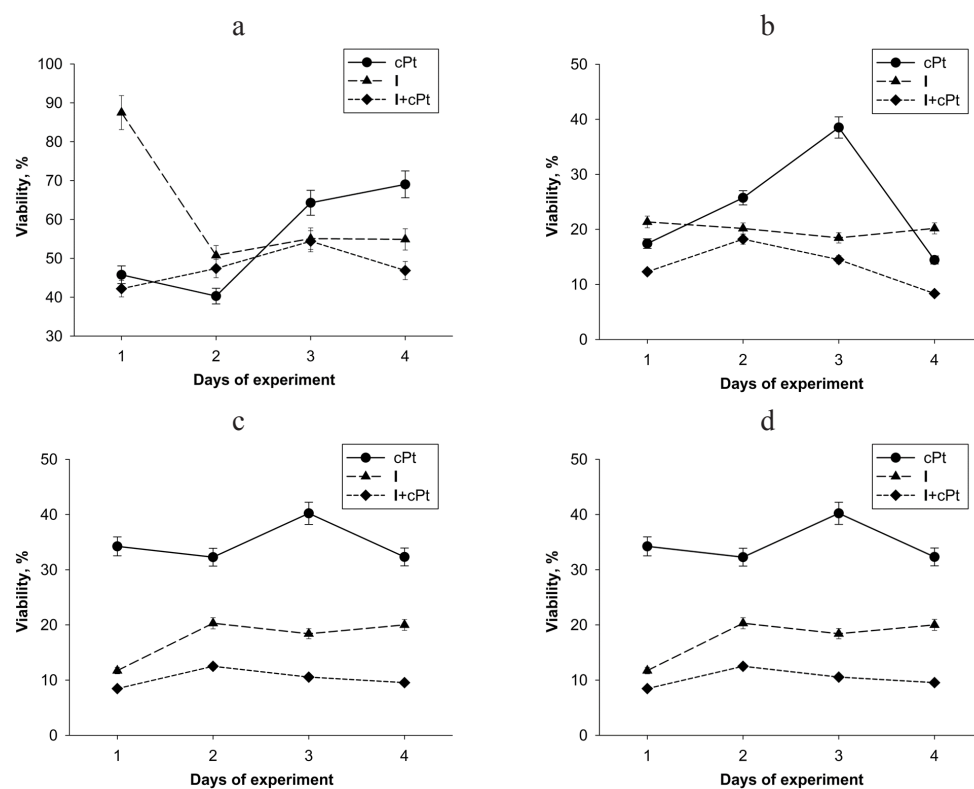


Fig. 3. Cytotoxicity of [cPt], [I] and cPt + [I] in liposomal forms in concentrations: a –  $10^{-5}$ , b –  $10^{-6}$ , c –  $10^{-7}$ , d –  $10^{-8} M$

According to the presented data, it is obvious, that liposomal formulations of all investigated preparations are more effective in these experiments than their solutions, that is not a surprise as the lipid encapsulation of rhenium compounds and cisplatin increased the concentration of these cytostatics in the cancer cell through a simplified transport mechanism and prevented the possibility to deactivate these compounds in the culture environment that leads to increasing of the compounds' reactivity [3, 24]. It is interesting that lowering of concentration of preparations decreased the efficacy only of cisplatin, neither of **I** nor of the system on its base. Unfortunately, it is very difficult to interpret such data as the mechanism of anticancer activity of the dirhenium (III) compounds is not fully investigated.

**I** had cytotoxic activity close to cisplatin in solution but had more cytotoxic activity in liposomal form; also, we have shown the significant advantage of cytotoxic activity of the system in liposomal forms as compared to cisplatin, Fig. 4.

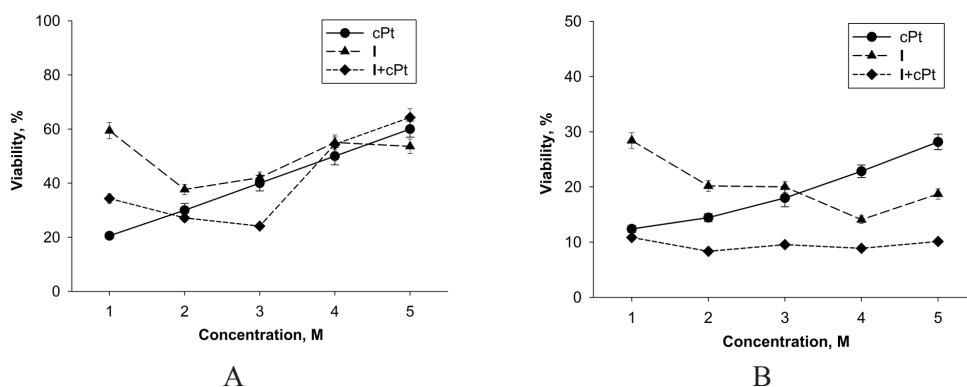


Fig. 4. Viability of Jurkat cells under changing of concentrations of components ( $1 - 10^{-5}$ ,  $2 - 10^{-6}$ ,  $3 - 10^{-7}$ ,  $4 - 10^{-8}$ ,  $5 - 10^{-9}$  M) on the 4<sup>th</sup> day of experiments:

A – introduction of components in solution; B – introduction of components in liposomes

$LC_{50}$  for free cisplatin on this cell line was calculated and was  $1.92 \cdot 10^{-6}$  M [16], the same value can be obtained for cisplatin from our data presented in Fig. 4 A. It is difficult to calculate  $LC_{50}$  for other substances in our investigation because they do not have linear concentration dependences, especially the system, but from the data in Fig. 4 we may conclude that [**I**] and [**I** + cPt] have  $LC_{50}$  in the range of  $10^{-8}$  M, which is comparable with the  $LC_{50}$  values for the known antitumor drugs obtained on the same cell line, such as taxol (Paclitaxel [12], doxorubicin, newly synthesized heterocyclic 4-thiazolines, landomycin A, adriamycin [9] and palladium complexes with organic ligands [1].

The absence of linear dependence of cytotoxic activity on concentration may be explained by the fact that dirhenium(III) compounds were characterized by hydrolysis in aqueous solutions, the speed of which depended on the pH and on the structure of the complex [6].

Cisplatin is a prooxidant and cluster rhenium compounds are powerful antioxidants, which was shown in numerous works [18-20, 22]. Chemotherapy of redox modulation, aimed at changing the level of reactive oxygen species (ROS) in cancer cells is considered a promising strategy in cancer care. So, the prooxidants, increasing ROS level in cancer cell, led to its death. But some antioxidants were shown to exhibit cytotoxic effects, such as umbeliprenin (terpenoid coumarin,  $\pi$ -conjugated antioxidant) caused apoptotic death of Jurkat cells ( $LC_{50}=25\mu M$ ), even in the presence of interleukin [22], which initiated resistance to apoptotic death of leukaemic cells [26]. Some antioxidants such as sodium selenite, selenomethionine, D-pantetine were tried in several Jurkat cells [9, 14], but they even reduced the toxicity of doxorubicin. The anticancer effect of such antioxidants as curcuminoids is well-known [13, 25]. It was explained by inhibition of NF- $\kappa$ B pathway by reducing ROS concentrations that were shown to be signaling molecules for NF- $\kappa$ B pathway and directly inhibited immune competent cells (ICC) - kinase activity by modifying cysteine residues critical for functioning of cancer cells [4, 7]. As signalling pathways of cancer cells that are influenced by cluster rhenium compounds have not been studied; as some of these compounds interact with DNA and histidine residues of proteins depending on the structure and orientation of the ligands around the cluster fragment, i.e., additionally have diverse coordination functions [22], in our opinion, the anticancer effect of these compounds depends not only on their antioxidant properties, but also on their possibility to influence other regulatory processes of cancer cell.

### Conclusions

1. We have shown that the cytotoxic activity of **I** and cisplatin was close and the cytotoxic activity of the rhenium-platinum system was much more effective than that of **I** and cisplatin.
2. In the range of low concentrations **I** is more effective in solutions than cisplatin that may be the explanation of much lower toxicity of the rhenium compounds and their efficacy in experiments *in vivo*.
3. Liposomal formulations of the investigated preparations are more effective than their solutions, due to a simplified transport mechanism and prevention of the deactivation before penetration into the cancer cell.
4. Liposomal **I** and antitumor system on its base have  $LC_{50}$  in the range of  $10^{-8}$  M, that is comparable with the  $LC_{50}$  values for the known antitumor drugs and underlines the importance of further investigations of the rhenium cluster compounds as anticancer species.
5. The obtained results emphasize perspectives of the use of dirhenium compounds in medicines and the need of further investigations of mechanisms of anticancer activity of the cluster dirhenium (III) compounds.

## Acknowledgment

We wish to thank Professor Stoika R.S. from the Institute of Cell Biology of National Academy of Sciences of Ukraine (Lviv) for his kindly help in the experimental work.

## References

1. Antunovic M. Cytotoxic activity of novel palladium-based compounds on leukemia cell lines / M. Antunovic, B. Kriznik, E. Ulukaya [et al.] // *Anti-Cancer Drugs*. – 2015. – Vol. 26(2). – P. 180-186. doi: <http://dx.doi.org/10.1097/CAD.0000000000000174>
2. Babii S. O. Changes of the state of rat kidneys under Guerin carcinoma development and use of cytostatics / S. O. Babii, T. O. Loskutova, N. I. Shtemenko // *Ukr. biokhim. zh.* – 2012. – Vol. 84(3). – Vol. 63-71. (In Ukrainian)
3. Centerwall C. R. Modification and uptake of a cisplatin carbonato complex by Jurkat cells / C. R. Centerwall, K. A. Tacka, D. J. Kerwood [et al.] // *Mol. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 70. – P. 348–355. doi: <http://dx.doi.org/10.1124/mol.106.023184>
4. Gilmore T. D. Inhibitors of NF-kappaB signaling: 785 and counting / T. D. Gilmore, M. Herscovitch // *Oncogene*. – 2006. – Vol. 25. – P. 6887-6899. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1209982>
5. Golichenko A. A. Crystal structure of cis-bis( $\mu$ - $\beta$ -alanine- $\kappa^2$ O'O')bis[trichloridorhenium(III)] (Re–Re) sesquihydrate / A. A. Golichenko, K. V. Domasevitch, D. E. Kytova [et al.] // *Acta Cryst., Sect. E*. – 2015. – Vol. E71. – P. 45-47. <http://dx.doi.org/10.1107/S2056989014026620>
6. Golichenko A. Hydrolysis of rhenium(III) cluster compounds / A. Golichenko, A. Shtemenko // *Ukr. Chem. J.* – 2019. – Vol. 85(3). – P. 27-34. (In Ukrainian) doi: <https://doi.org/10.33609/6045.85.3.2019.27-34>
7. Gupta S. C. Inhibiting NF- $\kappa$ B activation by small molecules as a therapeutic strategy / S. C. Gupta, C. Sundaram, S. Reuter [et al.] // *Biochem Biophys Acta*. – 2010. Vol. 1799(10-12). – P. 775-787. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagg.2010.05.004>
8. Ivchuk V. V. Influence of antitumor system rhenium-platinum on the biochemical state of liver / V. V. Ivchuk, T. N. Polishko, O. A. Golichenko [et al.] // *Ukr. Biokhim. Zh.* – 2011. – V.83, N3. – P.76–84. (In Ukrainian)
9. Lehka L. The role of reactive oxygen species in tumor cells apoptosis induced by landomycin / L. Lehka, R.R. Panchuk, W. Berger [et al.] // *Ukr. Biochem. J.* – 2015. – Vol. 87(5). – P. 72-82. doi: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj87.05.072>
10. Leus I. V. Antioxidant and antitumor activity of dirhenium dicarboxylates in animals with Guerin carcinoma / I. V. Leus, K. L. Shamelashvili, O. D. Skorik [et al.] // *Ukr. Biokhim. Zh.* – 2012. – V.84, N3. – P.87-96. (In Ukrainian)
11. Li Z. Liposomes Loaded with a Dirhenium Compound and Cisplatin: Preparation, Properties and Improved in vivo Anticancer Activity / Z. Li, N. Shtemenko, D. Yegorova [et al.] // *J. of Liposome Research*. – 2015. – V.25, N1 – P.78-87. doi: <http://dx.doi.org/10.3109/08982104.2014.954127>
12. Liebmann J. E. Cytotoxic studies of paclitaxel (Taxol) in human tumour cell lines / J. E. Liebmann, J. A. Cook, C. Lipschultz [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 1993. – Vol. 68(6). – P. 1104-1109. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.1993.488>
13. Olivera A. Inhibition of the NF- $\kappa$ B signaling pathway by the curcumin analog, 3,5-Bis(2-pyridinylmethylidene)-4-piperidone (EF31): Anti-inflammatory and anti-cancer properties / A. Olivera, T. W. Moore, F. Hu [et al.] // *Int. Immunopharmacology*. – 2012. – Vol. 12(2). – P. 368-377. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2011.12.009>
14. Panchuk R. Specific antioxidant compounds differentially modulate cytotoxic activity of doxorubicin and cisplatin: in vitro and in vivo study / R. Panchuk, N. Skorokhlyd, V. Chumak [et al.] // *Croat. Med. J.* – 2014. Vol. 55(3). – P. 206–217. doi: <http://dx.doi.org/10.3325/cmj.2014.55.206>
15. Paramonova K. The interaction of DNA with cluster rhenium compounds of different structural types / K. Paramonova, A. Golichenko, S. Babiy [et al.] // *World of Med. and Biol.* – 2016. – Vol. 56(2). – P. 140-144. (In Ukrainian)

16. Polokhina K. V. Antiproliferative activity of the cluster rhenium compound with  $\beta$ -alanine ligands / K. V. Polokhina, D. E. Kytova, A. V. Shtemenko [et al.] // Ukr. Biochem. J. – 2020. – Vol. 92, N 1. – P. 120-126. (In Ukrainian) <https://doi.org/10.15407/ubj92.01.120>
17. Ramakrishnan M. A. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. / M. A. Ramakrishnan // World J. Virol. – 2016. – Vol. 5(2). P. 85-86. doi: <http://dx.doi.org/10.5501/wjv.v5.i2.85>
18. Shtemenko N. I. Liposomal forms of rhenium cluster compounds: enhancement of biological activity / N. I. Shtemenko, O. V. Berzenina, D. E. Yegorova [et al.] // Chem. Biodiversity. – 2008. – Vol. 5. – P. 1660-1667. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.200890153>
19. Shtemenko A. V. Synthesis, characterization, in vivo antitumor properties of the cluster rhenium compound with GABA ligands and its synergism with cisplatin / A. V. Shtemenko, P. Collery, N. I. Shtemenko [et al.] // Dalton Trans. – 2009. – Vol. 26. – P. 5132-5136. doi: <http://dx.doi.org/10.1039/b821041a>
20. Shtemenko N. I. Synthesis, X-ray structure, interactions with DNA, remarkable in vivo tumor growth suppression and nephroprotective activity of cis-tetrachloro-dipivalato dirhenium(III) / N. I. Shtemenko, H. T. Chifotides, K. V. Domasevitch [et al.] // Journal of Inorganic Biochemistry. – 2013. – Vol. 129. – P. 127-134. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.001>
21. Shtemenko A. V. Synthesis and X-ray crystal structure of the dirhenium complex  $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{CO}_2)_4\text{Cl}_2$  and its interactions with the DNA purine nucleobases / A. V. Shtemenko, H. T. Chifotides, D. E. Yegorova [et al.] // J. Inorg. Biochem. – 2015. – Vol. 153. – P. 114-120. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.06.01>
22. Shtemenko A. V. Rhenium–platinum antitumor systems (review) / A. V. Shtemenko, N. I. Shtemenko // Ukr. Biochem. J. – 2017. – Vol. 89, N 2. – P. 5-30. doi: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj89.02.005>
23. Shamelashvili K. L. Changes in oxidative stress intensity in blood of tumor-bearing rats following different modes of administration of rhenium-platinum system / K. L. Shamelashvili, N. I. Shtemenko, I. V. Leus [et al.] // Ukr. Biochem. Journal. – 2016. – Vol. 88, N 4. – P. 29-39. (In Ukrainian) doi: <https://doi.org/10.15407/ubj88.04.029>
24. Tacka K. A. Effects of cisplatin on mitochondrial function in Jurkat cells / K. A. Tacka, J. C. Dabrowiak, J. Goodisman [et al.] // Chem. Res. Toxicol. – 2004. – Vol. 17(9). – P. 1102-1111. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/tx0499564>
25. Wilken R. Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma / R. Wilken, M. S. Veena, M. B. Wang [et al.] // Molecular cancer. – 2011. – Vol. 10(12). – P. 1-19. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1476-4598-10-12>
26. Ziai S. A. Umbelliprenin induces apoptosis in CLL cell lines / S. A. Ziai, O. Gholami, M. Iranshahi [et al.] // Iran J. Pharm. Res. – 2012. – Vol. 11. – P. 653-659.

К. В. Зеленюк<sup>1</sup>, О. А. Голіченко<sup>1</sup>, О. В. Штеменко<sup>1</sup>, Н. І. Штеменко<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет»,  
пр. Гагаріна, 8, Дніпро, Україна, 49005

<sup>2</sup>НТУ «Дніпровська політехніка»,  
вул. Д. Яворницького, 19, Дніпро, Україна, 49005;

<sup>3</sup>ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет»,  
пр. Гагаріна, 8, Дніпро, Україна, 49005. E-mail: n.shtemenko@i.ua.

## ПОРІВНЯННЯ ЦИТОТОКСИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЦИСПЛАТИНУ ТА КЛАСТЕРНОЇ СПОЛУКИ РЕНІЮ (III)

### Резюме

У зв'язку з попередніми даними про протипухлинну активність кластерних сполук ренію (III) і їх синергізм з цисплатином великий інтерес представляють порівняльні дослідження впливу цих сполук з цисплатином на лейкозні клітини людини. Мета роботи - порівняти цитотоксичну активність кластерної сполуки ренію  $\text{Re}_2\text{Cl}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{CO}_2)_4$  (I) у розчинах і наноліпосомах окремо і разом з цисплатином у клітинах Jurkat. Цитотоксичність цих речовин досліджували щодо Т-клітин гострого лімфобластного лейкозу (клітин Jurkat) загальноприйнятими методами. Показано, що цитотоксична активність I і цисплатину має близькі значення, а цитотоксична активність системи реній-платина була значно ефективнішою, ніж у I та цисплатину. У діапазоні низьких концентрацій I більш ефективний у розчинах, ніж цисплатин, що може бути поясненням значно меншої токсичності сполук ренію та їх ефективності в експериментах *in vivo*. Ліпосомальні форми досліджених препаратів більш ефективні, ніж їх розчини, завдяки спрощеному транспортному механізму і запобіганню дезактивації перед проникненням у ракову клітину. Ліпосомальна форма I і протипухлинна система на її основі мають  $\text{LC}_{50}$  у діапазоні  $10^{-8}$  М, що можна порівняти зі значеннями  $\text{LC}_{50}$  для відомих протипухлинних препаратів і підкреслює важливість подальших досліджень кластерних сполук ренію як протипухлинних речовин. Отримані результати підкреслюють перспективність використання сполук диренію (III) у медицині і необхідність подальших досліджень механізмів протипухлинної активності кластерних сполук ренію (III).

**Ключові слова:** кластерна сполука ренію; реній-платинова протипухлинна система; цитотоксична активність; апоптоз.

### References

1. Antunovic M., Kriznik B., Ulukaya E. [et al.] (2015) «Cytotoxic activity of novel palladium-based compounds on leukemia cell lines», *Anti-Cancer Drugs.*, 26(2), pp. 180–186. doi: <http://dx.doi.org/10.1097/CAD.0000000000000174>.
2. Babii S. O., Loskutova T. O., Shtemenko N. I. (2012) «Changes of the state of rat kidneys under Guerin carcinoma development and use of cytostatics», *Ukr. biokhim. zh.*, 84(3), pp. 63–71. (In Ukrainian).
3. Centerwall C. R., Tacka K. A., Kerwood D. J. [et al.] (2006) Modification and uptake of a cisplatin carbonate complex by Jurkat cells, *Mol. Pharmacol.*, 70, pp. 348–355. doi: <http://dx.doi.org/10.1124/mol.106.023184>.

4. Gilmore T. D., Herscovitch M. (2006) Inhibitors of NF-kappaB signaling: 785 and counting / T. D. Gilmore, *Oncogene*, 25, pp. 6887-6899. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1209982>.
5. Golichenko A. A., Domasevitch K. V., Kytova D. E. [et al.] (2015) Crystal structure of cis-bis( $\mu$ - $\beta$ -alanine- $\kappa^2$ O:O')bis[trichloridorhenium(III)] (Re-Re) sesquihydrate, *Acta Cryst., Sect. E*, E71, pp. 45–47. <http://dx.doi.org/10.1107/S2056989014026620>.
6. Golichenko A., Shtemenko A. (2019) Hydrolysis of rhenium(III) cluster compounds, *Ukr. Chem. J.*, 85(3), pp. 27-34. (In Ukrainian) doi: <https://doi.org/10.33609/6045.85.3.2019.27-34>.
7. Gupta S. C., Sundaram C., Reuter S. (2010) Inhibiting NF- $\kappa$ B activation by small molecules as a therapeutic strategy, *Biochem Biophys Acta*, 1799(10-12), pp. 775–787. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagr.2010.05.004>.
8. Ivchuk V. V., Polishko T. N., Golichenko O. A. [et al.] (2011) Influence of antitumor system rhenium-platinum on the biochemical state of liver, *Ukr. Biokhim. Zh.*, 83(3), pp. 76–84. (In Ukrainian).
9. Lehka L., Panchuk R.R., Berger W. [et al.] (2015) The role of reactive oxygen species in tumor cells apoptosis induced by landomycin a, *Ukr. Biochem. J.*, 87(5), pp. 72–82. doi: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj87.05.072>.
10. Leus I. V., Shamelashvili K. L., Skorik O. D. [et al.] (2012) Antioxidant and antitumor activity of dirhenium dicarboxylates in animals with Guerin carcinoma, *Ukr. Biokhim. Zh.*, 84(3), pp. 87–96. (In Ukrainian).
11. Li Z., Shtemenko N., Yegorova D. [et al.] (2015) Liposomes loaded with a dirhenium compound and cisplatin: preparation, properties an improved in vivo anticancer activity, *J. of Liposome Research*, 25(1), pp. pp.78–87. doi: <http://dx.doi.org/10.3109/08982104.2014.954127>.
12. Liebmann J. E., Cook J. A., Lipschultz C. [et al.] (1993) Cytotoxic studies of paclitaxel (Taxol) in human tumour cell lines, *Br. J. Cancer*, 68(6), pp. 1104–1109. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.1993.488>.
13. Olivera A., Moore T. W., Hu F. [et al.] (2012) Inhibition of the NF- $\kappa$ B signaling pathway by the curcumin analog, 3,5-Bis(2-pyridinylmethylidene)-4-piperidone (EF31): Anti-inflammatory and anti-cancer properties, *Int. Immunopharmacology*, 12(2), pp. 368–377. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2011.12.009>.
14. Panchuk R., Skorokhyd N., Chumak V. [et al.] (2014) Specific antioxidant compounds differentially modulate cytotoxic activity of doxorubicin and cisplatin: in vitro and in vivo study, *Croat. Med. J.*, 55(3), pp. 206–217. doi: <http://dx.doi.org/10.3325/cmj.2014.55.206>.
15. Paramonova K., Golichenko A., Babiy S. [et al.] (2016) The interaction of DNA with cluster rhenium compounds of different structural types, *World of Med. and Biol.*, 56(2), pp. 140–144. (In Ukrainian).
16. Polokhina K. V., Kytova D. E., Shtemenko A. V. [et al.] (2020) Antiproliferative activity of the cluster rhenium compound with  $\beta$ -alanine ligands, *Ukr. Biochem. J.*, 92(1), pp. 120–126. (In Ukrainian) <https://doi.org/10.15407/ubj92.01.120>.
17. Ramakrishnan, M. A. (2016) Determination of 50% endpoint titer using a simple formula, *World J. Virol.*, 5(2), pp. 85–86. doi: <http://dx.doi.org/10.5501/wjv.v5.i2.85>.
18. Shtemenko N. I., Berzenina O. V., Yegorova D. E. [et al.] (2008) Liposomal forms of rhenium cluster compounds: enhancement of biological activity, *Chem. Biodiversity*, 5, pp. 1660–1667. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.200890153>.
19. Shtemenko A. V., Collery P., Shtemenko N. I. [et al.] (2009) Synthesis, characterization, in vivo antitumor properties of the cluster rhenium compound with GABA ligands and its synergism with cisplatin, *Dalton Trans.*, 26, pp. 5132-5136. doi: <http://dx.doi.org/10.1039/b821041a>.
20. Shtemenko N. I., Chifotides H. T., Domasevitch K. V. [et al.] (2013) Synthesis, X-ray structure, interactions with DNA, remarkable in vivo tumor growth suppression and nephroprotective activity of cis-tetrachloro-dipivalato dirhenium(III), *J. of Inorg. Biochem.*, 129, pp. 127–134. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.001>.
21. Shtemenko A. V., Chifotides H. T., Yegorova D. E. [et al.] (2015) Synthesis and X-ray crystal structure of the dirhenium complex  $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{CO}_2)_4\text{Cl}_2$  and its interactions with the DNA pu-

- rine nucleobases, *J. Inorg. Biochem.*, 153, pp. 114-120. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorg-bio.2015.06.01>.
22. Shtemenko A. V., Shtemenko N. I. Rhenium–platinum antitumor systems (review), *Ukr. Biochem. J.*, 89(2), pp. 5–30. doi: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj89.02.005>
23. Shamelashvili K. L., Shtemenko N. I., Leus I. V. [et al.] (2016) Changes in oxidative stress intensity in blood of tumor-bearing rats following different modes of administration of rhenium-platinum system, *Ukr. Biochem. J.*, 88(4), pp. 29–39. (In Ukrainian) doi: <https://doi.org/10.15407/ubj88.04.029>.
24. Tacka K. A., Dabrowiak J. C., Goodisman J. [et al.] (2004) Effects of cisplatin on mitochondrial function in Jurkat cells, *Chem. Res. Toxicol.*, 17(9), pp. 1102–1111. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/tx0499564>.
25. Wilken R., Veena M. S., Wang M. B. [et al.] (2011) Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma, *Molecular cancer*, 10(12), pp. 1-19. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1476-4598-10-12>.
26. Ziai S. A., Gholami O., Iranshahi M. [et al.] (2012) Umbelliprenin induces apoptosis in CLL cell lines, *Iran J. Pharm. Res.*, 11, pp. 653–659.



## **БОТАНІКА І ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН**





А. О. Павленко, пров. інженер

О. О. Красова, к.б.н., науковий співробітник

І. І. Коршиков, д.б.н., професор

М. О. Баранець, молодший науковий співробітник

Криворізький ботанічний сад НАН України, вул. Маршака, 50, м. Кривий Ріг, 50089, Україна, e-mail: anolpavl@gmail.com

## СОЗОФІТИ У ПОСТМАЙНІНГОВИХ ЛАНДШАФТАХ КРИВБАСУ

Приведені результати обстеження 24 постмайнінгових кар'єрно-відвальних комплексів Криворіжжя щодо наявності рідкісних видів рослин, включених до «червоних списків» різних рангів. До списку созофітів уключено 40 видів фітобіоти. Найбільша частка ценоморф созофітної фракції представлена степантами. Розподіл гігоморф та геліоморф у відповідних спектрах відзначається переважанням ксерофітів та геліофітів. Трофоспектр характеризується переважанням видів-мезотрофів. Для трьох созофітів (*Pterotheca sancta*, *Astrodaucus littoralis* та *Crambe maritima*) відмічено специфічні прояви адаптації до нової екологічної обстановки.

**Ключові слова:** созофіти; фітобіота; постмайнінгові ландшафти; еколого-ценотичний аналіз; рефугіуми; Кривбас.

Криворізький залізорудний басейн (Кривбас) характеризується найвищою у світі концентрацією підземних і відкритих гірничих робіт, що зумовило докорінні зміни в ландшафтній структурі регіону. Площа, яку займають відходи підприємств із видобутку та збагачення залізної руди, накопичені впродовж 140 років, тут перевищує 18 тис. га, що становить 19% усіх порушених земель Дніпропетровської області [1].

Землі, трансформовані гірничовидобувними роботами, традиційно вважаються дестабілізованими, екологічно небезпечними. Проте досвід природничих досліджень Кривбасу показав, що з часом постмайнінгові території (такі, що виникли після завершення видобування і збагачення корисних копалин) стають ареною формування вторинних екосистем, розвиток яких підпорядковується загальним природним закономірностям [5].

Формування спонтанної рослинності на відпрацьованих кар'єрно-відвальних комплексах є предметом досліджень у багатьох країнах світу, зокрема, в Сполучених Штатах Америки, Бельгії, Словаччині, Чехії [29; 30; 34; 35; 36]. Ряд публікацій присвячено вивченню рідкісних видів біоти у техногенних ландшафтах. Серед них переважають роботи щодо видів родини *Orchidaceae* в техногенних неоекотопах гумідних територій. Автори зазначають, що відвали розкривних порід при видобутку корисних копалин стали притулком для

двох видів рідкісних орхідей півдня Польщі [37], шести видів – Кемеровської області РФ [10], восьми – Свердловської [22]. За даним Л.З. Слободян, на відвалах Львівського Прикарпаття із п'яти раритетних видів родини *Orchidaceae* найбільшої уваги потребує моніторинг стану популяцій *Epipactis palustris* (L.) Crantz (коручки болотної), який занесений до Червоної книги України та до Європейського червоного списку [17]. На південному сході України в межах відпрацьованих техногенних об'єктів відмічено 22 види ранньоквітучих рідкісних рослин, занесених до Червоної книги Донецької області [3]. Стосовно рідкісних бріобіонтів, М.Є. Рагуліною у посттехногенних екосистемах Волино-Поділля та Передкарпаття виявлено 2 види печіночників та 18 – брієвих мохів, що охороняються на різних рівнях [14].

Опубліковані праці про знахідки раритетних видів фітобіоти на виведених із експлуатації кар'єрно-відвальних комплексах Криворіжжя містять фрагментарні відомості. Дослідження видового складу ліхенобіоти наразі проведене Є.О. Головенко та І.І. Коршиковим на території дев'яти техногенних новоутворень [4]. Дані щодо розповсюдження на об'єктах індустріальної спадщини рідкісних для степової зони мохоподібних та папоротеподібних знаходимо у роботах В.В. Тротнер [20] та В.В. Тротнер та І.І. Мещанін [21], охоронюваних видів вищих рослин – у нотатках Н.С. Єременко [8], Г.Н. Шоль та В.В. Кучеревського [23].

Мета дослідження – визначити созофітну групу фітобіоти постмайнінгових територій Кривбасу та провести її еколого-ценотичний аналіз.

### Матеріали та методи досліджень

Територіальні межі Кривбасу в загальних рисах визначаються контуром, що охоплює рудоносні геологічні утворення. Центром регіону є місто Кривий Ріг, яке в субмеридіональному напрямку простягається на 126 км.

За геоботанічним районуванням майже вся територія досліджень входить до Бузько-Дніпровського (Криворізького) округу різнотравно-злакових степів, байрачних лісів та рослинності гранітних відслонень; лише крайня південна частина її (м. Інгулець) належить до Бузько-Інгульського округу злакових степів, подових луків і рослинності вапнякових відслонень [6]. Проте природний рослинний покрив Криворіжжя зазнав докорінної трансформації – наразі панівним типом рослинності є синантропний.

Обстежені відвали (всього 23) відрізняються за площею, конфігурацією, складом гірських порід та віком (40–130 років). Вони відсипані розкритими породами, до складу яких входять некондиційні залізні руди, сланці, безрудні кварцити, пісок, глина, суглинки, вапняки. Винесені на денну поверхню скельні розкриті породи піддаються процесам фізико-хімічного вивітрювання та втрачають фітотоксичність. Старі залізрудні кар'єри мають незначну площу (2,5–38 га) та глибину (13–73 м); майже вертикальні борти їх не мають терас [9]. Гранітні кар'єри відрізняються ярусною будовою. Днища кар'єрних виї-

мок, за винятком розташованих на території двох рудників – Кочубеївського та Калачевського, нині затоплені.

При польовому обстеженні гірничопромислових об'єктів (рисунок) застосовувалися загальноновизнані методичні прийоми опису рослинності [27]. Латинські назви рослин наведені згідно зведення С. Л. Мосякіна та М. М. Федорончука [33]. При складанні списку раритетних видів використані матеріали власних досліджень (2003–2019 роки) та проаналізовані матеріали Червоної книги Дніпропетровської області (далі ЧКДО) [25], Червоної книги України (далі ЧКУ) [26], останніх видань Світового (далі СЧС) [32] та Європейського (далі ЄЧС) [28] «червоних списків».

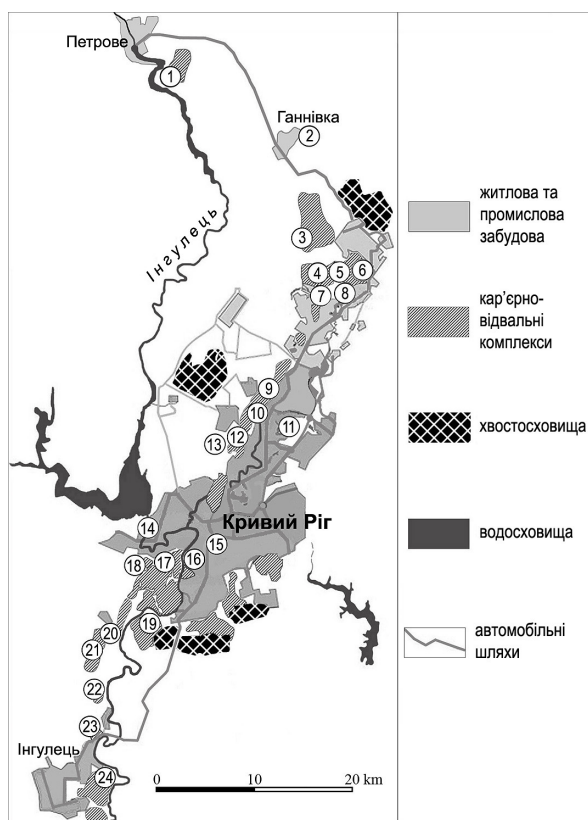


Рис. 1. Картосхема розміщення постмаїнінгових об'єктів Кривбасу

Легенда: 1, 3, 4, 6, 8, 9, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 24 – відвали відповідно Західно-Петрівський, Західно-Ганнівський, залізничний (3) та автомобільний (4) Першотравневого рудника, шахти «Тернівська», «Східний вал», Петрівський (12) та №7 (13) Глеюватського кар'єру, шахти ім. Валявка, Буршицький, кар'єру «Радянський», №1 «АрселорМіттал Кривий Ріг», Лівобережний (19) та №2 (21) Південного ГЗК, №3 Інгулецького ГЗК; 2, 5, 10, 20, 22 – старовинні рудники (кар'єрно-відвальні комплекси) відповідно – «Кочубеївські штольні», Калачевського, «Дубова балка», «Герварт», «Стародобровольський»; 7 – провальна зона шахти ім. Орджонікідзе; 11, 14 – гранітні кар'єри; відповідно – «Жовтневий», «Карачунівський»; 23 – техногенний ландшафтний заказник «Візерка»

Аналіз еко- та ценоморфічної структури складу созофітів здійснено з використанням монографічної праці В.В. Тарасова [19], а також характеристик видів з ЧКДО [22]. Визначення життєвих стратегій видів проводилося згідно з концепцією Л.Г. Раменського – Дж. Грайма [15; 31].

### Результати досліджень та їх обговорення

У постмайнінгових ландшафтах Кривбасу, як свідчать результати наших досліджень, відмічено 7 видів із СЧС, а саме: *Corylus avellana* L. (ліщина звичайна), *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. (очерет південний), *Poa angustifolia* L. (тонконіг вузьколистий), *Populus nigra* L. (тополя чорна), *Quercus robur* L. (дуб звичайний), *Trifolium pretense* L. (конюшина лучна), *Stipa lessingiana* Trin. et Rupr. (ковила Лессінга) [32].

Ще 21 вид, поширений у техногенних неоекотопах, включений до ЄЧС [28]; це *Armoracia rusticana* L. (хрін звичайний), *Astragalus cicer* L. (астрагал хлопунець), *Camelina microcarpa* Andr. (рижій дрібноплодий), *Cerasus avium* (L.) Moench (вишня пташина, черешня), *C. mahaleb* (L.) Mill. (вишня магалєбська), *Cichorium intybus* L. (цикорій дикий), *Daucus carota* L. (морква дика), *Diploaxis muralis* (L.) DC. (дворядник муровий), *Fragaria viridis* Duchesne (суниця зелена), *Isatis campestris* Steven ex DC. (вайда польова), *Lactuca tatarica* (L.) C.A. Mey. (латук татарський), *Lathyrus tuberosus* L. (чина бульбиста), *Lepidium perfoliatum* L. (хрінниця пронизанолиста), *L. ruderalis* L. (хрінниця смердюча), *Medicago lupulina* L. (люцерна хмелевидна), *M. romanica* Prodan (люцерна румунська), *Melilotus albus* Medik. (буркун білий), *M. officinalis* (L.) Pall. (буркун жовтий), *Pyrus communis* L. (груша звичайна), *Scariola viminea* (L.) F.W. (скаріола прутковидна), *Securigera varia* (L.) Lassen (секироплідник барвистий). Проте, всі вони (за винятком *Stipa lessingiana*) є звичайними для урбанofлори Кривого Рогу та Правобережного степового Придніпров'я. Власне, вони і належать до категорії Least Concern (LC) – вид, що викликає найменше занепокоєння. Із вищенаведеного переліку 9 видів у флорі Правобережного Придніпров'я мають статус адвентивних; це *Armoracia rusticana*, *Camelina microcarpa*, *Cerasus avium*, *C. mahaleb*, *Cichorium intybus*, *Diploaxis muralis*, *Lathyrus tuberosus*, *Lepidium perfoliatum*, *L. ruderalis*. Аборигенні види є широко розповсюдженими, тож існуванню їх нічого не загрожує, і включати їх до охоронних списків, навіть на обласному рівні, немає сенсу [24].

За результатами досліджень доцільним є включення до раритетної компоненти фітобіоти посттехногенних ландшафтів Криворіжжя 40 видів, з яких один належить до відділу *Ascomycota*, один – до відділу *Marchantiophyta*, 4 – до відділу *Polypodiophyta* та 34 – до відділу *Magnoliophyta* (19 родин, 27 родів) (таблиця). З них чотири види: *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. (брандушка різнокольорова), *Gymnospermium odessanum* (DC.) Takht. (голонасінник одеський), *Iris pumila* L. (півники маленькі) та *Stipa ucrainica* P.A. Smirn. (ковила українська) натуралізувалися в ході рекультивациі. Ще

чотири види – *Crambe maritima* L., *Stipa capillata* L., *Stipa lessingiana* Trin. et Rupr., *S. pulcherrima* K. Koch., очевидно, розселилися по відвалах як за рахунок рекультивації, так і спонтанної експансії; решта видів – природним шляхом.

Стосовно належності до офіційних переліків рідкісних рослин, 10 видів включені до ЧКУ [26], 38 – до ЧКДО [25]. Лише один вид – *Stipa lessingiana* входить до Світового червоного списку [32] (таблиця). Раніше Н. С. Єременко наводила 5 раритетних видів із ЧКУ в складі рудеральних угруповань відвалів і кар'єрів [8]; нами виявлено їх удвічі більше. Зважаючи на те, що складений нами загальний список вищих рослин постмайнінгових територій Кривбасу включає 374 види, созофітна група у його складі становить близько 10 %.

Найбільше созофітів (10 видів) відмічено на відвалі Стародобровольського рудника – одного з найстаріших у Кривбасі. По 9 рідкісних видів зростає на руднику «Кочубеївські штольні» (віком близько 130 років) та автомобільному відвалі Першотравневого кар'єру, вік якого не перевищує 50 років (тут майже всі раритетні види були штучно привнесені в ході рекультиваційних експериментів). По 8 видів зафіксовано на сторічному відвалі рудника «Гервардт» і трьох відвалах техногенного заказника «Візирка» віком близько 50 років, де проводилася рекультивація. Ці дані свідчать, що чисельність рослин-раритетів зростає з віком об'єкту індустріальної спадщини, а також залежить від чинника штучної активізації розвитку біорізноманіття.

Опосередковано з віком відвалу пов'язаний і його розмір: дореволюційні та довоєнні відвали, які відсипалися грабарками та малопотужною технікою мають найменші розміри (3–10 га); ті, що сформовані до 60-х років минулого століття автомобільним транспортом, характеризуються висотою 50–100 м при невеликій площі підшви (40–90 га); залізничні відвали сучасних кар'єрів являють собою насипи висотою до 180 м і площею до 1000 га. Тому найвища «насиченість» рослинності созофітами спостерігається, як правило, на об'єктах з найменшою площею.

Найпоширенішими созофітами є *Linaria biebersteinii* (зустрічається на всіх об'єктах), *Stipa lessingiana* (відмічено на 11 відвалах), *Stipa capillata* та *Rosa bordzilowskii* (знайдено на 9 відвалах).

Вважається, що в процесі формування рослинного покриву на техногенних субстратах першими оселяються анемохорні види, згодом отримують розвиток балісти [7]. Так, на прикладі загального флористичного складу відвалу «Лівобережний», де частка рудералів складає 67 %, показано, що найчисельнішими є анемохори та зоохори [12]. У нашому випадку серед созофітів переважають степанти та сільванти, для яких характерні інші типи поширення.

У постмайнінгових ландшафтах за типами діаспорохорії домінують «облігатні» балісти (37,5 % видів); «облігатні» анемохори посідають друге місце (25 %). Частку зоохорів складають лише 3 види (7,5 %). Утім, механізми занесення балістів на території, підняті над землею поверхнею на кілька десятків метрів, детально не з'ясовані. Очевидно, в посттехногенних екосистемах, де

рослини виявляють пластичність щодо стратегій виживання, «чисті» типи діаспорохорії заміщуються змішаними (найвірогіднішими додатковим способами розселення є орніто- та антропохорія). Зазначимо, що для видів роду *Stipa* характерний саме змішаний анемохорно-геохорний тип (таблиця).

За типами ценотичної стратегії безумовно переважають S-стратегії: їх частка складає 72,5 %. Існує думка, що в рослин у техногенних екосистемах у більшості випадків мають місце перехідні форми між різними типами стратегій із ознаками стрес-толерантності [2]. Такий висновок в результаті спостереження за ценотичною поведінкою рослин зроблено за умов їх розвитку на фітотоксичних субстратах відвалів вугільних шахт та промайданчиків. Але рідкісні рослини посттехногенних екотопів Кривбасу зростають здебільшого у квазіприродних степових угрупованнях [13], де вони виступають як асектатори. Окремі фрагменти їх локальних популяцій складаються найчастіше всього з 5–10 особин, але вони, як правило, протягом тривалого часу зберігають свої фітоценотичні позиції. Тому, на нашу думку, цим видам притаманні ті ж типи стратегій, що і в природних екосистемах. Представниками групи змішаної конкурентно-стрес-толерантної стратегії (CS) є чотири види роду *Stipa*, які мають доволі виражену здатність до домінування і утворюють на виведених з експлуатації відвалах маловидові ценози площею 5–200 м<sup>2</sup>. Зміна ценотичної стратегії спостерігається лише у *Pterotheca sancta*, що є, на нашу думку «прогресуючим» видом [11]. Локальне поширення малочисельних популяцій цього виду на степових схилах, солонцях та вапнякових відслоненнях [25] вказує на його патіентність (S-стратегію). Розселення ж його у посттехногенних ландшафтах, а також уздовж залізничних шляхів відбувається за рахунок набуття експлерентної стратегії (R).

У складі ценоморф созофітної фракції найбільшу частку мають степанти (22,5 %); вагомий внесок роблять петростепанти разом із степопетрофітами (30 %). Частка інших «змішаних» ценоморф (всього 10 найменувань) складає 30 % усієї вибірки. Така різноманітність типів пристосованості видів до фітоценозу зумовлена винятковим біотопічним різноманіттям штучних ландшафтних утворень.

Цікаво, що сільванти, частка яких становить 12,5 % (за винятком *Viburnum lantana*), знаходять придатні до існування умови не в деревно-чагарникових угрупованнях, а в досить специфічних мікрооселищах – затінених проміжках між великими брилами кварцитів, заповнених продуктами вивітрювання.

Розподіл видів за гігроморфами має такий вигляд: перше місце посідають ксерофіти (17 видів або 42,5 % від наведеного списку), частки мезоксерофітів та ксеромезофітів дуже близькі та становлять 8 та 7 видів (20,0 % та 17,5 %) відповідно. Гігроморфи мезофітів та мезогігрофітів представлені 3 та 2 видами (7,5 % та 5 %) відповідно. Еуксерофіти, гігромезофіти та гігрофіти представлені по 1 виду (по 2,5 %).

Таблиця  
Созофіти постмайнінгових ландшафтів Кривбасу: охоронний статус та еколого-ценотичні характеристики

Назва виду	Созологічний статус	Знахідки на об'єктах (номер на картосхемі)	Діаспорохори	Ценогічна стратегія	Ценоморфи	Гігроморфи	Геліоморфи	Трофоморфи
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Відділ <i>Ascomycota</i> , Клас <i>Lecanomycetes</i> O.E. Erikss. et Winca								
Родина <i>Cladoniaceae</i> Zenker								
<i>Cladonia rangiformis</i> Hoffm. (кладонія оленячорога)	ЧКДО	1, 20	Anch	S	StSil	KsMs	HeSc	OgTr
Відділ <i>Marchantiophyta</i> , Клас <i>Marchantiopsida</i> Cronquist, Takht. et W. Zimm.								
Родина <i>Marchantiaceae</i> Lindl.								
<i>Marchantia polymorpha</i> L. (маршанція поліморфна)	ЧКДО	14	Hdch	S	PtrPal	Hg	Sc	OgMgTr
Відділ <i>Polypodiophyta</i> , Клас <i>Polypodiopsida</i>								
Родина <i>Athyriaceae</i> Alston								
<i>Athyrium filix-femina</i> (L.) Roth (безщитник жіночий)	ЧКДО	19	Anch	S	Sil	MsHg	Sc	OgMsTr
<i>Cistopteris fragilis</i> (L.) Bernh. (пухирник ламкий)	ЧКДО	19	Anch	S	Sil	Ms	ScHe	OgTr
Родина <i>Dryopteridaceae</i> Ching								
<i>Dryopteris carthusiana</i> (Vill.) H.P. Fuchs (щитник шартрський)	ЧКДО	2	Anch	S	Sil	HgMs	ScHe	MsTr
<i>Dryopteris filix-mas</i> (L.) Schott (щитник чоловічий)	ЧКДО	7, 19	Ach (Anch)	S	Sil	MsHg	Sc	OgMsTr

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Відділ <i>Magnoliophyta</i> , Клас <i>Magnoliopsida</i>								
Родина <i>Berberidaceae</i> Juss.								
<i>Gymnospermium odessanum</i> (DC.) Takht. (голокучник одеський)	ЧКУ; ЧКДО	6	Bal, Мугм	SC	SlSt	Ks	ScHe	MsTr
Родина <i>Caryophyllaceae</i> Juss.								
<i>Kohlrauschia prolifera</i> (L.) Kunth (кольраушія паросткова)	ЧКДО	9, 10	Bal	RS	PrPtr	MsKs	He	MsTr
Родина <i>Limoniaceae</i> Ser.								
<i>Goniolimon besserianum</i> (Schult.) Kusp. (гоніолімон Бессера)	ЧКДО	2, 5, 22	Bal (Perv)	S	PtrSt	Ks	He	MsTr
Родина <i>Brassicaceae</i> Burnett								
<i>Alyssum parviflorum</i> M. Bieb. (бурачок дрібноквітковий)	ЧКДО	23	Bar	R	StPtr	Ks	He	OgMsTr
<i>Aurinia saxatilis</i> (L.) Desv. (авринія скельна)	ЧКДО	12	Bar	S	Ptr	KsMs	He	MsTr
<i>Cratogeomys maritima</i> L. (катран морський)	ЧКУ	6, 10, 12	Perv	RS	Lit, PtrPs	MsKs	He	MsTr
<i>Hesperis tristis</i> L. (вечірниця плакуча)	ЧКДО	2	Bar	S	StPr	Ms	ScHe	MsTr
Родина <i>Rosaceae</i> Juss.								
<i>Rosa bordzilowskii</i> Chrshan. (шипишна Бордзиловського)	ЧКДО	1, 5, 6, 11, 15, 17, 22, 23, 24	EndZ	S	PtrSt	KsMs	He	MsTr

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Родина <i>Fabaceae</i> Lindl.								
<i>Astragalus asper</i> Jacq. (астрагал шорсткий)	ЧКДО	16	Bal	S	PtrSt	Ks	He	MgTr
<i>Astragalus dasycanthus</i> Pall. (астрагал шерстистоквітковий)	ЧКУ; ЧКДО	2, 5	Bal	S	St	Ks	He	MgTr
<i>Astragalus pallescens</i> M. Bieb. (астрагал блідий)	ЧКДО	5	Bal	S	StPtr	Ks	He	MsTr
Родина <i>Rutaceae</i> Juss.								
<i>Haplophyllum suaveolens</i> (DC.) G. Don f. (гаплофіл запашний)	ЧКДО	20, 23	Bal	S	PtrSt	Ks	He	MsTr (Ca)
Родина <i>Apiaceae</i> Lindl.								
<i>Astrodaucus littoralis</i> (M. Bieb.) Drude (морковниця прибережна)	ЧКУ	4, 16	EpZ	S	Lit, PtrPs	MsKs	He	(Alk.) OgTr
Родина <i>Viburnaceae</i> Raf.								
<i>Viburnum lantana</i> L. (калина городовина)	ЧКДО	18	EndZ	S	Sil	KsMs	ScHe	MsTr
Родина <i>Rubiaceae</i> Juss.								
<i>Galium volhunicum</i> Pobed. (підмаренник волинський)	ЧКДО	2	Bal	S	St	Ks	He	MsTr
Родина <i>Convolvulaceae</i> Juss.								
<i>Convolvulus lineatus</i> L. (берізка лінійнолиста)	ЧКДО	5, 22, 23	Bal	S	StPtr	Ks	He	MsTr (Ca)
Родина <i>Boraginaceae</i> Juss.								
<i>Onosma macrochaeta</i> Klokov et Dobrocz. (грозивик великощети́стий)	ЧКДО	22	Bal	S	PtrSt	Ks	He	MsTr (Ca)

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Родина <i>Scrophulariaceae</i> Juss.								
<i>Linaria biebersteinii</i> Besser (льнок Біберштейна)	ЧКДО	1–24	Bal	S	PrRu	Ks	He	MgTr
Родина <i>Lamiaceae</i> Lindl.								
<i>Thymus × dimorphus</i> Klokov et Des.-Shost. (чебрець двовидний)	ЧКДО	5, 6, 11, 15, 17, 22, 23	Bal	S	PtrSt	EuKs	He	MsTr
Родина <i>Asteraceae</i> Dumort.								
<i>Carlina biebersteinii</i> Bernh. ex Hornem. (відкаси́к Біберштейна)	ЧКДО	4	Anch	RS	(Ru) PtrSt	MsKs	He	MsTr
<i>Centaurea orientalis</i> L. (волошка східна)	ЧКДО	8, 20	Anch	S	St	Ks	He	MsTr
<i>Inula helenium</i> L. (оман високий)	ЧКДО	6	Anch	S	SilPr	Ms	ScHe	MsTr
<i>Inula oculus-christi</i> L. (оман очний)	ЧКДО	22	Anch	SC	St	MsKs	ScHe	MgTr
<i>Jurinea brachysephala</i> Klokov (юрінея короткоголова)	ЧКДО	20, 22	Anch	S	StPtr	Ks	He	MsTr (Ca)
<i>Pterotheca sancta</i> (L.) K. Koch (ітеротека палестинська)	ЧКДО	12, 13, 16	Anch	R	(Ru) PtrSt	KsMs	He	MsTr (Ca)
Родина <i>Melanthiaceae</i> Batsch								
<i>Bulbocodium versicolor</i> (Ker- Gawl.) Spreng. (брандушка різнокольорова)	ЧКУ; ЧКДО	6, 23	Bal	S	St	KsMs	He	MgTr

## Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Родина <i>Iridaceae</i> Juss.								
<i>Crocus reticulatus</i> Steven ex Adams (шафран сітчастий)	ЧКУ; ЧҚДО	22	Bal	S	PrSt	KsMs	He	MgTr
<i>Iris pumila</i> L.	ЧҚДО	8	Bal	S	St	MsKs	He	MsTr
Родина <i>Alliaceae</i> J. Agardh								
<i>Allium guttatum</i> Steven (цибуля крапчаста)	ЧҚДО	22	Bal	S	PsSt	MsKs	He	MsTr
<i>A. rotundum</i> L. (цибуля кругла)	ЧҚДО	10, 20	Bal	S	St	Ks	He	MgTr
Родина <i>Poaceae</i> Barnhart.								
<i>Stipa capillata</i> L. (ковиля волосиста)	ЧКУ; ЧҚДО	2, 10, 11, 12, 20, 21, 22, 23, 24	Anch (Geh)	CS	St	Ks	He	MsMgTr
<i>S. lessingiana</i> Trin. et Rupr. (ковиля Лессінга)	IUCN RL; ЧКУ; ЧҚДО	2, 4, 5, 6, 8, 12, 18, 20, 21, 22, 23, 24	Anch (Geh)	CS	St	Ks	He	MgTr
<i>S. pulcherrima</i> K. Koch. (ковиля найкрасивіша)	ЧКУ; ЧҚДО	1, 2, 6	Anch (Geh)	CS	PtrSt	MsKs	He	MsTr
<i>S. ucrainica</i> P.A. Smirg. (ковиля українська)	ЧКУ; ЧҚДО	6	Anch (Geh)	CS	St	EuKs	He	MgTr

Примітка: Ach – автохор; Anch – анемохор; Bar – барохор; Bal – баліст; EpZ – епізоохор; EndZ – ендозоохор; Gch – геохор; Hdch – гідрохор; Murg – мирмекохор; Perg – первольвент; C – віолент; S – стрес-толерант; R – експлерент; PTr – петрофіт; Lit – літоральний вид; Pr – пратант; Ps – псамофіт; Ru – рудерант; Sil – силвант; St – степант; EuKs – еуксерофіт; Ks – ксерофіт; Ms – мезофіт; Hg – гігрофіт; He – геліофіт; Sc – сціофіт; HeSc – геліосціофіт; ScHe – сціогеліофіт; AlkTr – рослина засоленних ґрунтів; Ca – кальцефіл; MgTr – мегатроф; MsTr – мезотроф; OgTr – оліготроф.

Серед геліоморф переважну більшість становлять геліофіти (29 видів; 72,5 %), що цілком очікувано для степової зони України; друга за чисельністю група геліоморф – сціогеліофіти (7 видів; 17,5 %). Сціофітів у наведеному списку налічується 3 види (7,5 %) – 2 види папоротей та 1 вид печіночних мохів. Геліосціофіти представлені лише одним видом – лишайником *Cladonia rangiformis*.

За відношенням до трофності субстрату созофітна група фітобіоти характеризується переважанням видів-мезотрофів (17 видів; 42,5 %); ще 5 видів даного типу трофоморф здатні існувати на субстратах із карбонатним засоленням. Друге місце за чисельністю посідають мегатрофи (8 видів; 20,0 %); частка інших груп разом становить чверть усіх трофоморф.

Зазначимо, що доступність елементів живлення для рослин на техногенних субстратах залежить від сприятливості останніх для первинного ґрунтоутворення. Максимально сприятливими є леси, лесовидні суглинки та супіски; проміжне положення в цьому ряду займають глини та дрібнофракційні скельні уламки (кварцити, сланці); найменшу сприятливість мають великоуламкові кристалічні породи [16]. Окрім оцінки оптимальності гранулометричного складу субстратів необхідне урахування фітотоксичності порід, найвищий ступінь якої притаманний у перші роки після відсипки вапняковому рухляку, засоленим сіро-зеленим та червоно-бурим глинам, тальковим сланцям [18]. Але на поверхні відвалів екотопи, сформовані «чистими» субстратами, займають зовсім невелику територію, оскільки пухкі та скельні породи здебільшого змішуються при відсипці.

Так, созофіти з групи мезотрофів поширені на сумішах суглинків з подрібненими кварцитами і сланцями та продуктами їх гіпергенезу. Серед мезотрофів-карбонатofilів *Haplophyllum suaveolens*, *Jurinea brachycephala*, *Onosma macrochaeta* оселяються лише на вапняковому рухляку, який кілька десятків років проходив процес гіпергенезу, виключно в південній частині регіону. Оліготрофи та олігомезотрофи знаходять придатні мікрооселища між брилами кварцитів, або в тріщинах на їх поверхні. Рідкісні види-мегатрофи зазвичай зустрічаються на плато старих відвалів, де сформувалися примітивні ґрунти з потужністю родючого шару 5–10 см.

Найспецифічнішою формою прояву адаптації до нових едафічних умов є опанування літоральними псамофітами *Astrodaucus littoralis* та *Crambe maritima* крупнощербених кварцитово-сланцевих субстратів на схилах відвалів у північній та центральній частинах Кривбасу.

Підсумовуючи вищевикладене, слід зазначити, що субстратна мозаїчність, складний мезорельєф, неоднорідні мікрокліматичні умови посттехногенних ландшафтних утворень спричиняють виняткове екотопічне різноманіття, завдяки чому тут здатна існувати сукупність рослин з досить широким екоморфічним і ценотичним спектрами. Постмайнінгові території зазнають значно меншого антропогенного втручання, аніж залишки природних екосистем

Криворіжжя, тому популяції созофітів тут не зазнають впливу тих негативних факторів, які стали причиною скорочення їх чисельності в природних умовах (забудова територій, пасквальне та рекреаційне навантаження, збирання на букети, заготівля лікарської сировини). Об'єкти, де забезпечується збереження і відтворення цих популяцій, виступають рефугіумами раритетного фіторізноманіття в техногенно трансформованому регіоні.

### Висновки

1. Созофіти постмайнінгових ландшафтів Криворіжжя представлені 40 видами, включеними до трьох різнорангових «червоних списків». З них рослини 32 видів оселилися спонтанно, 4 – натуралізувалися після привнесення під час рекультиваційних експериментів, ще 4 – розселилися обома шляхами.

2. У складі созофітної фракції фітобіоти відпрацьованих техногенних об'єктів переважають пацієнти (S-стратегі); це цілком узгоджується із жорсткими екологічними умовами відвальних ландшафтів. Зміна ценотичної стратегії з пацієнтної на експлерентну в процесі опанування нових екоотопів спостерігається лише у *Pterotheca sancta*.

3. Найбільша частка ценоморф созофітної фракції представлена степами (22,5 %); вагомий внесок роблять петростепанти разом із степопетрофітами (30 %). Всього відмічено 3 найменування «чистих» та 10 – «змішаних» ценоморф; така значна кількість типів пристосованості видів до ценотичного середовища зумовлена винятковим біотопічним різноманіттям штучних ландшафтних утворень.

4. Розподіл гігроморф та геліоморф у відповідних спектрах відзначається переважанням ксерофітів (42,5 %) та геліофітів (72,5 %), що взагалі є характерним для степової зони.

5. За відношенням до трофності субстрату созофітна група фітобіоти характеризується переважанням видів-мезотрофів (42,5 %), поширених на сумішах суглинків з подрібненими кварцитами і сланцями та продуктами їх гіпергенезу. Друге місце за чисельністю посідають мегатрофи (20 %), які зазвичай зустрічаються на плато старих відвалів, де сформувалися примітивні ґрунти. Оліготрофи та олігомезотрофи знаходять придатні мікрооселища між брилами кварцитів, або в тріщинах на їх поверхні. Специфічною формою прояву адаптації до нових едафічних умов є опанування літоральними псамофітами *Astrodaucus littoralis* та *Crambe maritima* крупнощербенистих кварцитово-сланцевих субстратів

6. Постмайнінгові території зазнають значно меншого антропогенного втручання, аніж залишки природних екосистем Криворіжжя, тому виступають рефугіумами раритетного фіторізноманіття в техногенно трансформованому регіоні.

Стаття надійшла до редакції 30.04.2020

### Список використаної літератури

1. Бабець Є. К. Наслідки діяльності гірничодобувних підприємств для стану земель і ландшафту Криворіжжя та загальні вимоги до їх відновлення / Є. К. Бабець, В. І. Антонік, Л. О. Штанько // Сучасні технології розробки рудних родовищ. Еколого-економічні наслідки діяльності підприємств ГМК: мат. IV наук.-техн. конф. – Кривий Ріг: Видавець Роман Козлов, 2019. – С. 15–20.
2. Глухов А. З. Стратегии популяций растений в техногенных экосистемах / А. З. Глухов, А. И. Хархота, С. И. Прохорова, И. В. Агурова // Промышленная ботаника. – 2011. Вып. 11. – С. 3–13.
3. Глухов А.З. Экоморфологический анализ раннецветущих видов растений в техногенных экотопах юго-востока Украины / А.З. Глухов, А.И. Хархота, С.И. Прохорова, И.В. Агурова, С.П. Жуков // Екологія та ноосферологія. – 2011. – Т. 22, № 3–4. – С. 48–57.
4. Головенко Є. О. Видове різноманіття та особливості поширення лишайників у кар'єрно-відвальних комплексах Криворіжжя / Є. О. Головенко, І. І. Коршиков // Укр. ботан. журн. – 2018. – Т. 75, № 1. – С. 50–58. doi: 10.15407/ukrbotj75.01.050
5. Денисик Г. І. Похідні процеси та явища в ландшафтах зон техногенезу / Г. І. Денисик, Г. М. Задорожня. – Вінниця: ПП «Едельвейс і К», 2013. – 220 с.
6. Дідух Я. П. Геоботанічне районування України та суміжних територій / Я. П. Дідух, Ю. Р. Шеляг-Сосонко // Укр. бот. журн. – 2003. – Т. 60, № 1. – С. 6–17.
7. Добровольский И. А. Эколого-биоценологические основы оптимизации техногенных ландшафтов степной зоны Украины путем озеленения и облесения (на примере Криворожского железорудного бассейна): автореф. дисс. докт. биол. наук спец. 03.00.16 / И. А. Добровольский. – Днепропетровск, 1979. – 63 с.
8. Єременко Н. С. Раритетні види рудеральних угруповань м. Кривого Рогу: сучасний стан і проблеми охорони / Н. С. Єременко // Рідкісні рослини і гриби України та прилеглих територій: реалізація природоохоронних стратегій: матер. IV Міжнарод. конф. – К.: ПАЛІВО-ДА А. В., 2016. – С. 80–83.
9. Казаков В. Л. Критерії часової ідентифікації об'єктів індустріальної спадщини / В. Л. Казаков // Наукові записки Вінницького державного педагогічного університету ім. М. Коцюбинського. Сер. Географія. Вінниця. – 2010. – Вип. 21. – 2010. – С. 98–105.
10. Казьмина С. С. Особенности естественного самозарастания отвалов в горно-таежной зоне юга Сибири / С. С. Казьмина // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: сб. науч. статей по мат. XVI междунар. науч.-практ. конф (5–8 июня 2017 г., Барнаул). – Барнаул: Концепт, 2017. – С. 31–34.
11. Красова О. О. *Anisantha sterilis* (L.) Nevski та *Pterotheca sancta* (L.) K. Koch у синантропній флорі Кривбасу / О. О. Красова, Г. Н. Шоль, А. О. Павленко // Синантропізація рослинного покриву України: мат. III Всеукраїнської наук. конф. – Київ, 2019. – С. 90–93.
12. Миснік К. О. Організованість та розвиток рослинності відвалу «Лівобережний» / К. О. Миснік, Я. В. Маленко // Екологічний Вісник Криворіжжя. – 2019. – Вип. 4. – С. 114–121. doi: 10.31812/eeco-bulletin-krd.v4i0.2570
13. Павленко А. О. «Квазістепові» угруповання у техногенних ландшафтах Кривбасу / А. О. Павленко // Матеріали XIV з'їзду УБТ. – Київ, 2017. – С. 67.
14. Рагуліна М. Є. Участь мохоподібних у процесах самовідновлення техногенно порушених екосистем Волино-Поділля та Передкарпаття: автореф. дис. канд. біол. наук (спеціальність 03.00.16) / М. Є. Рагуліна. – Львів, 2015. – 20 с.
15. Раменский Л. Г. Проблемы и методы изучения растительного покрова. Избранные работы / Л. Г. Раменский. – Л.: Наука, 1971. – 334 с.
16. Савосько В. Н. Генезис и морфология примитивных почв техногенных ландшафтов Кривбаса / В. Н. Савосько // Питання біоіндикації та екології – 2010. – Вип. 15, № 2. – С. 152–162.
17. Слободян Л. З. Рідкісна флора техногенних екотопів Дрогобицько-Бориславського урбопромислового комплексу / Л. З. Слободян // Збірник наук. праць молодих учених Дрогобицького державного педагогічного університету ім. І. Франка. 2012. – С. 482–488.

18. Сметана О. М. До теорії фітооптимізації порушених гірничими роботами земель / О. М. Сметана, А. Ю. Мазур // «Проблеми збереження біорізноманіття в природних та техногенно порушених екосистемах»: матер. наук. конф. молодих вчених. – Кривий Ріг, 2008. – С. 8–14.
19. Тарасов В. В. Флора Дніпропетровської і Запорізької областей. Видання друге. Доповнене та виправлене / В. В. Тарасов. – Д.: «Ліра», 2012. – 296 с.
20. Тротнер (Приймачук) В. В. Знахідки рідкісних видів рослин на Криворіжжі / В. В. Тротнер (Приймачук) // Питання степового лісознавства та лісової рекультивції земель. Збірник наукових праць, вип. 45. – Дніпро: Ліра, 2016. – С. 60–67.
21. Тротнер В. В. Знахідки рідкісних видів папоротей в гірничопромислових ландшафтах Криворіжжя / В. В. Тротнер, І. І. Мещанін // Рослинний світ у Червоній книзі України: впровадження Глобальної стратегії збереження рослин: матер. V Міжнар. конф. – Херсон, 2018. – С. 85–89.
22. Филимонова Е. И. Орхидные в техногенных экосистемах Урала / Е. И. Филимонова, Н. В. Лукина, М. А. Глазырина // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2014. – Вып. 11. – С. 68–75.
23. Шоль Г. Н. Самовідновлення ковилових угруповань на відвалі колишнього Кочубеївського рудника / Г. Н. Шоль, В. В. Кучеровський // Відновлення порушених природних екосистем: матер. V міжнарод. наук. конф. (м. Донецьк, 12–15 травня 2014 р.). – Донецьк, 2014. – С. 358–359.
24. Шоль Г. Н. Раритетна складова урбанofлори Кривого Рогу та шляхи її збереження / Г. Н. Шоль // Чорномор. ботан. журн. – 2017. – Т. 13, № 1. – С. 108–118. doi: 10.14255/2308-9628/17.131/9.
25. Червона книга Дніпропетровської області (рослинний світ) / За ред. А. П. Травлєєва. – Дніпропетровськ: ВВК Баланс-Клуб, 2010. – 500 с.
26. Червона книга України. Рослинний світ / Відп. ред. Я. П. Дідух. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 912 с.
27. Якубенко Б. Є. Геоботаніка: методичні аспекти досліджень. Навчальний посібник / Б. Є. Якубенко, С. Ю. Попович, П. М. Устименко, Д. В. Дубина, А. М. Чурілов. – К.: Ліра К., 2018. – 316 с.
28. Bilz M. European Red List of Vascular Plants / M. Bilz, S. P. Kell, N. Maxted, R. V. Lansdown. – Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2011. – 132 p.
29. Christian C. L. Vegetative community development over 30 years within mixed pine-hardwood mine reclamation sites in East Texas / C. L. Christian, B. P. Oswald, H. M. Williams, K. W. Farrish // Journal American Society of Mining and Reclamation. – 2016. – Vol. 5, No. 2. – P. 19–57.
30. Frouz J. Vegetation and soil development in planted pine and naturally regenerated hardwood stand 48 years after mining / J. Frouz, J. A. Franklin // Journal of American Society of Mining and Reclamation. – 2014. – Vol. 3, No. 2. – P. 21–40.
31. Grime J.P. Interpretation of small-scale patterns in the distribution of plant species in space and time / J. P. Grime // Verh. Kon. ned. akad. wetensk. Afd. natuurk. – 1978. – R. 2. – № 70. – P. 101–124.
32. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-1 [Electronic resource] // International Union for Conservation of Nature and Natural Resources – Mode of access : WWW.URL : <http://www.iucnredlist.org/#>. Accessed by 6 April 2020.
33. Mosyakin S. L. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist / S. L. Mosyakin, M. M. Fedoronchuk. – Kiev, 1999. – 346 p.
34. Pitz C. Naturally recruited herbaceous vegetation in abandoned Belgian limestone quarries: towards habitats of conservation interest analogues? / C. Pitz, J. Piqueray, A. Monty, G. Mahy // Folia Geobotanica. – 2018. – Vol. 53, Issue 2. – P. 147–158.
35. Turisová I. Floristic composition on the abandoned copper heaps in Central Slovakia / I. Turisová, T. Štrba, P. Andráš, Š. Aschenbrenner // Romanian Journal of Mineral Deposits. – 2014. – Vol. 87. – P. 61–64.

36. Vacek Z. Forest biodiversity and production potential of post-mining landscape: opting for afforestation or leaving it to spontaneous development? / Z. Vacek, J. Cukor, V. Podrazsky, R. Linda, J. Kovarik // *Central European Forestry Journal*. – 2018. – Vol. 64. – P. 116–126.
37. Woch M. W. Flora of spoil heaps after hard coal mining in Trzebinia (southern Poland): effect of substratum properties / M. W. Woch, M. Radwacka, A. M. Stefanowicz // *Acta Bot. Croat.* – 2013. – Vol. 72, No. 2. – P. 237–256.

**A. O. Pavlenko, O. O. Krasova, I. I. Korshykov, M. O. Baranets**

Kryvyi Rih Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine, 50, Marshak Str., Kryvyi Rih 50089, Ukraine

## **SOZOPHYTES IN POSTMINING LANDSCAPES OF KRYVYI RIH BASIN**

### **Abstract**

**Introduction.** Traditionally, lands transformed by mining operations are considered destabilized and environmentally hazardous. However, the experience of natural researches of Kryvyi Rih Basin showed that over time post-mining territories (those that emerged after the completion of mineral extraction and enrichment) become the arena of formation of secondary ecosystems, the development of which is the subject to the general natural laws. There, within vegetation communities, populations of rare plants, which are included into “conservation lists” of various ranks, are forming.

**Aim.** To define the sozophyte fraction of phytobiota of post-mining territories of Kryvyi Rih Basin and to carry out ecological-coenotical analysis of this fraction.

**Methods.** A list of the sozophytes was completed basing on multiple surveys of quarry-dump complexes of Kryvyi Rih Area. In its formation, the materials of the Red Book of Dnipropetrovsk Region, the Red Book of Ukraine, the latest editions of the World and European Red Lists have been analyzed. The analysis of the eco- and coenomorphic structure of the composition of the sozophytes was carried out using the monographic work by V.V. Tarasov, as well as the characteristics of species from the Red Book of Dnipropetrovsk Region. Determination of life strategies of species was carried out in accordance with the concept of L.G. Ramenskiy – J. Grime.

**Results.** We found that 27 species of flora of anthropogenic ecotopes included in the World and European Red Lists are widespread in the region. There is no threat to the existence of such species today, and it does not make sense to include them in the conservation lists. Instead, the list of sozophytes included 40 species from the “red books” of the lower ranks: one belongs to Ascomycota, one to Marchantiophyta, 4 – to Polypodiophyta and 34 to Magnoliophyta (19 families, 27 genera). The composition of the sozophyte fraction of phytobiota of waste man-made objects is dominated by patients (S-strategists), steppants and petrophytes, xerophytes, heliophytes, mesotrophs.

**Conclusion.** Post-mining territories undergo much less anthropogenic interference than the remnants of natural ecosystems of Kryvyi Rih Area, so they are refugia of rare phytodiversity in the technogenically transformed region. Of the sozophyte fraction, 32 species settled here spontaneously, 4 – naturalized after introduction during reclamation experiments, and 4 more – established by both ways.

**Key words:** sozophytes; phytobiota; post-mining landscapes; ecological-coenotical analysis; refugia; Kryvyi Rih Area.

## References

1. Babets Ie. K., Antonik V. I., Shtanko L. O. (2019) *Impact of the activities of mining ventures on state of lands and landscape of Kryvyi Rih Area and general demands for their reclaiming* [Naslidky diyalnosti hirnychodobuvnykh pidpryemstv dlia stanu zemel i landshaftu Kryvorizhzhia ta zahalni vymohy do yikh vidnovlennia]. Suchasni tekhnologii rozrobky rudnykh rodovyskh. Ekolohe-ekonomichni naslidky diyalnosti pidpryemstv HMK. Proceedings of IV Sci. Tech. Conf. Kryvyi Rih: Publisher Roman Kozlov. P. 15–20.
2. Glukhov A. Z., Kharkhota A. I., Prokhorova S. I., Agurova I. V. (2011) «Strategies of plant populations in technogenic ecosystems» [«Strategii populyatsiy rasteniy v tekhnogennykh ekosistemakh»]. *Promyshlennaya botanika*. Issue 11, p. 3–13.
3. Glukhov A. Z., Kharkhota A. I., Prokhorova S. I., Agurova I. V., Zhukov S. P. (2011) «Ecomorphological analysis for early-flowering plant species in technogenic ecotopes of south-east of Ukraine» [«Ekomorfolohicheskii analiz rannetsvetushchikh vidov rasteniy v tekhnogennykh ekotopakh yugo-vostoka Ukrainy»]. *Ecology & Noospherology*. Vol. 22, Issue 3–4, p. 48–57.
4. Holovenko Ie. O., Korshykov I. I. (2018) «Species diversity and distribution of lichens in Kryvyi Rih quarry dump complexes» [«Vydove riznomanittia ta osoblyvosti poshyrennia lyshaynykiv u karyerno-vidvalnykh kompleksakh Kryvorizhzhia»]. *Ukr. Bot. J.*, Vol. 75, No 1, p. 50–58. doi: 10.15407/ukrbotj75.01.050
5. Denysyk H. I., Zadorozhnia H. M. (2013) *Derived processes and phenomena in landscapes of technogenesis zones* [Pokhidni protsesy ta iavyscha u landshaftakh zon tekhnogenezu]. Vinnytsia: Edelveys i K. 220 p.
6. Didukh Ia. P., Sheliakh-Sosonko Iu. R. (2003) «Geobotanical zoning of Ukraine and adjacent territories» [«Heobotanichne rayonuvannia Ukrainy ta sumizhnykh terytoriy»]. *Ukr. Bot. J.*, Vol. 60, No 1. P. 6–17.
7. Dobrovolskiy I.A. (1979) *Ecological and biocoenological principles for optimization of technogenic landscapes of steppe zone of Ukraine by greening and forestation (on example of Krivoy Rog Iron Ore basin): abstract of thesis for degree of Doctor in Biological Sciences* [Ekologo-biotsenologicheskie osnovy optimizatsiyi tekhnogennykh landshaftov stepnoy zony Ukrainy putem ozeleneniya i obleseniya (na primere Krivorozhskogo zhelezorudnogo basseyna)]. Dnepropetrovsk. 63 p.
8. Yermenko N. S. (2016) *Rare species of ruderal communities of the city of Kryvyi Rih: contemporary state and problems of conservation* [Raryetni vydy ruderalnykh uhrupovan m. Kryvoho Rohu: suchasnyi stan i problemy okhorony]. Ridkisi rosliny i hryby Ukrainy ta prylehlykh terytoriy: realizatsiya pryrodokhoronnykh stratehiy. Proceedings of IV Int. Conf. Kyiv: PALY-VODAA. V. P. 80–83.
9. Kazakov V. L. (2010) *Criteria for temporal identifying the objects of industrial heritage* [Kryteriyi chasovoyi identyfikatsiyi obyektiv industrialnoi spadshchyny]. Scientific notes of Vinnytsia State Pedagogical University named after M. Kotsiubynskyi. Ser. Geography. Issue 21. Vinnytsia. P. 98–105.
10. Kazmina S.S. (2017) *Peculiarities of spontaneous revegetation of dumps in mountain-taiga zone of south of Siberia* [Osobennosti estestvennogo samozarastaniya otvalov v gorno-taizhnoy zone yuga Sibiri]. Problemy botaniki Yuzhnoy Sibiri i Mongolii. Collection of scientific articles after proceedings of XVI Int. Sci.-Pract. Conf. (Barnaul, 2017, June 5–8). Barnaul: Kontsept. P. 31–34.
11. Krasova O.O., Shol H.N., Pavlenko A.O. (2019) *Anisantha sterilis* (L.) Nevski and *Pterotheca sancta* (L.) K. Koch in synanthropic flora of Kryvyi Rih Basin [Anisantha sterilis (L.) Nevski ta Pterotheca sancta (L.) K. Koch u synantropniy flori Kryvbasu]. Synantropizatsiya roslynnoho pokryvu Ukrainy. Proceedings of III All-Ukrainian Sci. Conf. Kyiv. P. 90–93.
12. Mysnik K.O., Malenko Ia.V. (2019) «Organization and development of vegetation of dump

- “Livoberzhnyi”» [«Orhanizovanist i rozvytok roslynnosti vidvalu “Livoberezhnyi”»]. *Ecological Bulletin of Kryvyi Rih Area*. Issue 4, pp. 114–121. doi: 10.31812/eco-bulletin-krd.v4i0.2570
13. Pavlenko A.O. (2017) “*Quasi-steppe*” communities in technogenic landscapes of Kryvyi Rih Basin [Kvazistepovi uhrupovannia u tekhnogennykh landshaftakh Kryvbasu]. *Proceedings of XIV Congress of Ukrainian Botanical Society*. Kyiv. P. 67.
  14. Ragulina M. E. (2015) *Participation of the Bryophytes in the process of self-regeneration of technogenic-disturbed ecosystems of Volyno-Podillia and Precarpathians* [Uchast mokhopodibnykh u protsesakh samovidnovlennia tekhnogenno porushenykh ecosystem Volyno-Podillia ta Peredkarpattia]: abstract of thesis for degree of Candidate in Biological Sciences (speciality 03.00.16). Lviv. 20 p.
  15. Ramenskiy L. G. (1971) *Problems and methods of studying the vegetation cover. Selected works* [Problemy i metody izucheniya rastitelnogo pokrova. Izbrannye raboty]. Leningrad: Nauka. 334 p.
  16. Savosko V. N. (2010) «*Genesis and morphology of primitive soils of technogenic landscapes of Kryvyi Rih basin*» [«Genezis i morfologiya primitivnykh pochv tekhnogennykh landshaftov Krivbassa»]. *Questions of Bioindication and Ecology*. Issue 15, No. 2. P. 152–162.
  17. Slobodian L. (2012) *Rare flora of technogenic ecotopes of Drohobych-Boryslav urboindustrial complexes* [Ridkisa flora tekhnogennykh ekotopiv Drohobysko-Boryslavskoho urboindustrialnoho kompleksu]. *Collection of scientific works of young scientists of Drohobych State Pedagogical University named after I. Franko*. P. 482–488.
  18. Smetana O. M., Mazur A. Iu. (2008) *On theory of phytooptimization for lands disturbed due to mining works* [Do teorii fitootymizatsii porushenykh hirmychymy robotamy zemel]. *Problemy zberezhenia bioriznomanittia v pryrodnykh ta tekhnogenno porushenykh ekosystemakh*. *Proceedings of IV Sci. Conf. for Young Scientists. Kryvyi Rih*. P. 8–14.
  19. Tarasov V. V. (2012) *Flora of the Dnipropetrovsk and Zaporozhye regions. Vascular plants with their biology-ecological characteristic*. [Flora Dnipropetrovskoi ta Zaporizkoi oblasti]. Dnipropetrovsk: Lira. 296 p.
  20. Trotner (Primachuk) V. V. (2016) *Finds of rare plants in Kryvyi Rih Area* [Znakhidky ridkisnykh vydiv roslyn na Kryvorizhzhii]. *Pytannia stepovoho lisoznavstva ta lisovoyi rekultyvatsiyi zemel*. *Collection of scientific works*. Issue 45. Dnipro: Lira. P. 60–67.
  21. Trotner V. V., Meshchanin I. I. (2018) *Finds of rare fern species in mining landscapes of Kryvyi Rih Area* [Znakhidky ridkisnykh vydiv paporotey v hirmychopromyslovykh landshaftakh Kryvorizhzhia]. *Roslynni svit u Chervoniy knyzi Ukrainy: vprovadzhennia hlobalnoyi stratehiyi zberezhenia Roslyn*. *Proceedings of V Int. Conf. Kherson*. P. 85–89.
  22. Filimonova E. I., Lukina N. V., Glazyrina M. A. «*Orchids in technogenic ecosystems of Ural*» [«Orkhidnye v tekhnogennykh ekosystemakh Urala»]. *Ekosistemy, ikh optimizatsiya i okhrana*. Issue 11. P. 68–75.
  23. Shol H. N., Kucherevskyi V. V. (2014) *Self-renewing feather-grass communities on a dump of former mine “Kochubeyivskyi”* [Samovidnovlennia kovylovykh uhrupovan na vidvali kolyshnioho Kochubeyivskoho rudnyka]. *Vidnovlennia porushenykh pryrodnykh ekosystem*. *Proceedings of V Int. Sci. Conf. (Donetsk, 2014, May 12–15)*. Donetsk: B. v. P. 358–359.
  24. Shol H.N. (2017) «*Rare component of urbanoflora of Kryvyi Rih and ways to its conservation*» [«Rarytetna skladova urbanoflory Kryvoho Rohu ta shliakhy yiyi zberezhenia»]. *Chornomor. Bot. J.*, Vol. 13, No. 1. P. 108–118. doi: 10.14255/2308-9628/17.131/9.
  25. *Red Book of Dnipropetrovsk Region (Kingdom of Plants)*. (2010) [Chervona knyha Dnipropetrovskoyi oblasti (roslynni svit)]. Ed. A. P. Travleev. Dnipropetrovsk: VVK Balans-Klub. 500 p.
  26. *Red Data Book of Ukraine. Kingdom of Plants* (2009) [Chervona knyha Ukrainy. Roslynni svit]. Ed. Ia. P. Didukh. – Kyiv: Hlobalkonsaltnh. 912 p.
  27. Iakubenko B. Ie., Popovych S. Iu., Ustymenko P. M., Dubyna D. V., Churilov A. M. (2018) *Geobotany: methodical aspects of researches* [Heobotanika: metodychni aspekty doslidzhen]. *Text-book*. Kyiv: Lira K. 316 p.

28. Bilz M., Kell S. P., Maxted N., Lansdown R. V. (2011) European Red List of Vascular Plants. – Luxembourg: Publications Office of the European Union. 132 p.
29. Christian C. L., Oswald B. P., Williams H. M., Farrish K. W. (2016) Vegetative community development over 30 years within mixed pine-hardwood mine reclamation sites in East Texas. *Journal American Society of Mining and Reclamation*. Vol. 5, No. 2. P. 19–57.
30. Frouz, J., Franklin J.A. (2014) Vegetation and soil development in planted pine and naturally regenerated hardwood stand 48 years after mining. *Journal of American Society of Mining and Reclamation*. Vol. 3, No. 2. P. 21–40.
31. Grime J.P. (1978) Interpretation of small-scale patterns in the distribution of plant species in space and time. *Verh. Kon. ned. akad. wetensk. Afd. natuurk.* R. 2. № 70. P. 101–124.
32. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-1 [Electronic resource]. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources – Mode of access: WWW.URL: <http://www.iucnredlist.org/#>. Accessed by 6 April 2020.
33. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. (1999) Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. Kiev. 346 p.
34. Pitz C., Piqueray J., Monty A., Mahy G. (2018) «Naturally recruited herbaceous vegetation in abandoned Belgian limestone quarries: towards habitats of conservation interest analogues?» *Folia Geobotanica*. Vol. 53, No. 2. P. 147–158.
35. Turisová I., Štrba T., Andráš P., Aschenbrenner Š. (2014) «Floristic composition on the abandoned copper heaps in Central Slovakia». *Romanian Journal of Mineral Deposits*. Vol. 87. P. 61–64.
36. Vacek Z., J. Cukor, V. Podrazsky, R. Linda, J. Kovarik (2018) «Forest biodiversity and production potential of post-mining landscape: opting for afforestation or leaving it to spontaneous development?» *Central European Forestry Journal*. Vol. 64. P. 116–126.
37. Woch M. W., Radwacka M., Stefanowicz A.M. (2013) «Flora of spoil heaps after hard coal mining in Trzebinia (southern Poland): effect of substratum properties». *Acta Bot. Croat.* Vol. 72, No. 2. P. 237–256.

**Ф. П.Ткаченко**, д.б.н., професор, завідувач кафедри

**Т. І. Опалько**, студент

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра ботаніки  
вул. Дворянська 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: tvf@ukr.net

## **БАЗИДІАЛЬНІ ГРИБИ-КСИЛОТРОФИ ЗЕЛЕНИХ НАСАДЖЕНЬ МІСТА ОДЕСИ**

В роботі наведена таксономічна характеристика 27 видів грибів-ксилотрофів, які входять до складу відділу Basidiomycota, двох класів, 6 порядків, 13 родин та 22 родів. Найбільш поширеними були представники порядків Polyporales (12 видів), Agaricales (7) і Hymenochaetales (5). Інші порядки містили 1–2 види. Складено список асоційованих з ксилотрофами деревних порід, який налічує 19 видів. Нинішній склад грибів-ксилотрофів засвідчує пригнічений стан зелених насаджень м. Одеса.

**Ключові слова:** дереворуйнівні гриби; видовий склад; індикаторне значення; зелені насадження; Одеса.

Ксилотрофи є одними з найпоширеніших екологічних угруповань грибів. Завдяки своїм ферментам ці гриби руйнують деревину як мертву (сапротрофи), так і живу (паразити). Вони викликають, так звані, білу і буру (червону) гнилі деревини, споживаючи, відповідно, або лігнін, або целюлозу, а деякі види – змішану гниль. Часто ці гриби поселяються на деревах як паразити, спричиняючи їх поступову загибель і завершують тут свій розвиток вже як сапрофіти. Але не можна розглядати гриби-ксилотрофи лише як шкідливі організми. В природних умовах у лісових масивах їх санітарна роль дуже важлива, так як вони утилізують деревний опад, мертві дерева, пні і повертають в природний колообіг мінеральні речовини і енергію деревних рослин [9]. Якщо ж розглядати міські зелені насадження, то тут гриби-паразити найчастіше поселяються на ослаблених екземплярах дерев, часто з механічними ушкодженнями, нанесеними невдалим обрізуванням або природними факторами (ожеледиця, вітровал, поєднаний зі значними опадами). Таким чином, йде оздоровлення популяції певних видів дерев і відпад пригнічених особин. Тобто гриби-ксилотрофи посідають тут роль індикаторів впливу стану екології і господарської діяльності людини на деревостій [16]. Виявлення таких хворих дерев і їх своєчасне видалення дасть і економічний ефект, адже буде збережено здоров'я, а, інколи і життя громадян, цілісність будівель, електромереж і транспортних засобів. Загальна площа лісових насаджень м. Одеса становить 724 га.

Спеціальних досліджень ксилотрофів зелених насаджень м. Одеса раніше не проводили. Проте, під час загальних мікологічних досліджень нами [1] тут було виявлено 16 видів таких грибів.

**Метою** цієї роботи було встановлення видового різноманіття базидіальних ксилотрофів зелених насаджень міста Одеси, їх таксономічної складності і кола асоційованих з ними деревних рослин.

### Матеріали і методи досліджень

Дослідження базидіальних ксилотрофів проводили в період 2010–2020 рр. Збір грибів здійснювали на деревах, деревному опаді (гілках) і на пеньках в межах міста Одеса (рис. 1), зокрема в парках імені Шевченка, Перемоги, Савицького, Дюківському, на приморських схилах і на вулицях міста, де най-

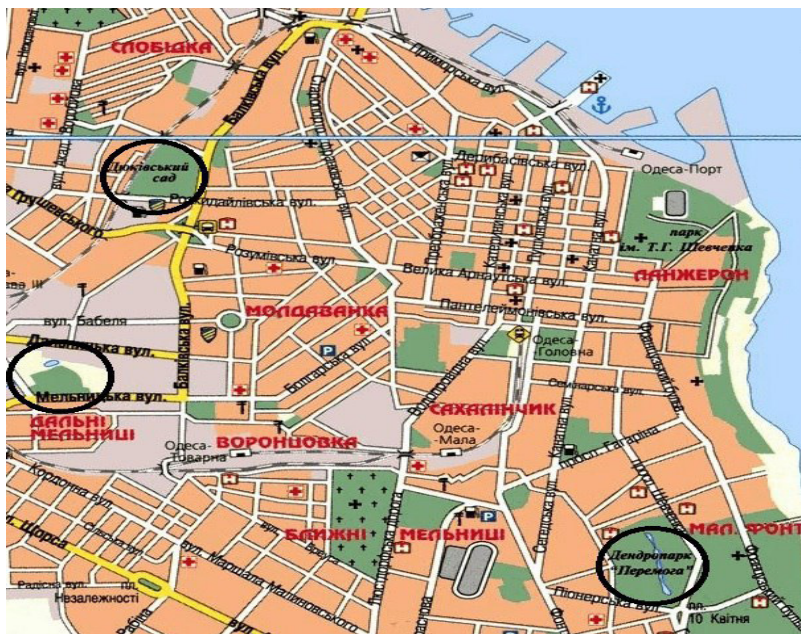


Рис. 1. Карта-схема м. Одеси

більш широко представлена старша вікова група деревних рослин. При цьому використовували методику маршрутних досліджень. Опис виявлених видів проводили за загальновизнаною методикою [4]. При описі плодових тіл (базидіокарпів) звертали увагу на їх форму і розміри, консистенцію, характер поверхні, колір, запах, тип гіменофору [3]. Забарвлювання гіф здійснювали стандартним набором реактивів та барвників (5–7% КОН або NaOH, реактив Мельцера, сульфованілін, сульфат заліза, барвник Конго-червоний і ін.) [7]. Загалом зібрано близько 50 зразків базидіальних грибів. Для їх ідентифікації використовували відомі визначники [2, 5, 6, 13], а також публікації за окремими групами базидіоміцетів. Порядки і родини наведені за системою, викладеною у Мусобанк [15]. Дослідження спор грибів проводили у світловому мікроскопі (БІОЛАМ-11, Росія) зі збільшенням 400<sup>x</sup>. Зазначали також асоційовані деревні породи, ідентифіковані за [10].

**Результати досліджень та їх обговорення**

В результаті проведених досліджень в зелених насадженнях м. Одеси було виявлено 27 видів базидіальних ксилотрофів (табл. 1).

Таблиця 1

**Гриби-ксилотрофи та асоційовані з ними рослини зелених насаджень м. Одеса**

№ п/п	Таксон	Період дослідження		Асоційовані рослини
		2008 р	2010-2020рр	
1	2	3	4	5
	Від. <b>Basidiomycota</b>			
	Кл. <b>Tremellomycetes</b>			
	Пор. <b>Tremellales</b>			
	Род. <b>Tremellaceae</b>			
1.	<i>Tremella mesenterica</i> (Schaeff.) Retz.	+	+	Шовковиця чорна
	Кл. <b>Agaricomycetes</b>			
	Пор. <b>Auriculariales</b>			
	Род. <b>Auriculariaceae</b>			
2.	<i>Auricularia auricula-judae</i> (Bull.) Quel.	–	+	Клен ясенolistий
	Пор. <b>Agaricales</b>			
	Род. <b>Agaricaceae</b>			
3.	<i>Cyathus olla</i> (Batsch.) Pers., Comm.	+	+	На гнилій деревині верби білої
	Род. <b>Physalacriaceae</b>			
4.	<i>Flammulina velutipes</i> (Curtis) Singer.	+	+	На пенькахпні горіха грецького, айланта найвищого
	Род. <b>Pleurotaceae</b>			
5.	<i>Hypsizygus ulmarius</i> (Bull.) Redhead	–	+	В'яз гладкий
6.	<i>Pleurotus cornucopiae</i> (Paul.) Rolland	+	–	На пенькахпні тополі пірамідальної
7.	<i>Pl. ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.	+	+	Тополя пірамідальна
	Род. <b>Pluteaceae</b>			
8.	<i>Pluteus cervinus</i> (Schaeff.) P. Kumm	–	+	На відмерлому стовбурі стифнолобіума японського
9.	<i>Volvariella bombycina</i> (Schaeff) Singer	–	+	У дуплі кінського каштану звичайного
	Род. <b>Psathyrellaceae</b>			
10.	<i>Coprinellus disseminatus</i> (Pers.) J.E. Lange	–	+	На пнях тополі Болле
11.	<i>C. micaceus</i> (Bull.) Vilgalys, Hopple et Jacq. Johnson	+	+	Біля основи стовбурів платану східного

## Продовження таблиці

1	2	3	4	5
	Род. <b>Schizophyllaceae</b>			
12.	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	+	+	Клен польовий
	Пор. <b>Polyporales</b>			
	Род. <b>Ganodermataceae</b>			
13.	<i>Ganoderma lipsiense</i> (Batsch) G. F. Atk.	+	+	Липа серцелиста, кінський каштан звичайний, гледичія колюча
14.	<i>G. lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	–	+	На пнях дуба звичайного
	Род. <b>Polyporaceae</b>			
15.	<i>Fomes fomentarius</i> (L.) Fr.	+	+	Кінський каштан звичайний, клен польовий
16.	<i>Lentinus tigrinus</i> (Bull.) Fr.	–	+	Біля основи верби білої
17.	<i>Polyporus squamosus</i> (Huds.) Fr.	+	+	Клен ясенolistий
18.	<i>Trametes hirsuta</i> (Wulfen) Lloyd	+	+	На мертвих гілках абрикоси звичайної
19.	<i>T. versicolor</i> (L.) Lloyd	+	+	На мертвій деревині клена гостролистого
	Род. <b>Fomitopsidaceae</b>			
20.	<i>Daedalea quercina</i> (L.) Pers.	+	+	Дуб звичайний
21.	<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw.) P. Karst.	–	+	Клен гостролистий
22.	<i>Laetiporus sulphureus</i> (Bull.) Murrill	+	+	Біла акація
23.	<i>Piptoporus betulinus</i> (Bull.) P. Karst.	+	+	Бере́за повисла
	Пор. <b>Hymenochaetales</b>			
	Род. <b>Hymenochaetaceae</b>			
24.	<i>Inonotus hispidus</i> (Bull.) P. Karst.	–	+	Шовковиця чорна
25.	<i>Phellinus igniarius</i> (L.) Quel.	–	+	Слива розлога
26.	<i>Ph. robustus</i> (P. Karst.) Bourdot et Galzin	+	+	Дуб звичайний
	Пор. <b>Russulales</b>			
	Род. <b>Stereaceae</b>			
27.	<i>Stereum hirsutum</i> (Willd.) Pers.	–	+	Абрикоса звичайна
	Всього	16	26	

Таким чином, загальна кількість видів базидіальних грибів-ксилотрофів, виявлених нами в зелених насадженнях м. Одеси, становить 27. Вони входять до складу двох класів, 5 порядків, 13 родин та 22 родів. Таксономічна структура виявленого видового складу грибів представлена в табл. 2.

Таблиця 2

## Таксономічна структура грибів-ксилотрофів м. Одеси

Порядки, родини (число родів / видів)	Роди (число видів)
<b>AGARICALES (8/10)</b>	
<i>Agaricaceae</i> (1/1)	<i>Cyathus</i> (1)
<i>Physalacriaceae</i> (1/1)	<i>Flammulina</i> (1)
<i>Pleurotaceae</i> (2/3)	<i>Hypsizygus</i> (1), <i>Pleurotus</i> (2)
<i>Pluteaceae</i> (2/2)	<i>Pluteus</i> (1), <i>Volvariella</i> (1)
<i>Psathyrellaceae</i> (1/2)	<i>Coprinellus</i> (2)
<i>Schizophyllaceae</i> (1/1)	<i>Schizophyllum</i> (1)
<b>AURICULARIALES (1/1)</b>	
<i>Auriculariaceae</i> (1/1)	<i>Auricularia</i> (1)
<b>HYMENOGASTRALES (2/3)</b>	
<i>Hymenochaetaceae</i> (2/3)	<i>Inonotus</i> (1), <i>Phellinus</i> (2)
<b>POLYPORALES (9/11)</b>	
<i>Fomitopsidaceae</i> (4/4)	<i>Daedalea</i> (1), <i>Fomitopsis</i> (1), <i>Laetiporus</i> (1), <i>Piptoporus</i> (1)
<i>Ganodermataceae</i> (1/2)	<i>Ganoderma</i> (2)
<i>Polyporaceae</i> (4/5)	<i>Fomes</i> (1), <i>Lentinus</i> (1), <i>Polyporus</i> (1), <i>Trametes</i> (2)
<b>TREMELLALES (1/1)</b>	
<i>Tremellaceae</i> (1/1)	<i>Tremella</i> (1)
<b>RUSSULALES (1/1)</b>	
<i>Stereaceae</i> (1/1)	<i>Stereum</i> (1)
<b>6 порядків, 13 родин</b>	<b>22 роди, 27 видів</b>

Загалом видовий склад базидіальних ксилотрофів досліджуваних екотопів досить різноманітний, з переважанням представників родин *Polyporaceae* (5 видів), *Fomitopsidaceae* (4), *Pleurotaceae* і *Hymenochaetaceae* (по 3) та *Ganodermataceae*, *Pluteaceae* і *Psathyrellaceae* (по 2). Виявлені ксилотрофи були асоційовані з 19 видами деревних порід (див. табл. 1). Найбільш масовими в зелених насадженнях м. Одеси були такі види дереворуйнівних грибів.

*Flammulina velutipes* виявляли на пнях горіха грецького, айланта найвищого та інших породах. *Pleurotus ostreatus* полюбляє селитися на відмерлих стовбурах різних видів тополі та шовковиці. Досить звичним на сухих гілках і пнях різноманітних порід дерев є гриб *Schizophyllum commune*. Небезпечним паразитом листяних порід дерев (особливо акації білій) в м. Одесі є *Laetiporus sulphureus*. Цей гриб, як правило, вражає нижню частину дерева до 2 м висоти, але інколи піднімається і вище. Він викликає буру стовбурову гниль, що зменшує вітростійкість дерева, пошкодження коренів, суховерхність і загибель [11]. Звичайним в парках м. Одеси є *Trametes versicolor*, що зростає на відмерлих стовбурах, пнях, великих гілках листяних дерев. Досить часто на стовбу-

рах слив і абрикоси звичайної можна бачити *Phellinus igniarius*, який викликає буру гниль деревини і поступову загибель цих порід. *Fomes fomentarius* широко поширений в місті ксилотроф, який вражає, перш за все, різні види кленів, кінський каштан звичайний, інколи – платан східний. Цей гриб викликає білу або мармурову гниль. Його плодові тіла в значній кількості утворюються на всихаючих і мертвих деревах. Восени після дощів на старих деревах клена ясенolistого, шовковиці білої можна бачити великі вухоподібні плодові тіла *Polyporus squamosus*, що викликає змішану гниль деревини. Серед ксилотрофів біля основи стовбурів таких порід як платан східний, тополя пірамідальна дуже поширеним був *Coprinellus micaceus*. Цікавими виявилися нові знахідки таких рідкісних видів як *Volvariella bombycina* (рис. 2) та *Hypsizygus ulmarius* (рис. 3).

Рис. 2. *Volvariella bombycina*Рис. 3. *Hypsizygus ulmarius*

За господарським значенням основну частину виявлених видів грибів становлять неїстівні (17 видів). Частка інших груп макроміцетів була значно меншою: їстівні (9 видів) і умовно їстівний – 1.

Згідно інформацією [11, 12, 14], в народній і офіційній медицині багатьох країн світу виявлені нами гриби використовуються, в основному, у двох напрямках: з імуностимулюючою і протипухлинною діями (*Auricularia auricula-judae*, *Ganoderma lucidum*, *Laetiporus sulphureus*, *Phellinus igniarius*, *Pitoptorus betulinus*, *Pleurotus ostreatus*, *Pluteus cervinus*, *Polyporus squamosus* (препарат «міцелон»), *Trametes versicolor* (препарат «крістин»), *Tremella mesenterica*, *Schizophyllum commune*) та протизапальною, антибактеріальною, антивірусною і протипухлинною діями (*Ganoderma lipsiense*, *G. lucidum*, *Fomitopsis pinicola*, *Volvariella bombycina*). У зв'язку з цим, низка виявлених видів ксилотрофів у вигляді окремих штамів може бути введена в культуру для подальших медичних досліджень.

Гриби-ксилотрофи також запропоновані [8] як індикатори антропогенної (рекреаційної) порушеності деревостанів листяних порід. За цією системою у мікоценозах зелених насаджень м. Одеса переважають індикатори сильного пошкодження деревних порід: *Ganoderma lipsiense* – трутовик плоский; *Phellinus robustus* – трутовик несправжній дубовий; *Schizophyllum commune* – розщепка звичайна; *Stereum hirsutum* – стереум жорстково волосистий; *Trametes versicolor* – траметес різнобарвний і *Trametes hirsuta* – траметес жорстко волосистий. Крім того доповненням до цієї групи тут є види-індикатори механічного пошкодження дерев, зрідження деревостанів, їх фрагментації і утворення галявин: *Laetiporus sulphureus* – трутовик сірчано-жовтий; *Fomes fomentarius* – трутовик справжній і *Phellinus igniarius* – трутовик несправжній. Цей аналіз свідчить про певні екологічні проблеми в зелених насадженнях м. Одеса.

Одеса розташована в сухостеповій зоні України, тому лісорослинні умови тут дуже напружені, відповідно, стійкість дерев до враження грибами-ксилотрофами знижена. Однозначно вирішити, де кращий стан деревостою в місті і менше пошкодження дереворуйнівними грибами неможливо. Опосередковано це паркові зони, де ведеться постійний догляд за зеленими насадженнями і своєчасне видалення хворих і сухих екземплярів дерев. На вулицях міста дерева переважно страждають від забруднення повітря та ґрунту викидами транспортних потоків. Крім того, їх поодинокі розташування також вразливіше до сильних вітрів, які частіше дмуть або з північного, або з південного боку (з моря). Найбільшу кількість видів дереворуйнівних грибів виявляли в зелених насадженнях на приморських схилах і вище них розташованих санаторних парках, які переважно зберігають риси природних лісових масивів з наявністю лісового опаду і сухостою.

### Висновки

Мікобіота різних екотопів м. Одеси досить різноманітна. Її розвиток тісно поєднаний з характером деревостою та екологічними умовами району зростання. Загальне число видів базидіальних грибів-ксилотрофів, виявлених в зелених насадженнях м. Одеси, становить 27. Вони належать до двох класів, 6 порядків, 13 родин та 22 родів. Виявлені ксилотрофи були асоційовані з 19 видами деревних рослин. У досліджуваних мікоценозах переважають індикатори сильного пошкодження деревних порід, і механічного зокрема, що призводить до розрідження деревостою і його фрагментації. Отримані результати можуть бути використані для своєчасного проведення фітосанітарних заходів у парках та на вулицях міста.

Стаття надійшла до редакції 08.04.2020

### Список використаної літератури

1. Бабенко О. А. Макроміцети міста Одеси та його околиць / О. А. Бабенко, Ф. П. Ткаченко // Вісник ОНУ. Біологія. – 2008. – Т. 13, вип. 14. – С. 58–64.
2. Бондарцева М. А. Определитель грибов России. Порядок Афиллофоровые / М. А. Бондарцева. – Вып. 2. – РАН. – СПб.: Наука, 1998. – 391 с.
3. Дудка И. А. Грибы: справочник миколога и грибника / И. А. Дудка, С. П. Вассер. – К.: Наук. думка, 1987. – 535 с.
4. Гарибова М. А. Основы микологии: морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. Учебное пособие / М. А. Гарибова, С. Н. Лекомцева. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. – 220 с.
5. Зерова М. Я. С.В. Визначник грибів України. Т. 5. Базидіоміцети. Кн. 1 / М. Я. Зерова, Г. Г. Радзівський, С. В. Шевченко. – К.: Наук. думка, 1972. – 240 с.
6. Зерова М. Я. Визначник грибів України. Т. 5, Базидіоміцети. Кн. 2. / М. Я. Зерова, П. Є. Соcін, Г. А. Ротенко. – К.: Наук. думка, 1979. – 518 с.
7. Исигов В. П. Дендромикология / В. П. Исигов, Н. И. Конопля. – Луганск: Альма-матер, 2005. – 353 с.
8. Медведев А. Г. Трутовые грибы как индикаторы изменений лесных экосистем под воздействием антропогенной загрузки / А. Г. Медведев. – Тверь: ТИЭП, 2006. – 236 с.
9. Мухин В. А. Микогенное разложение древесины и эмиссия углерода в лесных экосистемах / В. А. Мухин, П. Ю. Воронин // Экология. – 2007. – № 1. – С. 24–29.
10. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин и др. – К.: Наук. думка, 1987. – 548 с.
11. Сухомлин М. М. Гриби України: Атлас-довідник / М. М. Сухомлин, В. В. Джаган. – К.: KM Publishing, 2013. – 224 с.
12. Татарина О. К. Ксилотрофні афілофоральні базидіоміцети Житомирського Полісся та перспективи їх практичного використання / О. К. Татарина // Методологические основы познания биологических особенностей грибов продуцентов физиологически активных соединений и пищевых продуктов. Матер. II Междунар. конф. (Донецк, 25–27 ноября 2002 г.). – Донецк: Норд компьютер, 2002. – С. 47–51.
13. Bernicchia A. Polyporaceae s.l. / A. Bernicchia. – Ed. Candusso, 2006. – 712 p. – (Fungi Europaei; 11).
14. Lindegrust U. The Pharmacological Potential of Mushrooms / U. Lindegrust, H. J. Niedermeyer Timo, W.-D. Julich // CAM Evid. Based Complement. Altern. Med. – 2005. – Vol. 2, N 3. – P. 263–265.
15. MycoBank Database. Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks // International Mycological Association (IMA). 2020. [Electronic resource]. Mode of access: <http://www.mycobank.org/>
16. Stokland J. N. Legacies from natural forest dynamics: different effects of forest management on wood-inhabiting fungi in pine and spruce forests / J. N. Stokland, K.-H. Larsson // Forest Ecology and Management. – 2011. – Vol. 261 (11). – P. 1707–1721.

**F. P. Tkachenko, T. I. Opalko**

Odesa I.I. Mechnykov National University, Department of Botany,  
2 Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: tvf@ukr.net

## **BASIDIAL MUSHROOMS-XYLOTROPHES OF GREEN PLANTATIONS OF TREES OF ODESA**

### **Abstract**

**Problem.** Species diversity of basidial xylotrophic fungi and their effect on the condition of the wood species associated with them.

**Aim.** Investigation of the xylotrophic mushrooms of the green plantations of trees of Odesa and evaluation of their indicator significance.

**Methods.** Studies of basidial xylotrophics were carried out in 2010-2020. Mushrooms were collected on trees, tree fallout (branches) and on stumps within the city of Odesa, in particular in the parks named after Shevchenko, Pobedy, Savitskyi, Diukovskyi, on the coastal slopes and on the streets of the city, where the oldest age group of tree plants is most widely represented. For this, the method of route studies was used. The description of the identified species was carried out according to the conventional method. When describing fruit bodies (basidiocarps), attention was paid to their shape and size, texture, surface character, color, odor, type of hymenophore. Gif staining was performed with a standard set of reagents and dyes (5-7% KOH or NaOH, Meltzer reagent, iron sulfate, Congo red dye, etc.). A total of about 50 samples of basidiomycetes have been collected. Well-known determinants were used to identify them. Indicative significance of basidial xylotrophics (disturbance of the state tree stand) was evaluated according to the method of O.A. Blinkova.

**Main results.** The total number of the species of basidial xylotrophs found in green plantations of trees of Odesa is 27. They belong to two classes, 6 orders, 13 families and 22 genera. The detected xylotrophs were associated with 19 species of tree plants. It is shown that in the Mycocenoses of green plantations in Odesa, indicators of strong damage of wood species prevail, including mechanical ones, which leads to the thinning of tree stand and its fragmentation. The results obtained can be used for the timely phytosanitary activities in parks and on the city streets.

**Conclusions:** The deterioration of the ecological parameters of the growth areas of the tree species in the green plantations of Odesa leads them to the oppression and settlement by xylotrophic mushrooms.

**Keywords:** wood destructive fungi; species composition; indicator significance; green plantations of trees; Odessa.

### **References**

1. Babenko O. A., Tkachenko F. P. (2008) *Mushrooms of Odessa city and his vicinity* [Macromiceti mists Odesi ta jogo okolic], Vistnik ONU. Biologia. – 13(14): 58-64.
2. Bondarceva M. A. (1998) *Determination of Russian mushrooms. Order Aphyllophorales* [Opre-delitel gribov Rossii. Poriadok Aphyllophorales] Ed. 2. SPb: Science. 391 p.
3. Garibova M. A., Lekomceva C. N. (2005) *Foundations of mycology: morphology and systematic of fungi and fungi similar organisms. Educational appliance*. [Osnovi mikologii: morfologiya i siste-

- matika gribov s gribopodobnih organismov. Uchebnoe posobie]. M: Tovarischestvo nauchnykh izdaniy KMK. 320 p.
4. Dudka I.A., Vasser S.P. (1987) *Fungi: reference book of mycologist and mushroomer* [Gribi: spravochnik mikologa i gribnika]. K.: Nauk. Dumka, 320 p.
5. Zerova M. Ja., Radzievsky G. G., Shevchenko C. V. (1972) *Determination of fungi Ukraine. Vol. 5. Basidiomycetes* [Viznachnik gribov Ukraini. T. 5. Basidiomycetes]. B. 1. K.: Nauk. dumka. 240 p.
6. Zerova M. Ja., Sosin P. E., Rotenko G. A. (1979) *Determination of fungi Ukraine. Vol. 5. Basidiomycetes* [Viznachnik gribov Ukraini. T. 5. Basidiomycetes]. B. 2. K.: Nauk. dumka. 518 p.
7. Isikov V. P., Konopla N. I. (2005) *Dendromycology* [Dendromikologia]. Lugansk: Alma-mater. 353 p.
8. Medvedev A. G. (2006) *Bracket-fungus how indicators change of wood ecosystems under influence of antropogenically pressure* [Trutovie gribi kak indikator izmeneniy lesnich ekosistem pod vozdeystviem antropogennoy nagrushi]. Tver: TIEP. 236 p.
9. Muchin V. A., Voronin P. Ju. (2007) «*Mycogenous destroy of wood and emission of carbon in wood ecosystems*» [«Mikogennoe razlogenie drevesini i emissia ugleroda v lesnich ekosistemah»]. *Ecology*. 1. pp. 24-39.
10. Dobrochaeva D. N., Kotov M. I., Prokudin Ju. N. (1987) *Determination of high plants of Ukraine* [Opredelitel visshich rasteniy Ukraini]. K.: Nauk. dumka. 548 p.
11. Suchomlin M. M., Dzhagan V. V. (2013) *Fungi of Ukraine: Atlas-guide* [Gribi Ukraini: Atlas-dovidnik]. K.: KM Publishing. 224 p.
12. Tatarinova O.K. (2002) *Xylotrophic Aphyllophorales basidiomycetes of Zhitomir Polissia and perspectives their practice application, Methodological foundations knowledge of biological peculiarity fungi-producers of physiology active substances and foodstuffs*. Materials of II International conference (Doneck, 25-27 Nov. 2002 y.) [Ksilotrphni aphilophoralni basidiomiceti Zhitomirskogo Polissia ta perspecivi ich praktichnogo vikoristania. Metodologicheskie osnovi posnania biologicheskikh osobennostey gribov producentov fisiologicheski aktivnich soedineniy i pischevich productov. Materiali II mezhdunarodnoy konferencii (Doneck, 25-27 noiabria 2002 g.). Doneck: Nord computer. P. 47-51.
13. Bernicchia A. *Polyporaceae* s.l. Ed. Candusso, 2006. 712 p. (Fungi Europaei; 11).
14. Lindegrust U., Niedermeyer Timo H.J., Julich W.-D. (2005) The Pharmacological Potential of Mushrooms. CAM Evid. Based Complement. *Altern. Med.* 2(3): 263-265.
15. MycoBank Database. Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. International Mycological Association (IMA). 2020. [Electronic resource]. Mode of access: <http://www.mycobank.org/>
16. Stokland J. N., Larsson K.-H. (2011) Legacies from natural forest dynamics: different effects of forest management on wood-inhabiting fungi in pine and spruce forests. *Forest Ecology and Management*. 261 (11): 1707–1721.



# **ГЕНЕТИКА ТА МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ**





Т. Г. Алексєєва, к.б.н., доцент

А. В. Шерен, магістр

С. В. Білоконь, к.б.н., доцент

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,

e-mail: t.alieksieieva@onu.edu.ua

## ОЦІНКА ВПЛИВУ ХАРЧОВИХ БАРВНИКІВ НА *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIGH

Досліджували вплив внесення у харчове середовище синтетичних харчових барвників Індигокармін® і Понсо червоний® на показники пристосованості *Drosophila melanogaster* лінії Canton-S. Встановлено відсутність суттєвого впливу харчових барвників у рекомендованих концентраціях на тривалість життя мух дослідних варіантів. Показник плодючості комах, навпаки, вірогідно зменшувався з підвищенням концентрації досліджуваних препаратів. У той же час визначення активності роботи генетичного апарату клітин слинних залоз личинок мух у дослідних варіантах виявило пригнічувальний ефект барвників лише за умови внесення мінімальних концентрацій.

**Ключові слова:** *Drosophila melanogaster*; плодючість; тривалість життя; політенні хромосоми; харчові барвники.

За останні десятиліття різко збільшився асортимент харчових добавок, що використовуються у харчовій промисловості [10], у зв'язку з чим гостро стало питання безпечності цих добавок для організму людини [20]. Певні сполуки, при потраплянні в організм, особливо у комбінації з іншими подібними речовинами, можуть виявитися шкідливими для організму [12, 14]. У випадку накопичення в організмі виникає складна залежність між біологічною активністю речовини, величиною дози, швидкістю виведення з організму та інтервалом потрапляння її в організм [11]. Наявні у літературі результати досліджень токсичності барвників синтетичного походження свідчать про те, що практично всі вони здатні, в залежності від дози, викликати небажані токсичні ефекти [10, 12, 20]. Спроби ж визначити генотоксичні ефекти від вживання харчових барвників у наявній літературі дуже обмежені [11]. Метою даної роботи була оцінка можливого впливу харчових барвників на життєздатність дрозофіли та на генетичний апарат клітин слинних залоз личинок *Drosophila melanogaster* дикого типу.

### Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження була обрана лінія мух дикого типу C-S, що відрізня-

ється добрими пристосувальними можливостями і широко використовується як модельний організм для з'ясування біологічної активності та скринінгу на мутагенність та токсичність різних речовин [3, 6, 7, 27, 29].

Личинки розвивалися на стандартному цукрово-дріжджовому середовищі за температури 22–24 °С.

Для досліджу було обрано комерційні харчові барвники виробництва фірми «Квітень» – «Індигокармін®» і «Понсо червоний®». Комерційні препарати барвників представляють собою цукор, просякнутий відповідною хімічною речовиною, тому для кожної серії дослідів використовували два контролю – «чисте середовище» і з додаванням відповідної кількості цукру. З метою перевірки потенційного впливу харчових барвників на функціонування генетичного апарату дрізофіли використовували серію концентрацій, починаючи з рекомендованої виробником (0,5–2,5 г/кг кінцевого продукту). Були задіяні такі концентрації барвників:

12,5 мг/50 мл поживного середовища (зменшена у 2 рази від мінімальної рекомендованої виробником)

25 мг/50 мл (мінімальна рекомендована виробником)

32,5 мг/50 мл (проміжна рекомендована)

65,5 мг/50 мл (проміжна рекомендована)

125 мг/50 мл (максимальна рекомендована виробником).

Показники пристосованості – тривалість життя і плодючість мух, вирощених на дослідних і контрольних варіантах, оцінювали за стандартними методами, додаючи барвники у вищезазначених концентраціях у середовище для личинкового згодовування [2, 3, 15, 25].

Ступінь політенії хромосом досліджували у личинок наприкінці третього віку. На даному етапі розвитку у клітинах слинних залоз личинок не відбувається ініціації нових циклів ендоредуплікації хромосом [21–24, 26, 28]. У ядрах клітин слинних залоз дрізофіли знаходяться 2–4 класи ядер з рівнями політенії хромосом 256С, 512С, 1024С і 2048С. На цитологічних препаратах ці класи ядер розрізняються за шириною хромосом та інтенсивністю забарвлення ацетоорсеїном [21, 22]. Визначали процентне співвідношення ядер з різним ступенем політенії, а також середні показники ступеня для кожного дослідного і контрольного варіанту [16]. Отримані дані про ступінь політенії хромосом у контролі та за додавання харчових барвників зводили у ряди розподілів ознак. Вірогідність відмінностей рядів розподілів порівнювали за допомогою критерію Пірсона [1]. Для кожного варіанту досліджу і контролю досліджувалися слинні залози не менш ніж 10 личинок жіночої статі.

### **Результати досліджень та їх обговорення**

Перевірка тривалості життя комах усіх досліджених і контрольних варіантів встановила подібність отриманих показників. Середня тривалість життя мух складала приблизно 11–12 діб; перевірка вірогідності відмінностей за критерієм Крамера-Уелча встановила їх відсутність (табл. 1).

Таблиця 1

**Тривалість життя мух за умови внесення харчових барвників у живильне середовище ( $Lt_{50}$ ), доби,  $n = 200-300$**

Концентрація барвників, мг/50мл поживного середовища	Мухи лінії C-S			
	Індигокармін®	Понсо червоний®	Контроль 1	Контроль 2
12,5	11,33 ± 0,33	12,00 ± 0,58	11,67 ± 0,33	11,54 ± 0,32
25	11,17 ± 0,30	11,50 ± 0,72		11,68 ± 0,26
32,5	11,08 ± 0,87	12,25 ± 0,41		11,82 ± 0,45
65,5	11,56 ± 0,53	11,94 ± 0,64		12,15 ± 0,53
125	11,67 ± 0,60	11,45 ± 0,58		11,64 ± 0,56

Показники плодючості мух в усіх варіантах дослідів наведені у табл. 2. Аналіз отриманих даних продемонстрував вірогідне зменшення плодючості мух за кількістю імаго у порівнянні з контролем 1, починаючи з концентрації 32,5 мг на 50 мл поживного середовища для Індигокарміну, і концентрації 65,5 мг для Понсо червоного. У менших концентраціях відмінностей у порівнянні з контролем 1 не було зафіксовано. Подібні ж результати відмічено у порівнянні плодючості мух у досліді з відповідним показником комах у контролі 2. Порівняння між собою показників, отриманих у контролі 1 і контролі 2, не виявило вірогідних відмінностей.

Таким чином, наші дослідження демонструють відсутність негативного впливу додавання у поживне середовище харчових барвників Індигокармін® і Понсо червоний® на показник тривалості життя мух лінії C-S у всіх реко-

Таблиця 2

**Плодючість мух за умови внесення харчових барвників у живильне середовище ( $Lt_{50}$ ), доби,  $n = 20-30$**

Концентрація барвників, мг/50мл поживного середовища	Мухи лінії C-S			
	Індигокармін®	Понсо червоний®	Контроль 1	Контроль 2
12,5	35,80 ± 1,57	35,30 ± 1,77	38,17 ± 1,33	35,65 ± 0,56
25	37,00 ± 1,02	36,00 ± 1,78		37,00 ± 1,12
32,5	34,67 ± 1,71 *	36,00 ± 1,90		36,89 ± 1,50
65,5	32,00 ± 0,58 * **	31,00 ± 0,60 * **		38,18 ± 1,67
125	30,33 ± 0,67 * **	28,3 ± 1,43 * **		40,26 ± 1,90

\* – вірогідність відмінностей у порівнянні з контролем 1

\*\* – вірогідність відмінностей у порівнянні з контролем 2

мендованих виробником концентраціях, і в малих концентраціях – на показник плодючості. При збільшенні концентрацій барвників (від 32,5 для Індигокарміну та 65,5 для Понсо червоного) відмічено достовірне зменшення плодючості мух за кількістю імаго. Показово, що додавання у поживне середовище цукру (носія барвника у комерційних препаратах) у відповідних кількостях не впливало на досліджувані показники пристосованості комах (табл. 1, 2).

У нормі протягом личиночного віку кожна клітина слинних залоз дрозофіли потерпає від 7 до 10 циклів політенізації. Таким чином, на завершальному етапі розвитку (3 вік личинки), серед клітин слинних залоз виявляють чотири дискретних класи (рис. 1), співвідношення яких є генетично контрольованою ознакою [21, 28]. У той же час багатьма дослідженнями встановлено певну чутливість цієї кількісної ознаки до умов навколишнього середовища [6, 7, 18, 22, 29]. Показано зміни темпів, передусім уповільнення проходження циклів редуплікації інтерфазних політенних хромосом клітинами слинних залоз дрозофіли під впливом як генетичних чинників (низькоприспособлені лінії, лінії з наявністю напівлетальних мутацій), так і впливом середовища (перенаселеність, вплив ксенобіотиків, температурних чинників тощо) [9, 23, 24, 26, 27].

Ацетоорсеїнові препарати слинних залоз личинок досліджуваних варіантів і контролю фотографували і на мікрофотографіях політенних хромосом (рис. 1) визначали їх ширину.

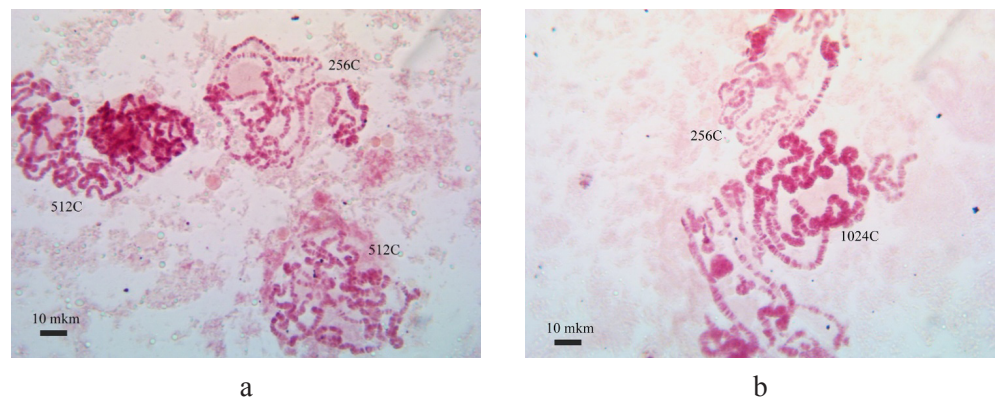


Рис. 1. Мікрофотографії політенних хромосом личинок лінії *Canton-S* з визначеним ступенем політенізації. а – варіант з додаванням харчового барвника Понсо у концентрації 32,5 мг/50мл, б – контроль

Згруповані дані за частотою появи дискретних класів політенних ядер (у відсотках) у досліджених варіантах наведено на рис. 2. Ступінь політенізації хромосом у клітинах слинних залоз узагальненого контролю знаходилася в межах 8–9 циклів ендоредуплікації (класом з найбільшою кількістю клітин у контролі був клас за ступенем політенізації 512С, що відповідає 8 циклам політенізації хромосом). Близько 40 % клітин потерпали ще один, дев'ятий цикл

(1024C); на цьому циклі зупинявся розвиток близько 5 % клітин слинних залоз у контрольному варіанті.

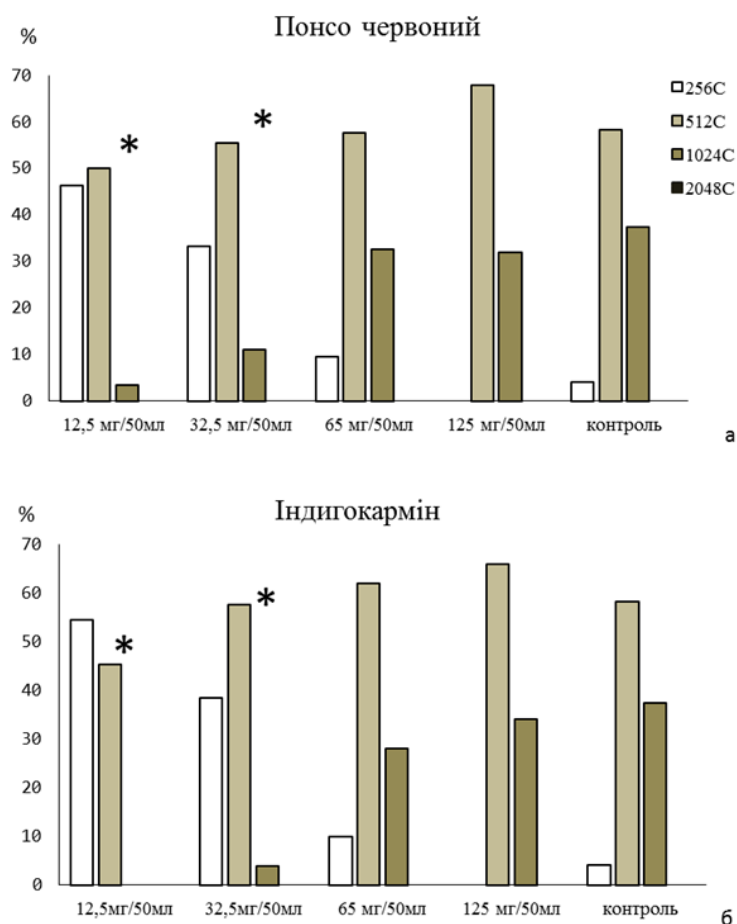


Рис. 2. Розподіл клітин слинних залоз личинок мух на класи в залежності від кількості циклів ендоредуплікації при вмісті харчових барвників Понсо червоного (а) і Індигокарміну (б) у поживному середовищі

Примітка\* – відмінності між розподілом варіанту і контролю вірогідні згідно з критерієм Пірсона при  $P < 0,01$

Додавання у корм для личинок харчових барвників у різних концентраціях (рис. 2) дозволило виявити такі закономірності: обидва барвники, і Понсо червоний, і Індигокармін, при додаванні у середовище у низьких концентраціях значно і вірогідно змінювали темпи проходження клітинами слинних залоз циклів політенізації. Показано значне підвищення кількості клітин слинних залоз, які на момент досягнення личинкою передлялечкового віку ще були на етапі 7 циклів політенізації (256C), на відміну від контролю, де кількість таких клітин

не перевищувала п'яти відсотків. Максимальна рекомендована виробником доза, навпаки, мала слабкий стимулюючий ефект, що виявилось у відсутності клітин, що зупинилися на сьомому циклі політенізації (усі клітини слинних залоз у цих варіантах досягли восьмого і дев'ятого ступенів), на відміну від контролю, де незначна кількість клітин мала 256С. Зазначені відмінності, втім, не були вірогідними, згідно з критерієм Пірсона [1].

Показник середньої політенії хромосом характеризує дозу генів у клітинному ядрі і має адаптивне значення [5, 18]. У табл. 3 наведено дані про показники середньої політенії хромосом (СПХ) усіх досліджених варіантів досліду та узагальненого контролю.

Таблиця 3

**Показник середньої політенії хромосом клітин слинних залоз личинок *Drosophila melanogaster* за додавання у поживне середовище харчових барвників**

Концентрація барвників, мг/50мл	Понсо червоний®	Індігокармін®	Контроль
12,5	411,48 ± 24,56**	372,35 ± 32,99**	693,38 ± 39,46
32,5	483,55 ± 30,80**	433,24 ± 42,80**	
65,5	654,75 ± 54,31	629,76 ± 32,46	
125	675,84 ± 37,91	686,54 ± 24,33	

\* – рівень значущості –  $p < 0,05$

\*\* – рівень значущості –  $p < 0,001$  за критерієм Крамера-Уелча

Рівень політенії хромосом є характеристикою ступеня примноження генома у клітинному ядрі. Багато авторів вказують на адаптивне значення політенії, яке є одним із механізмів регуляції кількісної експресії генів у еукаріот [5, 8]. На думку В. Ю. Страшнюка зі співавторами, ступінь політенії хромосом, з урахуванням швидкості розвитку особин відображає рівень функції відтворення генетичного матеріалу хромосом у клітинах. Від цієї функції геному значною мірою залежить здатність клітин до репарації генетичних пошкоджень, викликаних дією негативних факторів середовища [21].

Встановлені нами вірогідні відмінності у середньому ступені політенії хромосом (табл. 3) свідчать про те, що клітини слинних залоз личинок, вирощених на досліджених варіантах поживного середовища, мають різні дози генів. Показано, що внесення низьких доз досліджуваних харчових барвників спричиняє помітне зменшення середнього показника ступеня політенії, властивого клітинам слинних залоз личинок. Цікавим фактом є те, що це зниження, яке є свідченням меншої активності генетичного апарата клітин личинок, вирощених на середовищі з барвниками, не позначається на фізіологічних показниках мух, отриманих у цих дослідах (табл. 1, 2). Ні плодючість, ні тривалість життя дослідних імаго не мала вірогідних відмінностей від відповідних показників контролю.

На відміну від даних літератури, які свідчать про негативний вплив харчових барвників на життєдіяльність використаних тест-об'єктів [11, 14, 17], нами не встановлено негативного впливу максимальних рекомендованих виробником концентрацій безпосередньо на досліджувані показники функціонування генетичного апарату. Розрахунок критерію Крамера-Уелча показав відсутність вірогідних відмінностей середнього ступеня політенії у клітинах личинок, вирощених на середовищі зі значними концентраціями вказаних барвників (табл. 3). В цей же час дані експериментів з визначення плодючості таких мух (табл. 2) свідчать про деяке зниження цього показника пристосованості.

З даних літератури [4, 9, 19] відомо, що стресова дія викликає формування неспецифічної адаптивної гормональної реакції личинок, що призводить до затримки метаморфозу і збільшенню ступеня політенізації хромосом. Можливо, саме цей ефект, покликаний нівелювати негативний вплив стресового чинника (високих концентрацій барвників) ми спостерігали за дослідження функціонування генетичного апарату клітин слинних залоз личинок дрозофіли на тлі максимальних концентрацій препаратів, внесених у поживне середовище.

## Висновки

1. Присутність у живильному середовищі харчових барвників Індігокарміну® і Понсо червоного® не виявило впливу на тривалість життя мух.
2. Відмічено зниження плодючості мух за кількістю імаго на середовищі з концентраціями харчових барвників, близькими до максимальних рекомендованих виробником.
3. У присутності в середовищі синтетичних харчових барвників у низьких концентраціях спостерігали уповільнення темпів проходження ендоембріональних клітинами слинних залоз *Drosophila melanogaster*.
4. За високих концентрацій барвників 65,5 і 125 мг/мл не виявлено негативного впливу на активність генетичного апарату мух.

Стаття надійшла до редакції 09.01.2020

## Список використаної літератури

1. Атраментова Л. А. Статистичні методи в біології: Підручник. / Л. А. Атраментова, О. М. Утевська. – Х.: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2007. – 288 с.
2. Голуб Н. Я. Мутації, індуковані рентгеновським опроміненням та деякими хімічними реагентами, що змінюють тривалість життя *Drosophila melanogaster* / Н. Я. Голуб, Я. І. Черник // Цитология и генетика. – 2008. – Т. 42, № 1. – С. 37–44.
3. Білоконь С. В. *Drosophila melanogaster* Мг. як тест-об'єкт скринінгу ксенобіотиків на акрицидну активність / С. В. Білоконь // Биологический вестник МГПУ имени Богдана Хмельницкого. – 2015. – 5 (1). – С. 145–155.
4. Белоусова И. Б. Влияние гормонов развития насекомых на биоэлектрические свойства клеточных ядер дрозофилы в опытах *in vivo* и *in vitro* / И. Б. Белоусова, В. Ю. Страшнюк, В. Г. Шахбазов // Біол. Вісник. – 2004. – Т. 8, № 2. – С. 99–102.
5. Бродский В. Я. Клеточная полиплоидия: пролиферация и дифференцировка / В. Я. Бродский, И. В. Урываева. – М.: Наука, 1981. – 259 с.

6. Горенская О. В. Формирование приспособленности при хроническом действии кофеина у *Drosophila melanogaster* / О. В. Горенская // Вісник ХНУ імені В. Н. Каразіна. Серія Біологія. – 2010. – № 905, вип. 11. – С. 66–76.
7. Горенская О. В. Влияние генотипа на приспособленность дрозофилы при воздействии малых доз сверхвысокочастотного электромагнитного излучения / О. В. Горенская, А. Б. Гаврилов, Ю. Г. Шкорбатов, В. А. Катрич // Вісник проблем біології і медицини. – 2010. – Вип. 1. – С. 52–56.
8. Жимулёв И. Ф. Современные представления об организации и функционировании полигенных хромосом / И. Ф. Жимулёв // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 11. – С. 2–7.
9. Журавлева Л. А. Влияние плотности культуры на степень политерии гигантских хромосом инбредных линий и гибридов *Drosophila melanogaster* / Л. А. Журавлева, В. Ю. Страшнюк, В. Г. Шахбазов // Цитология и генетика. – 2004. – Т. 38, № 3. – С. 46–51.
10. Катаєва С. Є. Харчові добавки: небезпека використання барвників у кондитерських виробках / С. Є. Катаєва. – Мукачеве, 2006. – 64 с.
11. Ластухін Ю. О. Харчові добавки. Е-коди. Будова. Одержання. Властивості. Навчальний посібник / Ю. О. Ластухін. – Львів : Центр Європи, 2009. – 836 с.
12. Малеев В. О. Методичні рекомендації для вивчення навчального матеріалу за темою «Харчові добавки» з дисципліни «Екологія» / В. О. Малеев, О. В. Лянзберг. – Херсон: Колос, 2005. – 26 с.
13. Марченко А. Ю. Генетическая вариабельность степени политерии гигантских хромосом и действие 20ОН-экистерона на эндоредупликацию у *Drosophila melanogaster* Meig. / А. Ю. Марченко, В. Ю. Страшнюк // Вісник ХНУ імені В. Н. Каразіна. Серія: біологія. – 2006. – № 729, вип. 3. – С. 91–97.
14. Нечаев А. П. Пищевая химия / А. П. Нечаев, С. Е. Траубенберг, А. А. Кочеткова. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2003. – 640 с.
15. Орлов А. И. Прикладная статистика. Учебник / А. И. Орлов. – М.: Экзамен, 2004. – 656 с.
16. Пат. 137874 Україна, G01N 33/554 (2006.01) на корисну модель. Спосіб визначення токсичної дії хімічної речовини / Страшнюк В. Ю., Тагліна О. В., Білоконь С. В., Алексеева Т. Г.; заявл. 15.04.2019; опубл. 11.11.2019, Бюл. № 21. – 4 с.
17. Попович Н. А. К оценке опасности применения синтетических пищевых красителей (Обзор) / Н. А. Попович, С. Е. Катаева, Т. И. Мельниченко // Современные проблемы токсикологии. – 2000. – № 2. – С. 33–39.
18. Рарог М. А. Влияние плотности культуры на экспрессивность признака eyeless и степень политерии гигантских хромосом у *Drosophila melanogaster* / М. А. Рарог, В. Ю. Страшнюк, А. О. Кондратьева, Т. В. Дмитрук, Л. И. Воробьева, В. Г. Шахбазов // Генетика. – 1999. – Т. 35, № 7. – С. 898–902.
19. Раушенбах И. Ю. Генетико-эндокринная регуляция развития *Drosophila* в экстремальных условиях среды. Сообщение III. Влияние высокой плотности культуры на выживаемость, гормональный статус и активность ЮГ-эстеразы *Drosophila virilis* / И. Ю. Раушенбах, Н. С. Лукашина // Генетика. – 1997. – Т. 33, № 8. – С. 1110–1118.
20. Смоляр В. І. Харчова експертиза / В. І. Смоляр. – К.: Здоров'я, 2005. – 505 с.
21. Страшнюк В. Ю. Цитоморфометрическое исследование политерных хромосом *Drosophila melanogaster* в связи с эффектом гетерозиса, отбором по адаптивно важным признакам и полом / В. Ю. Страшнюк, С. Н. Непейвода, В. Г. Шахбазов // Генетика. – 1995. – Т. 31, № 1. – С. 24–29.
22. Страшнюк В. Ю. Влияние генотипа на степень политерии гигантских хромосом *Drosophila melanogaster* Meig в связи с различиями по приспособленности / В. Ю. Страшнюк, И. Б. Белоусова, И. С. Леонова // Изв. Харьков. энтомол. об-ва, 2000. – Т. 8, вып. 1. – С. 179–182.
23. Страшнюк В. Ю. Влияние возраста и гормонов развития на эндоредупликацию политерных хромосом у *Drosophila melanogaster* / В. Ю. Страшнюк // Биологические механизмы старения: VI Междунар. симпоз. Харьков, 2004. – С. 61–62.

24. Страшнюк В. Ю. Структурно-функциональные особенности политенных хромосом *Drosophila melanogaster* при гетерозисе / В. Ю. Страшнюк, О. В. Таглина, О. В. Горенская, Л. А. Шакина // Вісник ХНУ імені В. Н. Каразіна. Біологія. – 2009. – Т. 6. – С. 236–240.
25. Хаустова Н. Д. Эффективность размножения и элементы приспособленности мутантов *vg* и *cnvg* *Drosophila melanogaster* / Н. Д. Хаустова, С. В. Белокоп, В. Н. Тоцкий, И. В. Сургучева // Вісник ОНУ. Серія Біологія. – 2005. – Т. 10, вип. 5. – С. 145–154.
26. Шакина Л. А. Генетические, молекулярные и гуморальные механизмы, регулирующие эндоцикл / Л. А. Шакина, В. Ю. Страшнюк // Генетика. – 2011. – Т. 47, № 10. – С. 13–22.
27. Dyka L. D. Effects of 36.6 GHz and static magnetic field on degree of endoreduplication in *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes / L. D. Dyka, L. A. Shagina, V. Yu. Strashnyuk, Yu. G. Shckorbatov // Inter. jour. of radiation biology. – 2016. – V. 92, № 4. – P. 222–227.
28. Rodman T. C. DNA replication in salivary gland nuclei of *Drosophila melanogaster* at successive larval and prepupal stages / T. C. Rodman // Journal Genetics. – 1967. – Vol. 55. – P. 375–386.
29. Nesterkina M. The influence of monoterpenoids and phenol derivatives on *Drosophila melanogaster* viability / M. Nesterkina, S. Bilokon, T. Aliksieieva, I. Chubyk, I. Kravchenko // Journal of Asia-Pacific Entomology. – 2018. – V. 21, I. 3. – P. 793–796.

**T. G. Aliksieieva, A. V. Sheren, S. V. Belokon**

Odesa National Mechnykov University, department of genetics and molecular biology, 2 Dvorianska Str, Odesa, 65082, Ukraine,  
e-mail: t.aliksieieva@onu.edu.ua

## ASSESSMENT OF INFLUENCE OF FOOD DYES ON *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIGH

### Abstract

**Introduction.** The known results of studies of toxicity of synthetic dyes indicate that almost all of them are capable to show an undesirable damaging effect which depends on the dye dose.

**Aim.** Biotesting of synthetic food dyes on *Drosophila melanogaster*.

**Methods.** Studies were carried out on wild type flies of the *C-S* line. The fitness indicators – the fecundity and longevity of adults grown on a nutrient medium with the addition of synthetic food dyes in the range from minimum to maximum concentrations recommended by the manufacturer have been studied. The functioning of the genetic apparatus of the salivary gland cells of *Drosophila* larvae was evaluated basing on the average polythenization of chromosomes and the distribution of cells with nuclei of varying degrees of polythenization.

**Results.** The effect of adding Ponso red and Indigocarmine synthetic food dyes to the growth medium for wild-type *Drosophila melanogaster* was studied. The full range of concentrations which were recommended by the manufacturer was tested. It was shown that the life expectancy of flies in all variants of experiments and controls did not have significant differences and approximately amounted to 11-12 days. Fertility of flies significantly decreased using the maximum concentration recommended by the manufacturer. The state of the genetic apparatus of salivary gland cells was evaluated by their passage of endocycles, which result in the polythenization of chromosomes. A significant slowdown in the endoreduplication rate was established under

the influence of the minimum concentrations recommended by the manufacturer for both dyes. An increase in the concentration of dyes, on the contrary, stimulated the passage of the following endoreduplication cycles.

**Conclusions.** Synthetic food dyes Indigocarmine® and Ponso red® did not affect the life span of *Drosophila melanogaster*, but when introduced in high concentrations, they significantly reduced the fecundity of experimental insects. The introduction of these dyes in the minimum concentrations reduced the rate of passage of the polytenization cycles inherent in the cells of the salivary glands of *Drosophila* larvae.

**Key words:** *Drosophila melanogaster*; fertility; life span; polytene chromosomes; food dyes.

## References

1. Atramentova L. A., Utevska O. M. (2007) *Statistical Methods in Biology: A Textbook* [Statystychni metody v biolohii : Pidruchnyk], Kharkov, KhNU imeni V. N. Karazina, 288 p.
2. Holub N. Ia., Chernyk Ya. I. (2008) *Mutations induced by X-rays and some chemical reagents changing Drosophila melanogaster life span* ["Mutatsii, indukovanii renthenivskym opromineniam ta deiakymy khimichnymy reahentamy, shcho zmyniuiut tryvalist zhyttia Drosophila melanogaster"], *Cytology and Genetic*, 42(1), pp. 37-44.
3. Bilokon S. V. (2015) "*Drosophila melanogaster* Mg. as the test-object for screening xenobiotics on acaricidal activity" ["*Drosophila melanogaster* Mg. yak test-obiekt skryninhu ksenobiotykyv na akarytsydney aktivnist"], *Biological Bulletin MHPU*, 5(1), pp. 145-155.
4. Belousova Y. B., Strashniuk V. Yu., Shakhbazov V. H. (2004) "*The influence of insect development hormones on the bioelectric properties of Drosophila cell nuclei at in vivo and in vitro experiments*" ["Vliyanye hormonov razvytyia nasekomikh na byoelektrycheskye svoystva kletochnykh yader drozofyly v opitakh in vivo i in vitro"], *Biol. Visnyk*, 8(2), pp. 99-102.
5. Brodskiy V. Ya., Uryvaeva Y. V. (1981) "*Cellular Polyploidy: Proliferation and Differentiation*" ["Kletochnaia polyploidiya: prolyferatsiya y dyfferentsyrovka"], Moscow, Nauka, 259 p.
6. Gorenskaya O. V. (2010) "*Formation of the adaptability of Drosophila melanogaster at the chronic action of caffeine*" ["Formyrovanye prysposoblennosti pry khronycheskom deistvyi kofeyna u Drosophila melanogaster"], *Visnyk KhNU. Ser. Biolohiia*, 905(11), pp. 66-76.
7. Gorenskaya O. V., Havrylov A. B., Shkorbatov Yu. H., Katrych V. A. (2010) "*Influence of genotype on viability of Drosophila under small doses of microwave radiation*" ["Vliyanye henotypa na prysposoblennost drozofyly pri vozdeistvyi malikh doz sverkhvisokochastotnoho elektromahnytnoho yzluchenyia"], *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 1, pp. 52-56.
8. Zhimulev Y. F. (1997) "*Modern views on structure and function of polytene chromosomes*" ["Sovremennye predstavleniya ob orhanyzatsyy y funktsyonyrovanny polytennykh khromosom"], *Sorosovskiy obr. zhurnal*, 11, pp. 2-7.
9. Zhuravleva L. A., Strashniuk V. Yu., Shakhbazov V. H. (2004) "*The influence of culture density on the polyteny degree of giant chromosomes in inbred lines and hybrids of Drosophila melanogaster*" ["Vliyanye plotnosti kultury na stepen polytenyy hyhantskykh khromosom inbrednykh lynyi i hybrydov Drosophila melanogaster"], *Cytology and genetics*, 38(3), pp. 46-51.
10. Kataieva S. Ie. (2006) "*Nutritional supplements: the risk of using dyes in confectionery*" ["Kharchovi dobavky: nebezpeka vykorystannia barvnykyv u kondyterskykh vyrobakh"], *Mukacheve*, 64 p.
11. Lastukhin Yu. O. (2009) *Nutritional supplements. E-codes. Structure. Obtaining. Properties. Tutorial* [Kharchovi dobavky. E-kody. Budova. Oderzhannia. Vlastyvoli. Navchalnyi posibnyk], Lviv, Tsentru Yevropy, 836 p.
12. Malieiev V. O., Lianzberh O. V. (2005) *Methodical recommendations for the study of educational material on the topic "Nutritional supplements" in the discipline "Ecology"* [Metodychni re-

komendatsii dlia vyvchennia navchalnoho materialu za temoiu «Kharchovi dobavky» z dystsyplyny «Ekolohiia», Kherson, Kolos, 26 p.

13. Marchenko A. Iu., Strashniuk V. Yu. (2006) “Genetic variability of giant chromosomes polythy level and effects of 20OH-ecdysterone on endoreduplication in *Drosophila melanogaster* Meig” [“Henetycheskaia varyabelnost stepeny polytenyy hihantskykh khromosom i deistvyie ekdysterona na endoreduplykatsiyu u *Drosophila melanogaster* Meig.”], *Visnyk KhNU. Ser. Biologhiia*, 729(3), pp. 91–97.
14. Nechaev A. P., Traubenbeg S. E., Kochetkova A. A. (2003) *Food Chemistry* [“Pyshchevaia khy-myia”], Sankt-Peterburh, HYORD, 640 p.
15. Orlov A. Y. (2004) *Applied statistics*. Textbook [“Prykladnaia statystyka. Uchebnyk”], Moscow, Ekzamen, 656 p.
16. Pat. 137874 Ukraine, G01N 33/554 (2006.01) for utility model. A method for determining the toxic effect of a chemical [Sposib vyznachennia toksychnoi dii khimichnoi rehovyny]. Strashniuk V. Yu., Tahlina O. V., Bilokon S. V., Aliksieieva T. G; claimed 04/15/2019; publ. 11/11/2019, Bul. № 21. - 4 p.
17. Popovych N. A., Kataeva S. E., Melnychenko T. Y. (2000) *To the hazard assessment of the use of synthetic food colors (Review)* [“K otsenke opasnosti pryimeneniya syntetycheskykh pyshchevikh krasytelei (Obzor)”], *Sov. Probl. Toksykol*, 2, pp. 33-39
18. Rarog M. A., Strashniuk V. Yu., Kondrat’eva A. O., Dmytruk T. V., Vorob’eva L. Y., Shakhbazov V. H. (1999) “The effect of culture density on the expression of the eyeless trait and the degree of polythy of giant chromosomes in *Drosophila melanogaster*” [“Vlyianye plotnosti kultury na ekspressyvnost pryznaka *eyeless* i stepen polytenyy hyhantskykh khromosom u *Drosophila melanogaster*”], *Genetics*, 35(7), pp. 898–902.
19. Raushenbakh Y. Yu., Lukashyna N. S. (1997) *Genetic and endocrine regulation of the development of *Drosophila* in extreme environmental conditions. Message III. The effect of high culture density on the survival, hormonal status and activity of *Drosophila virilis* JH esterase* [“Henetyko-endokrynaia rehuliatyia razvytyia *Drosophila* v ekstremalnikh uslovyakh sredy. Soobshchenye III. Vlyianye vysokoi plotnosti kultury na vizhyvaemost, hormonalnii status i aktyvnost YuH-østerazi *Drosophila virilis*”], *Genetics*, 33(8), pp. 1110-1118.
20. Smolyar V. I. (2005) *Food Expertise* [Kharchova ekspertyza], Kyiv, Zdorovia, 505 p.
21. Strashniuk V. Yu., Nepeivoda S. N., Shakhbazov V. H. (1995) “Cytomorphometric study of the *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes in connection with the heterosis effect, selection by adaptively important characters and gender” [“Tsytomorfometrycheskoe yssledovanye polytennikh khromosom *Drosophila melanogaster* v svyazi s efektom heterozyza, otborom po adaptivno vazhnim pryznakam i polom”], *Genetics*, 31(1), pp. 24-29.
22. Strashnyuk V. Yu., Belousova I. B., Leonova I. S. (2000) *The influence of the genotype on the degree of polythy of giant chromosomes of *Drosophila melanogaster* Meig due to differences in fitness* [“Vlyianye henotypa na stepen polytenyy hyhantskykh khromosom *Drosophila melanogaster* Meig v svyazi s razlychyiamy po prysposoblennosti”], *Izv. Kharkiv. entomol. ob-va*, 8, 1, pp. 179-182.
23. Strashniuk V. Yu. (2004) *Effect of age and development hormones on endoreduplication of polytene chromosomes in *Drosophila melanogaster** [“Vlyianye vozrasta i hormonov razvytyia na endoreduplykatsiyu polytennikh khromosom u *Drosophila melanogaster*”], *Byol. mekh. starenia: VI Mezhdunar. sympoz.*, Kharkov, 2004, pp. 61-62.
24. Strashniuk V. Yu., Tahlina O. V., Gorenkaia O. V., Shakyna L. A. (2009) “Structural and functional features of polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster* during heterosis” [“Strukturno-funktsyonalnie osobennosti polytennikh khromosom *Drosophila melanogaster* pry heterozyze”], *Visnyk KhNU, Ser. Biologhiia*, 6, pp. 236-240.
25. Khaustova N.D., Belokon S. V., Totsky V. N., Surgucheva I. V. (2005) “Effectiveness of reproduction and fitness of mutants *vg* and *cnvg* *Drosophila melanogaster* components” [“Effektyvnost razmnozheniya i elementy prysposoblennosti mutantov *vg* i *cnvg* *Drosophila melanogaster*”], *Visnik ONU. Ser. Biol.*, 10(5), pp. 145-154.

26. Shakyna L. A., Strashniuk V. Yu. (2011) “*Genetic, molecular, and humoral endocycle-regulating mechanisms*” [“Genetycheskie, molekuliarnie i humoralnie mekhanyzmi, rehulyruiushchye endotsykl”], *Genetics*, 47(10), pp.13 – 22.
27. Dyka L.D., Shakina L. A. Strashnyuk V. Yu., Shckorbatov Yu. G. (2016) «Effects of 36.6 GHz and static magnetic field on degree of endoreduplication in *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes», *Inter. Jour. of radiation biology*, 92, 4, pp. 222-227.
28. Rodman T. C. (1967) «DNA replication in salivary gland nuclei of *Drosophila melanogaster* at successive larval and prepupal stages», *Genetics*, 55, pp. 375-386.
29. Nesterkina M., Bilokon S., Aliksieieva T., Chubyk I., Kravchenko I. (2018) «The influence of monoterpenoids and phenol derivatives on *Drosophila melanogaster* viability», *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21(3), 793-796.

UDC [551.506+551.577.2/.38]:57.033+632.112+633.111.1

doi 10.18524/2077-1746.2020.1(46).205848

**M. V. Sidorenko**<sup>1</sup>, bachelor

**S. V. Chebotar**<sup>1,2</sup>, D. Sc., Professor

<sup>1</sup>Odesa I. I. Mechnikov National University, Faculty of Biology, Department Of Genetics And Molecular Biology, 2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine,

<sup>2</sup>Plant Breeding and Genetics Institute – National Centre of Seed and Cultivar Investigation, Ovidiopolska doroga, 3, Odesa, 65036, Ukraine,

e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

## THE EFFECT OF DROUGHT ON WHEAT PLANTS AT DIFFERENT GROWTH STAGES

Modern publications on the impact of drought on winter wheat plants at different growth stages were analysed. The data on the climate conditions of Odesa region during the last 20 years (2000-2019) were summarized and correspondence of the phenological phases of winter wheat to different periods of weather conditions during the growth in the South Steppe zone of Ukraine was analysed. It was concluded that the most negative impact of drought takes place during seed germination and early growth, at flowering and grain filling and is due to the inhibition of growth, photosynthesis, and reproductive processes.

**Key words:** *Triticum aestivum* L.; phenology; water stress; climate; cultivars.

Climate change has negative consequences for agriculture, associated with increased temperatures, redistribution of precipitation, excessive evaporation, which lead to droughts and thus negatively affect crop yields and grain quality. According to the recent report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, in many mid-latitude dry regions precipitation is likely to decrease [12]. The Steppe zone of Ukraine is one of such vulnerable regions where the hot and dry climate can reduce yields of crop plants, particularly of winter wheat which is sensitive to droughts and high temperature [18; 16]. According to the recent data, during the last few decades, the quantity of precipitation in Ukraine did not decrease significantly but its pattern changed: rains became less frequent but more abundant. A large amount of water cannot be absorbed by the upper soil layer within a short time and flows down [44]. Such circumstances require investigation of the impact of drought stress on important crops, further amelioration of cultivars and optimization of agricultural activities.

Wheat plants vary in their susceptibility to water stress depending on cultivar, duration and intensity of drought, and phenological phase. The most drought-sensitive periods are inflorescence development, anthesis and fertilization, grain formation, and, according to some authors, tillering and shoot elongation [25]. According to

the data of academician M.A. Litvinenko from Plant Breeding and Genetics Institute [40], the most vulnerable to extreme factors ontogenetic phases are the spring renewal of vegetation, gametogenesis, anthesis, and the most critical phase – the passage from milk to dough ripeness on the 20-22<sup>nd</sup> day after anthesis. In the initial phase, water stress affects germination, thus decreasing plant density. Drought during tillering and stem elongation stages leads to a decreased tiller number and plant height. Water deficiency at anthesis and post-anthesis stages affect fertilization, yield formation and grain composition and quality [25; 29]. According to a recent meta-analysis [33], drought can reduce wheat biomass by 25% and yield by 27.5% due to the decrease in spike quantity per plant, spike length and grain content, and in grain weight. The effects of severe water stress are more pronounced comparing to mild stress and not entirely reversible.

### **Climatic conditions of Odesa region**

The temperate continental climate of Odesa region is characterized by mild winter with little precipitation, cool spring, hot and dry summer with occasional heavy rains, and long warm autumn. The average annual temperature changes from 8°C in the north to 11°C in the south of the region. The annual rainfall is around 450 mm but can vary significantly (from 356 mm in 2013 to 735 in 2010 in the series of years from 2000 to 2019). On average, 57.1% of the precipitation falls during the period of wheat growth and development (from October to the end of vegetation in November or early December, and from March to July). Hydrothermal coefficient of Selianinov (HTC) is a conditional index for the estimation of the aridity of a region, which considers total precipitation and the sum of the temperatures.  $HTC < 0.7$  indicates severe drought, 0.71-1.0 – moderate drought, 1.01-1.2 – moderate humidity,  $> 1.21$  – sufficient humidity [34]. HTC of Odesa region is 0.7 on average; it mostly fluctuates from 0.6 and lower to 0.7, but can rarely reach values over 1.0. Drought can also be determined by the comparison of total monthly rainfall with the climatic norm: less than 50 % indicates extreme drought, 50-70 % – severe drought, 71-80 % – moderate drought [34]. In 2000-2019, 104 of 240 months had the subnormal total rainfall. 58.7 % of drought events during this period could be characterized as extreme, 26.9 % as severe, and 14.4% as moderate. Apart from the rainfall insufficiency, a problem of precipitation irregularity also takes place. During 2000-2019, 26.4 % of the total rainfall was provided by ineffective precipitation, when 100 % of climatic norm and more fall within 1-3 days. During such incidents, the amount of water is excessive and cannot be absorbed by soil which leads to floods and waterlogging. The gas exchange between the soil and the atmosphere stops,  $O_2$  level decreases and the respiration of plant roots and microorganisms becomes restricted. Flooding inhibits growth and metabolism, decreases final grain yield in wheat [9]. The data about the climatic conditions of Odesa are summarized in Table 1.

The impact of the climate on the productivity formation of grain yield reaches 20-40 %, up to 60-70 % in the years with extreme weather conditions [37]. There

Table 1

**The climate characteristics of Odesa region at the period 2000-2019 years**

Year	R*, mm	R <sub>veg</sub> , mm (% of annual rainfall)	R <sub>ineff</sub> , mm	T <sub>av</sub> , °C	HTC	Productivity, t/ha
2000	480	226 (47.1 %)	100	11.3	0.86	1.80
2001	475	247 (52.0 %)	153	11.1	0.71	3.09
2002	507	277 (54.6 %)	229	11.5	0.90	2.87
2003	497	255 (51.3 %)	129	10.1	0.66	1.57
2004	596	349 (58.6 %)	46	11.0	0.98	3.24
2005	469	251 (53.5 %)	42	11.3	0.61	2.34
2006	512	362 (70.7 %)	124	10.6	0.95	2.36
2007	425	124 (29.2 %)	92	12.5	0.48	1.50
2008	399	344 (86.2 %)	109	11.7	0.73	3.04
2009	402	151 (37.6 %)	82	11.9	0.44	2.40
2010	735	356 (48.4 %)	167	11.8	1.07	2.55
2011	395	309 (78.2 %)	150	11.0	0.64	2.92
2012	559	254 (45.4 %)	178	12.0	0.77	1.71
2013	356	261 (73.3 %)	35	11.8	0.57	3.12
2014	489	196 (40.1 %)	263	11.8	0.62	3.13
2015	463	368 (79.5 %)	165	12.1	0.56	2.92
2016	754	311 (41.3 %)	452	11.5	1.36	3.68
2017	444	434 (97.8 %)	33	11.7	0.70	3.59
2018	491	285 (58.0 %)	59	11.9	0.45	3.63
2019	440	172 (39.1 %)	0	12.8	0.57	no data
Average	494.4	277 (57.1 %)	130.4	11.57	0.73	2.71

\* R – total annual rainfall; R<sub>veg</sub> – total rainfall of a vegetative season (October-November + March-July); R<sub>ineff</sub> – total inefficient precipitation; T<sub>av</sub> – average temperature; HTC – hydro-thermal coefficient. The source of the data on wheat productivity is the State statistic service of Ukraine.

is a positive correlation ( $r=0.42$ ) between wheat productivity and the total rainfall during the vegetative season. Some positive correlations are also found between winter wheat productivity and the moisture reserve in 20 cm soil layer before sowing ( $r=0.62$ ); total rainfall during winter ( $r=0.56$ ), spring vegetation period ( $r=0.75$ ), and summer vegetation period ( $r=0.42$ ); average winter temperature ( $r=0.64$ ), average temperature before heading ( $r=0.29$ ) and after heading ( $r=-0.58$ ) [40]. In the study [36], it was calculated that due to water insufficiency during different phenological phases of wheat, wheat productivity in the Southern Steppe zone cannot reach possible maximum (Table 2).

Table 2

**The agroclimatic conditions in the South Steppe Region - zone of winter wheat cultivation in the period 1981-2010 according to [36]**

Months	Phenological phase	R*, mm	W, %	Productivity, % of maximum
VII-VIII	Before sowing	102	52	81
IX-X	Sowing and germination	84	74	85
XI	Tillering	45	110	63
XII-II	End of vegetation	119	128	82
III-V	Stem extension and booting	122	113	93
VI	Heading and anthesis	69	54	52
VII	Ripening	59	52	59

\* R – precipitation, W – relative soil moisture content.

Weather conditions, which correspond to each phenological stage of wheat, are considered further in this study.

### **Physiological and biochemical effects of drought stress**

Drought stress changes a range of physiological and biochemical properties. Soil drying induces abscisic acid (ABA) biosynthesis in plant roots. ABA helps to maintain root growth and increase its hydraulic conductivity, thus increasing the plant's water uptake [4; 24]. In the mechanism of root hydraulic conductivity enhancement aquaporins (water channels) are involved [8; 24]. These membrane-bound proteins facilitate symplastic water flow in roots; this water transport pathway takes precedence over the apoplastic pathway in wheat. Aquaporin activity can be modulated by ABA [24]. Altered leaf water relations such as decreased water potential and relative water content affect photosynthesis, as decreased turgor pressure (along with ABA and its glucose ester [6; 17; 24]) results in the closure of stomata and reduced gas exchange. ABA is not a single signal which takes part in stomatal regulation. It was presumed that the increase in xylem sap pH may amplify the root signal and facilitate the redistribution of leaf ABA [24; 32]. Non-stomatal factors, such as inhibition of Calvin cycle enzymes and photosynthetic electron transport, decreased carboxylation efficiency and suppressed capacity for ribulose biphosphate carboxylase regeneration might also take place as a result of water stress [14]. An imbalance between electron excitation and utilization emerges, and it leads to the production of reactive oxygen species (primarily superoxide and  $H_2O_2$ ) which accumulate in mitochondria, chloroplasts and peroxisomes and damage cell membranes and macromolecules. As a result, the loss of mitochondrial internal structure, the irregular shape of chloroplasts, disorganisation of granal stacks and accumulation of plastoglobules in chloroplasts can be observed in the tissues of drought-exposed plants [6]. A complex

of enzymes and non-enzymatic antioxidants detoxify ROS: superoxide dismutase transforms  $O_2^{\cdot -}$  to  $H_2O_2$ , and then catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase decompose it to water and oxygen [1; 27]. An effective system of  $H_2O_2$  detoxification exists in plant cells – the ascorbate-glutathione cycle [27]. As a result of water stress, proline and soluble carbohydrates content increase, which can contribute to turgor and stomatal conductance sustainment [1; 5; 15]. According to A. Blum [5], such osmotic adjustment can enhance root growth and can be associated with higher yield in wheat.

There are two main pathways of plant response to osmotic stress – ABA-dependent and independent [15]. Under drought and salt stresses, ABA biosynthesis is activated in apical root cells and, to a lesser extent, in leaf mesophyll and stem parenchyma [24]. ABA up-regulates the expression of germin-like proteins (defence against various biotic and abiotic stresses, [11]), tonoplast intrinsic proteins (such as aquaporins), MAPK4 (mitogen-activated protein kinases-4; they take part in stomatal development and distribution), acetyl-CoA carboxylase (takes part in transpiration minimization) [13], down-regulates the genes involved in auxin signal transduction (thus inhibiting plant growth) and the enzymes involved in proline degradation (proline dehydrogenase and prolyl 4-hydroxylase) [15]. Along with other factors, ABA also up-regulates the expression of genes coding the enzymes for glutathione-glutathione disulphide cycle, thus contributing to antioxidant defence; up-regulates ethylene and jasmonic acid signal transduction pathways [15]. ABA induces the synthesis of LEA-proteins (late embryogenesis abundant), particularly dehydrins (DHN) and heat shock proteins (HSP) [6]. Dehydrins have chaperone-like functions: they inhibit coagulation of macromolecules thus maintaining cell structural integrity. HSPs are chaperones involved in protein interactions, folding, assembly, intracellular organisation. Their functions are prevention of protein aggregation and degradation, reactivation of damaged proteins, thus they play a major role in maintaining cellular homeostasis. Chaperone-like proteins are found in chloroplast stroma, such as ClpP which degrades abnormal proteins, Rubisco activase which regulates the activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, RBP (Rubisco binding protein) which maintains the appropriate content of this enzyme [6]. The ABA-independent pathway is involved in down-regulation of the cytokinin signal pathway, up-regulation of proline and soluble sugars biosynthesis [15]. Calcium ions act as a secondary messenger and are involved in the modulation of ABA biosynthesis [32]. They also regulate stomatal closure through activation of nitric oxide synthase and subsequent accumulation of NO in guard cells, which leads to their closure [15; 32]. The signalling pathways induced by osmotic stress are very complex and understanding of them requires further investigations.

#### **Drought negatively affects germination and initial growth of wheat seedlings**

Drought stress lowers germination energy and germination rate of wheat seeds [7]. Water deficiency on the stage of seedling development affects seedlings' growth,

which is associated with decreased seed reserve utilization. The growth retardation is more expressed in the aboveground parts of plants which results in lower shading of the soil surface and higher loss of soil water, lesser light intercepting photosynthetically active surface and therefore lower yield potential [30]. Drought restricts transpiration, thus reducing the root absorbing power which leads to decreased nutrient uptake. Another factor which affects plant mineral nutrition is lack of soil moisture as a solvent and a medium for diffusion [10]. Under drought stress, anatomical changes also occur, such as disorganisation and degradation of palisade tissue and decrease of the thickness of spongy tissue in leaves, reduction of the volume of endo- and exodermal cells in roots, the diameter of main xylem vessels in roots can also decrease [7]. Water stress leads to the decrease of plant height, shoot fresh and dry weight, length of leaf blades [10].

The optimum temperature for wheat germination is  $+15...+20^{\circ}\text{C}$ , and the optimum soil reserve of productive moisture is 30-60 mm [37]. In Odesa region, the wheat sowing time is the second half of September [35]. The average temperature in September is  $18^{\circ}\text{C}$  and the normal rainfall is 42 mm. During 2000-2019, rainfall was less than normal in 55 % of years, and inefficient precipitation took place in 35% of years. In August, frequently occurring negative deviation of precipitation from normal (60 % of years), heavy rains (25 % of years), and high temperatures which increase evapotranspiration can prevent sufficient moisture accumulation in the soil. Under the appropriate conditions, germination of wheat takes place in 5-9 days after sowing, and if the moisture is deficient, germination can last for up to three weeks [37]. Seedlings emerge at the end of September – the beginning of October. August and September rainfall in 2000-2019 is displayed on the chart (Fig. 1).

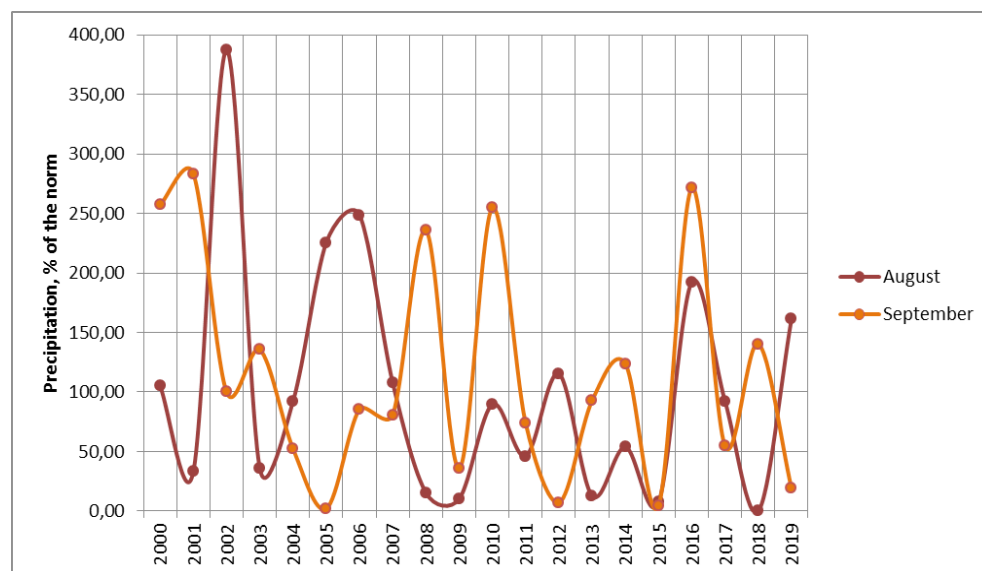


Fig. 1. Precipitation in August and September 2000-2019 in Odesa region

**Drought-induced oxidative stress and inhibition of photosynthesis during vegetative stage affect biomass production and yield formation**

Effects of water stress on wheat during tillering and jointing were investigated by M. Abid et al. [1] in Nanjing Agricultural University (China). It was found that the increase in ROS content and membrane injury were more pronounced during water stress at the jointing stage. Oxidative stress leads to the increase of enzymatic activity of catalase, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase which detoxify ROS, rapid increase with the subsequent decline of glutathione content and decrease of carotenoid content (non-enzymatic antioxidants).

One of the mechanisms of drought tolerance is osmotic adjustment provided by free amino acids, especially proline, and soluble sugars, levels of which increase as a result of water stress. This effect was more pronounced at the tillering stage. Stressful conditions limit the development of the root system, and it results in a decrease of leaf growth and longevity [2; 33]. Water stress during the tillering stage affects the generation of the tillers thus reducing the dry weight of shoots and number of spikes per plant, and during stem elongation phase it prevents some tillers from producing spikes [25]. Comparing to other growth stages, a drought at tillering stage leads to the most significant decrease in wheat biomass [33]. Inhibition of carbon assimilation and stem growth leads to the decrease of stem reserve storage capacity, which subsequently affects grain development [4]. Drought stress with a resulting depression of photosynthesis leads to alteration of phenological phases of wheat and affects grain yield. Severe drought stress accelerates the onset of anthesis and shortens the grain filling duration, reduces the formation of spikes and decreases grain yield traits, including the number of grains per spike and per plant and 1000-grain weight. These reductions are more pronounced in case of drought stress during the jointing stage [1]. Despite the negative effects of water stress on wheat plants, it was shown that mild stress at tillering might generate resistance to severe water deficiency at the later growth stages by maintaining favourable water relations and antioxidant defence in leaves. Comparing to non-acclimated, acclimated plants show higher RWC, increased redox status and lower levels of  $H_2O_2$  and lipid peroxidation [26; 27].

Tillering begins in 10-30 days after germination (depending on the soil moisture and temperature) and lasts till the stop of the vegetation in November or December when the temperature reaches +1...+3°C. The duration of the autumn vegetation of wheat is 50-70 days [47]. The most favourable temperature for wheat tillering is +9...+18°C; the optimum soil moisture level is 20 mm. Under favourable conditions, wheat plants form 3-5 tillers during autumn [37]. In Odesa region, the average October and November rainfall is 42.4 mm and 37.5 mm, respectively. In 50% of years between 2000 and 2019, precipitation in October was corresponding to or exceeding the climate norm (Fig. 2), but 31.6% of it was inefficient. Over the last 12 years, only in 2014, the total rainfall in November was higher than 41 mm (the climate norm). In contrast, total winter precipitation corresponded to the norm in 70 % of years during the considered period (Fig. 3), but irregular snowfall combined with the incidents of

low negative temperatures can lead to the freezing of wheat plants, inhibition of their growth, reduced pest resistance [37; 40]. Autumn and winter weather conditions allow sufficient accumulation of soil moisture. The satisfactory spring productive moisture reserve is 120-150 mm in the 1 m layer of soil, and the reserve of 150-200 mm is favourable for wheat development [37].

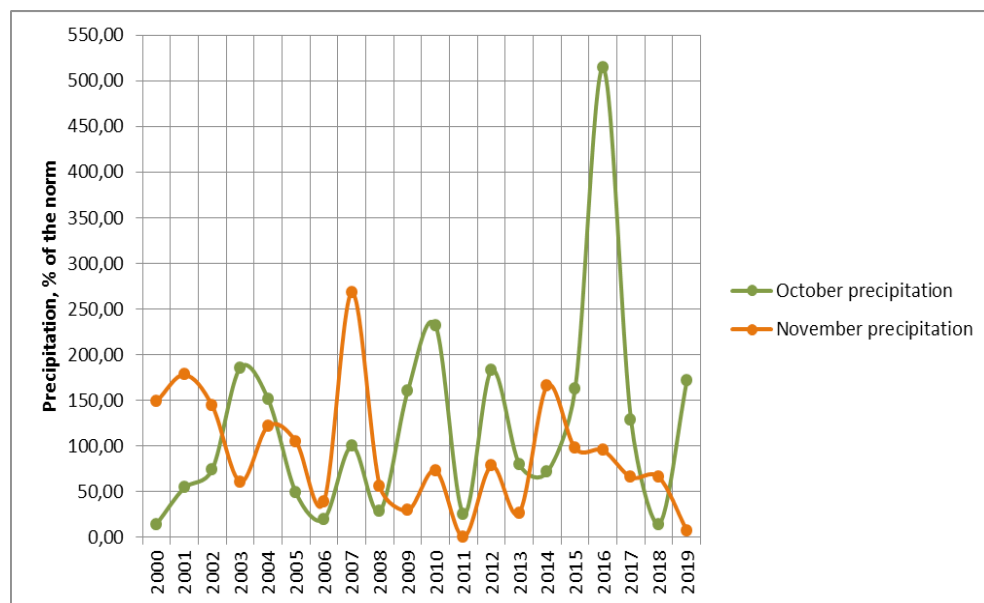


Fig. 2. Precipitation in October and November 2000-2019 in Odesa region

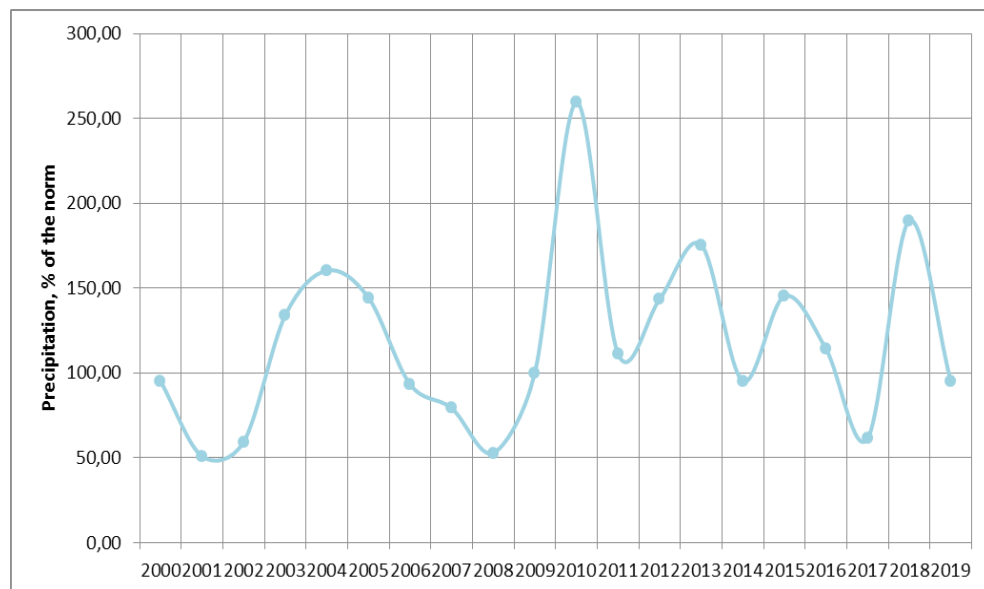


Fig. 3. Total winter precipitation in 2000-2019 in Odesa region

According to the data [46], the average winter precipitation of 137.6 mm and the average water absorption by the soil of 39% led to the accumulation of 130-152 mm of productive moisture (depending on the predecessor). The average winter rainfall in Odesa region is lower (125.1 mm), but the correct selection of a predecessor for wheat cultivation can provide sufficient accumulation of water in the soil.

Vegetation resumes in March and lasts from 70 days in early-maturing varieties to 105 days in late-maturing ones [41]. Spring tillering continues under the temperatures +3...+15°C and leads to the formation of 1-3 side shoots. Higher temperatures and inefficient soil moisture (less than 100 mm) inhibit this process [37]. Spring tillering and stem extension take from 24-26 days in early cultivars to 33-40 days in late ones [41; 43], so the next phenological phase starts in the second or the third decade of April. The average temperature in March is 4.7°C (from 1.1°C to 7.3°C within 2000 and 2019) which is favourable for wheat tillering. The average total rainfall is 36.2; the amount of precipitation did not reach the climate norm (32 mm) in 60% of years (Fig. 4). The incidents of inefficient precipitation are quite rare in March (3 times over the last 20 years).

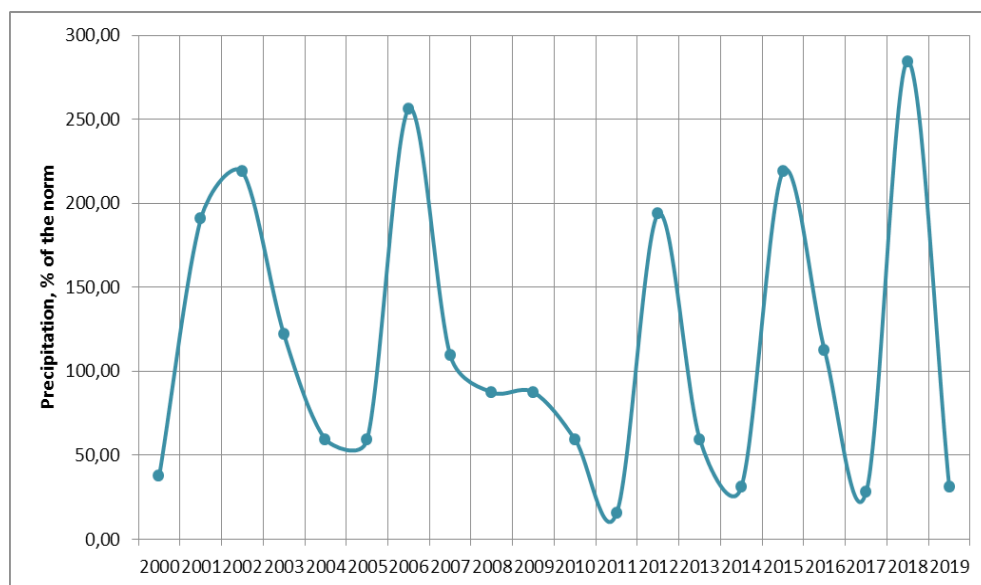


Fig. 4. Precipitation in March 2000-2019 in Odesa region

The number of studies on the effect of water deficiency during booting and heading time is limited. The early heading is reportedly a stage very sensitive to water stress [19; 25]. It results in lowered biomass production due to decreased photosynthetic activity and a decrease in grain number. Yield losses as a result of drought during heading and flowering are comparable to those resulting from the constant water insufficiency during the full growth cycle [19].

Wheat goes through the booting stage during 25-32 days in the second half of April – the beginning of May [41; 43]. The soil moisture reserve of 100-125 mm in 1 m layer provides the highest productivity [37]. The average April temperature in Odesa region is 10.2°C, and the average rainfall is 28.8 mm (55 % of years within 2000-2019 period had a lower amount of precipitation, and in 25 % of years inefficient precipitation took place; Fig. 5). Wheat heading and anthesis start in the first

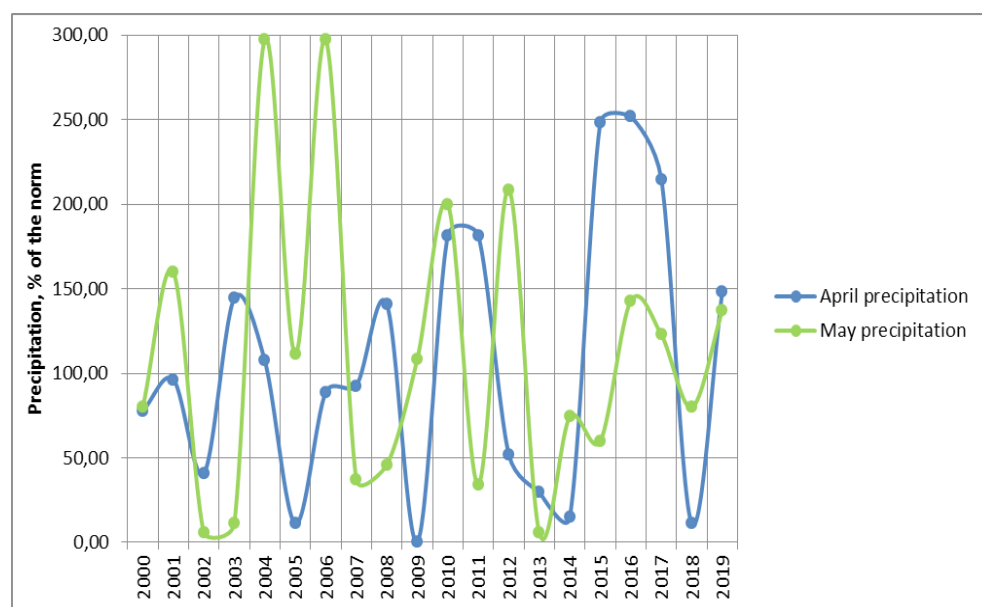


Fig. 5. Precipitation in April and May 2000-2019 in Odesa region

half of May (08-25/05 depending on the sowing date and the features of a cultivar) and last till the beginning of June [42]. The optimal temperature during this period is +15...+20°C, and precipitation 40-80 mm [37]. The average temperature in May is 16.7°C; both hot and cold days occur sometimes, but the temperature values usually are not extreme (the average temperature at night is 12.1°C, and 19.5°C at the daytime). The average rainfall is 38.9 mm, but in half of the years between 2000 and 2019 this value was under normal (Fig. 5). In the second half of May – the first decade of June, moisture deficit and the temperature fluctuations cause a negative influence on yield formation [47].

#### **Water deficiency during anthesis prevents normal gamete formation**

Water stress during reproductive stage has a more deleterious effect on grain yield than the same condition during the vegetative stage [23]. The adverse effect of water insufficiency at anthesis is most pronounced during meiosis. It leads to the production of sterile gametes, loss of gamete viability, and as a result, reduced grain number [21; 33]. Water stress restricts photosynthesis at anthesis to a greater extent

than at vegetative stage, due to the reduction of mesophyll conductance and a significant decrease in chlorophyll concentration as a result of photoinhibition and photodestruction of pigments and destabilization of the photosynthetic membrane [24; 28]. Decrease of photosynthetic activity also leads to the shortage of soluble carbohydrates in vegetative tissues and anthers. In the absence of sugars, intine cannot develop properly, which subsequently prevents adhesion of pollen grains to the surface of the stigma. Starch accumulation in the cytoplasm of vegetative cells in pollen grains is also affected so that there is not enough energy for pollen tube growth [4].

#### **The harmful effect of post-anthesis drought on grain yield and quality**

The consumption of water by a plant is the highest during the grain formation stage [25]. Prolonged drought during flowering and grain filling can reduce grain yield up to 92 % [33]. Drought shortens the grain-filling period, inhibits the division of endosperm cells, especially in basal and distal parts of spikelets, thus decreasing grain weight [20; 22]. ABA synthesized in the shoot and transported to the reproductive organs can affect cell division in developing seeds [4]. Grain development depends on the quantity of assimilates, accumulated during the vegetative stage, as after anthesis they are redistributed and utilized, especially under environmental stress conditions [31], and this process can be regulated by ABA in developing grains [4; 24]. This may explain the large extent of tiller senescence and mortality during the reproductive phase. Grain size in secondary tillers is lower due to the reduced number of endosperm cells and lower quantity of accumulated starch [31]. Flag leaf photosynthesis also serves a substantial source of assimilates for grain filling. Breakdown of chlorophyll, the decline of photosynthetic activity and inhibition of CO<sub>2</sub> fixation occurring after anthesis can diminish grain filling, which results in lower grain weight [23]. Composition and quality of grains change under drought stress. The ratio of large (A-type) starch granules to middle and small (B- and C-types) increases significantly [3; 20; 29]. A-type granules have a lower amylose content, which can influence grain quality. As a result of drought during grain filling, starch content decreases and the proportion of proteins changes. The decrease of glutenin-to-gliadin ratio and reduction of unextractable polymeric protein fraction affect grain quality [3].

Wheat reproductive processes from the ear formation to the ripening take 24-33 days, up to 42 days in different cultivars [37; 41; 43]. Kernel formation and ripening take place in June and July (from the first half of June to the middle of July). This is the time of high temperatures and droughts, the effect of which is especially harmful if combined with water deficiency during spring vegetation [40]. The average rainfall in June within 2000-2019 reached 44.7 mm which is 4.3 mm lower than the climate norm. 65 % of years during this period had precipitation lower than the norm. Ineffective precipitation is quite rare in June – 2 incidents over the last 20 years. The average temperature is 21.1°C (24.0°C at the daytime), but it can reach the values over 30°C. The total rainfall in July is around 48.1 mm, in 50 % of years it does not

reach the climate norm. The average temperature is 23.6°C (27.0°C at the daytime). The comparison of the amount of precipitation during these months with the norm is shown on the graph (Fig. 6).

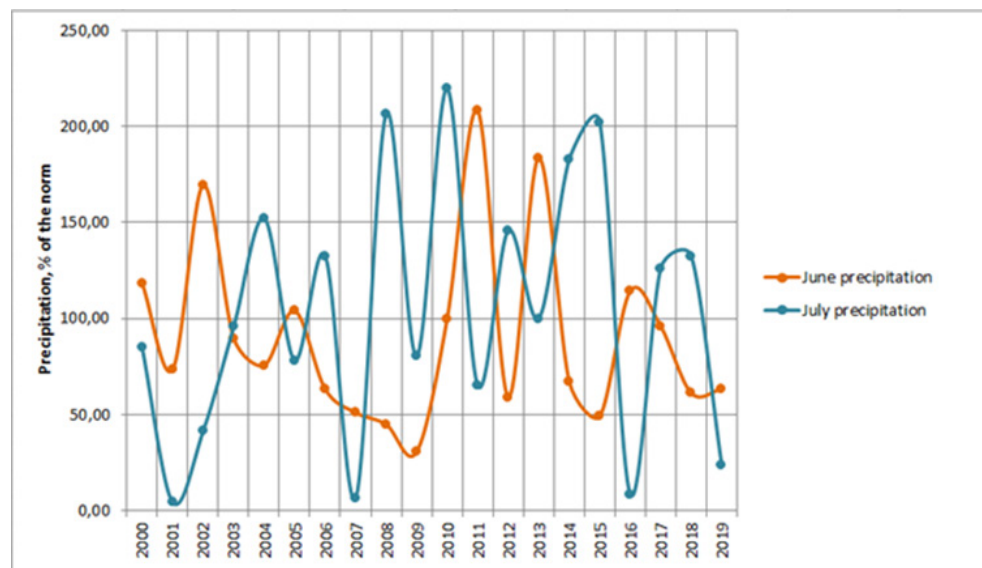


Fig. 6. Precipitation in June and July 2000-2019 in Odesa region

### Drought-resistant wheat cultivars of Ukrainian selection

Although changing climate conditions of the Southern Steppe zone, characterized by frequent droughts, unstable precipitation and extreme temperatures, can pose a threat to wheat production, a range of highly productive, drought-resistant wheat cultivars were bred. High germination energy, moderate extent and reversibility of the damage caused by water stress, short recovery time, and stable yield are criteria for the crop drought tolerance [39; 45; 48]. The high rate of germination (above 70 %) under modelled osmotic stress was shown by the cultivars Valensiia, Turunchuk, Kniazhna, Misiia odeska, Blahodarka odeska, Albatros odeskyi, Hratiia myronivska, Vyshyvanka, Balada myronivska [45]. Drought resistance was estimated by the investigators as advanced in the cultivars Antonivka, Bilosnizhka, Zolotokolosa, Kiriia, Kosovytsia, Povaha, Trypilska, Favorytka [48], Znakhidka odeska [39], Kuialnyk, Pysanka, Podolianka, Poshana, Suputnytsia, Smuhlianka, Khersonska bezosta [39; 48]. Above-average drought resistance was characteristic of the cultivars Bohdana, Vesnianka, Volodarka, Demetra, Zastava odeska, Znakhidka odeska, Lybid, Odeska 51, Prima odeska, Sirena odeska, Stolychna [48], Kiriia [39], Albatros odeskyi, Apohei luhanskyi, Donetska 48, Driada 1, Zemliachka odeska, Zira, Zustrich, Nikoniia, Selianka [39; 48]. On the contrary, low tolerance to water deficit under field conditions was inherent to wheat cultivars Bilosnizhka, Vdala, Dalnyts-

ka, Liona [39; 48]. Deterioration of growth, development and productivity was also observed in Vesta, Hlibovchanka, Dolia, Kharkivska 105, Myronivska 67, Panna, Snizhana, Spivanka [48]. Plant resistance assessment in the studies [39; 48] was carried out after the observations under the field conditions during the periods of soil moisture deficiency, high temperatures and dry winds. In the investigation [49], several highly productive and adaptive wheat varieties were pointed out: Podolianka, Smuhlianka, Nataalka, Pereiaslavka, Khurtovyna, Kyivska ostysta, Zbruch, Malynivka, Snihurka, Darynka Kyivska, Lymarivna, Ladyzhynka. In the same study, 136 Ukrainian and foreign winter wheat cultivars were ranged based on their drought and high-temperature resistance. It was found that 28.6 % of the cultivars bred in the institutions of Southern Ukraine had high and above-average drought resistance, comparing to 10.6% of the cultivars from the Kyiv region and 1.6% of the foreign cultivars [49].

In the study [40], the results of the previous work of wheat breeding in Odesa region were summarized, and the direction of the future efforts was established. The most suitable varieties for cultivation are those of the universal type, which are characterized by frost, drought, heat, and pest resistance along with high potential productivity. The features which contribute significantly to drought resistance are the intensity of nodal roots growth, roots soil penetration depth, early maturity, the high regeneration capacity of seedlings and tillers, leaf water retention during the grain formation, high assimilate reutilization capacity under high temperatures. A range of corresponding varieties was created, such as Blahodarka odeska, Misiia odeska, Sluzhnytsia odeska, Hoduvalnytsia odeska, Zahrava odeska, Epokha odeska, Istyna odeska, Zhuravka odeska, Holubka odeska, Lebidka odeska, Kniahynia Olha, Lastivka odeska, Zadumka odeska, Vykhovanka odeska, Lira odeska, Nyva odeska, Shchedrist odeska, Era odeska, Melodiia odeska etc. These varieties are characterized by high productivity (78-104 c/ha), elevated drought, frost and pest resistance, and high grain quality.

### Conclusion

In the present study, the impact of drought on winter wheat growth and productivity was investigated, and the climate conditions of Odesa region at each wheat phenological phase were reviewed. Drought lowers seed germination rate, affects mineral nutrition and growth of seedlings, restricts the production of tillers and inhibits the photosynthetic activity of plants. Drought and inefficient precipitation often take place during autumn vegetation of wheat. Moisture supply in winter usually corresponds to the climatic norm, which allows sufficient soil moisture accumulation. In March, wheat vegetation resumes. Water insufficiency in March and April, when wheat tillering, jointing and booting take place, affects growth and development of the plants, leads to the alteration of phenological phases, and decreases potential yield. Drought during anthesis and grain filling is especially harmful because of the negative effect on gametogenesis, insufficient accumulation of assimilates due to the

inhibited photosynthesis, reduction of grain number and weight and deterioration of its quality. Reproductive processes in wheat take place in May, June and partly July. In Odesa region, it is the time of the establishment of high temperatures and drought. Although such climate conditions negatively affect wheat production, a range of resistant and productive universal cultivars were bred. The effects of drought and the plant response to them have not been studied completely and need further investigation.

Стаття надійшла до редакції 26.03 2020

### References

1. Abid M. Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.) / M. Abid, S. Ali, L. K. Qi, R. Zahoor, Z. Tian, D. Jiang, J. L. Snider, T. Dai // *Scientific Reports*. – 2018. – V. 8, № 1. – P. 1-15.
2. Acevedo E. Wheat growth and physiology / E. Acevedo, P. Silva, H. Silva // *Bread Wheat, Improvement and Production*. – 2002. – [Електронний ресурс]: <http://www.fao.org/3/y4011e06.htm>
3. Balla K. Quality of winter wheat in relation to heat and drought shock after anthesis / K. Balla, M. Rakszegi, Z. Li, F. Békés, S. Bencze, O. Veisz // *Czech Journal of Food Sciences*. – 2011. – V. 29, № 2. – P. 117-128.
4. Barnabás B. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals / B. Barnabás, K. Jäger, A. Fehér // *Plant, Cell and Environment*. – 2008. – V. 31, №1. – P. 11-38.
5. Blum A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production / A. Blum // *Plant, Cell and Environment*. – 2017. – V. 40, №1. – P. 4-10.
6. Demirevska K. Drought-induced leaf protein alterations in sensitive and tolerant wheat varieties / K. Demirevska, L. Simonova-Stoilova, V. Vassileva, I. Vaseva, B. Grigorova, U. Feller // *General and Applied Plant Physiology*. – 2008. – V. 34, №1-2. – P. 79-102.
7. Duan H. Effects of drought stress on growth and development of wheat seedlings / H. Duan, Y. Zhu, J. Li, W. Ding, H. Wang, L. Jiang, Y. Zhou // *International Journal of Agriculture and Biology*. – 2017. – V. 19, № 5. – P. 1119-1124.
8. Forrest K. L. The TIP and PIP aquaporins in wheat form a large and diverse family with unique gene structures and functionally important features / K. L. Forrest, M. Bhavé // *Functional and Integrative Genomics*. – 2007. – №8 (2). – P. 115-133.
9. Ghobadi M. E. The response of winter wheat to flooding / M. E. Ghobadi, M. Ghobadi, A. Zebajadi // *World Academy of Science, Engineering and Technology*. – 2011. – V. 78. – P. 440-442.
10. Hu Y. Short-term effect of drought and salinity on growth and mineral elements in wheat seedlings / Y. Hu, Z. Burucs, U. Schmidhalter // *Journal of Plant Nutrition*. – 2006. – V. 29, № 12. – P. 2227-2243.
11. Ilyas M. Functional characterization of germin and germin-like protein genes in various plant species using transgenic approaches / M. Ilyas, A. Rasheed, T. Mahmood // *Biotechnology Letters*. – 2016. – V. 38, №9. – P. 1405-1421.
12. IPCC, 2014: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
13. Keskin B. C. Abscissic acid regulated gene expression in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / B. C. Keskin, A. T. Sarikaya, B. Yüksel, A. R. Memon // *Australian Journal of Crop Science*. – 2010. – V. 4, №8. – P. 617-625.
14. Kicheva M. I. Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis in two wheat cultivars subjected to water stress / M. I. Kicheva, T. D. Tsonev, I. P. Popova // *Photosynthetica*. – 1994. – V. 30. – P. 107-116.

15. Li C. Transcriptome analysis of osmotic-responsive genes in ABA-dependent and -independent pathways in wheat (*Triticum aestivum* L.) roots / C. Li, W. Zhang, M. Yuan, L. Jiang, B. Sun, D. Zhang, Y. Shao, A. Liu, X. Liu, J. Ma // *PeerJ*. – 2019. – V. 7. doi: 10.7717/peerj.6519.
16. Lioubimtseva E. Grain production trends in Russia, Ukraine and Kazakhstan: New opportunities in an increasingly unstable world? / E. Lioubimtseva, G. M. Henebry // *Frontiers of Earth Science*. – 2012. – V. 6, №. 2. – P. 157-166.
17. Lipiec J. Effect of drought and heat stresses on plant growth and yield: a review / J. Lipiec, C. Doussan, A. Nosalewicz, K. Kondracka // *International Agrophysics*. – 2013. – V. 27, №. 4. – P. 463-477.
18. Müller D. Impact of Climate Change on Wheat Production in Ukraine / D. Müller, A. Jungandreas, F. Koch, F. Schierhorn // Kyiv: Institute for Economic Research and Policy Consulting. – 2016. – 41 pp.
19. Németh C. Phenological and yield responses of wheat to changes in soil moisture in various developmental stages / C. Németh, B. Sellyei, O. Veisz, Z. Bedő // *Cereal Research Communications*. – 2005. – V. 33, №. 1. – P. 283-286.
20. Nicolas M. E. Effect of post-anthesis drought on cell division and starch accumulation in developing wheat grains / M. E. Nicolas, R. M. Gleadow, M. J. Dalling // *Annals of Botany*. – 1985. – V. 55, №. 3. – P. 433-444.
21. Onyemaobi I. Both male and female malfunction contributes to yield reduction under water stress during meiosis in bread wheat / I. Onyemaobi, H. Liu, K. H. M. Siddique, G. Yan // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – V. 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02071>
22. Pradhan G. P. Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat / G. P. Pradhan, P. V. V. Prasad, A. K. Fritz, M. B. Kirkham, B. S. Gill // *Functional Plant Biology*. – 2012. – V. 39, №. 3. – P. 190-198.
23. Saeidi M. Effect of drought stress during grain filling on yield and its components, gas exchange variables, and some physiological traits of wheat cultivars / M. Saeidi, M. Abdoli // *Journal of Agricultural Science and Technology*. – 2015. – V. 17. – P. 885-898.
24. Saradadevi R. ABA-mediated stomatal response in regulating water use during the development of terminal drought in wheat / R. Saradadevi, J. A. Palta, K. H. M. Siddique // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – V. 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01251>.
25. Sarto M. V. M. Wheat phenology and yield under drought: a review / M. V. M. Sarto, J. R. W. Sarto, L. Rampim, J. S. Rosset, D. Bassegio, P. F. da Costa, A. M. Inagaki // *Australian Journal of Crop Science*. – 2017. – V. 11, №. 8. – P. 941-946.
26. Selote D. S. Antioxidant response of wheat roots to drought acclimation / D. S. Selote, R. Khanna-Chopra // *Protoplasma*. – 2010. – V. 245. – P. 153-163.
27. Selote D. S. Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing co-ordinated antioxidant defense at cellular and subcellular level in leaves of wheat seedlings / D. S. Selote, R. Khanna-Chopra // *Physiologia Plantarum*. – 2006. – №127. – P. 494-506.
28. Siddique M. R. B. Drought stress effects on photosynthetic rate and leaf gas exchange of wheat / M. R. B. Siddique, A. Hamid, M. S. Islam // *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. – 1999. – V. 40. – P. 141-145.
29. Singh S. Effect of water stress at different stages of grain development on the characteristics of starch and protein of different wheat varieties / S. Singh, G. Singh, P. Singh, N. Singh // *Food Chemistry*. – 2008. – V. 108, №. 1. – P. 130-139.
30. Soltani A. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity / A. Soltani, M. Gholipoor, E. Zeinali // *Environmental and Experimental Botany*. – 2006. – V. 55, №. 1-2. – P. 195-200.
31. Wang J. Y. Effects of drought stress on morphophysiological traits, biochemical characteristics, yield, and yield components in different ploidy wheat: A meta-analysis / J. Y. Wang, Y. C. Xiong, F. M. Li, K. H. M. Siddique, N. C. Turner // *Advances in Agronomy*. – Academic Press, 2017. – V. 143. – P. 139-173.

32. Zhang J. Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses / J. Zhang, W. Jia, J. Yang, A. M. Ismail // *Field Crops Research*. – 2006. – V. 97. – P. 111-119.
33. Zhang J. Effect of Drought on Agronomic Traits of Rice and Wheat: A Meta-Analysis / J. Zhang, S. Zhang, M. Cheng, H. Jiang, X. Zhang, C. Peng, X. Lu, M. Zhang, J. Jin // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2018. – V. 15, №. 5. <https://doi.org/10.3390/ijerph15050839>.
34. Адаменко Т. І. Агрокліматичне зонування території України з врахуванням зміни клімату / Т. І. Адаменко. – Київ, 2014. – 16 с.
35. Аріфов М. Б. Реакція сучасних сортів та перспективних ліній озимої м'якої пшениці на різні строки сівби / М. Б. Аріфов, Т. М. Аріфова, С. П. Лифенко // *Збірник наукових праць СГП-НЦНС*. – 2004. – Вип. 6 (46). – С. 45–54.
36. Балабух В. О. Вплив зміни клімату на продуктивність озимої пшениці в Україні у періоди вегетаційного циклу / В. О. Балабух, Л. П. Однолєток, О. О. Кривошеїн // *Гідрологія, гідрохімія і гідроекологія*. – 2017. – №. 3. – С. 72–85.
37. Блищик Д. В. Агрометеорологічні умови росту та розвитку озимої пшениці в осінньозимовий період на півдні України: дис. канд. геогр. наук: 11.00.09 – метеорологія, кліматологія, агрометеорологія. Одеса, 2015. – 237 с.
38. Блищик Д. В. Формування морозостійкості рослинами озимої пшениці під впливом зміни клімату на півдні України / Д. В. Блищик, А. М. Польовий, П. О. Феоктістов // *Культура народів Причорномор'я*. – 2014. – №274 (60). – С. 211–215.
39. Коваленко О. А. Оцінка посухостійкості та добір сортів пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.) придатних до поширення в умовах Миколаївської області / О. А. Коваленко, М. М. Корхова // *Збірник наукових праць ВНАУ*. – 2011. – № 9 (49). – Ст. 62–73.
40. Литвиненко М. А. Створення сортів пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.), адаптованих до змін клімату на півдні України / М. А. Литвиненко // *Збірник наукових праць СГП*. – 2016. – Вип. 27 (67). – С. 36-52.
41. Литвиненко М. А. Тривалість вегетаційного періоду в зв'язку з урожайністю й посухостійкістю сортів та ліній озимої пшениці на півдні України / М. А. Литвиненко // *Збірник наукових праць СГП*. – 2004. – Вип. 5 (45). – С. 91-104.
42. Мусіч В. Н. Фотоперіодична чутливість та адаптивність різних сортів озимої пшениці на півдні України / В. Н. Мусіч, В. В. Пильнєв, О. В. Нефьодов, С. В. Рабінович // *Реалізація потенційних можливостей сортів та гібридів Селекційно-генетичного інституту в умовах України*. – 1996. – С. 76-83.
43. Нарган Т. П. Залежність господарсько корисних ознак озимої м'якої пшениці від тривалості вегетаційного періоду / Т. П. Нарган // *Збірник наукових праць СГП*. – 2003. – Вип. 4 (44). – С. 56-62.
44. Писаренко В. М. Посухи в контексті змін клімату України / В. М. Писаренко, П. В. Писаренко, В. В. Писаренко, О. О. Горб, Т. О. Чайка // *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. – 2019. – №. 1. – С. 134-146.
45. Прокоп'як Н. І. Оцінка посухостійкості сортів пшениці м'якої озимої різного еколого-географічного походження за умов осмотичного стресу / Н. І. Прокоп'як, Т. В. Чугункова, С. О. Хоменко // *Наукові доповіді НУБіП України*. – 2019. – №. 3 (79). <http://dx.doi.org/10.31548/dopovidi2019.03.004>.
46. Романенко О. Л. Вологозабезпеченість посівів озимої пшениці в умовах глобального потепління на півдні Степу України / О. Л. Романенко, С. Р. Конова, С. В. Бальошенко, Л. В. Дацько // *Меліорація і водне господарство*. – 2016. – Вип. 102. – С. 54-58.
47. Савранчук В. В. Формування врожайності та посівних якостей насіння у озимої пшениці залежно від строків сівби в умовах північного степу України / В. В. Савранчук, М. І. Мостіпан, П. Б. Ліман // *Збірник наукових праць СГП*. – 2004. – Вип. 6 (46). – С. 55–62.
48. Уліч Л. І. Посухостійкість сортів пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.), придатних до поширення в Україні / Л. І. Уліч, Л. П. Бочкарьова, В. М. Лисікова, О. В. Семеніхін // *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. – 2008. – №. 1. – С. 106-113.

49. Хоменко Л. О. Джерела комплексної стійкості пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.) у селекції на адаптивність / Л. О. Хоменко, Н. В. Сандецька // Plant Varieties Studying and Protection. – 2018. – Т. 14, № 3. – С. 270–276.

**М. В. Сидоренко, С. В. Чеботар**

<sup>1</sup>Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

<sup>2</sup>Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення НААН України (СГІ - НЦНС), Овідіопольська дор., 3, Одеса, 65036, Україна, e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

## **ВПЛИВ ПОСУХИ НА ПШЕНИЦЮ НА РІЗНИХ СТАДІЯХ РОСТУ**

### **Резюме**

Кліматичні умови України та Одеської області зокрема поступово змінюються: середні температури зростають, розподіл опадів стає нерівномірним, частішають випадки екстремальних погодніх умов, таких як посухи, зливи, значні коливання температури. Це призводить до необхідності проведення детальних досліджень впливу кліматичних факторів на економічно важливі рослини та механізмів формування ними посухостійкості. Така інформація сприятиме процесу створення універсальних сортів та покращенню систем агротехнічних заходів. Метою даної роботи була систематизація інформації про вплив дефіциту вологи на біохімічні процеси, ріст, розвиток та продуктивність пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.), залежно від фази розвитку, під час якої трапляється посуха у Південному степу України, зокрема в Одеському регіоні. Для цього було проаналізовано сучасні публікації на тему впливу посухи на пшеницю під час різних фенологічних фаз, а також простежено агрометеорологічні умови за останні двадцять років у Одеському регіоні, відзначено сучасні сорти пшениці, пристосовані до умов вирощування у посушливому південному регіоні України. Відмічено, що посуха впродовж вегетативної стадії чинить негативний вплив на накопичення біомаси та формування продуктивних пагонів, а під час цвітіння та дозрівання зерна зменшує врожай та погіршує його якість. На стадії проростання посуха спричиняє нерівномірну появу сходів, погіршує мінеральне живлення, пригнічує ріст надземних частин. На стадії кушіння формується менше продуктивних пагонів, знижується інтенсивність фотосинтезу, фенологічні фази зсуваються у бік прискорення. Посуха під час колосіння призводить до зменшення кількості зерен у колосі. Під час цвітіння нестача вологи негативно впливає на фертильність та життєздатність гамет, а під час дозрівання зерна, пригнічує поділ клітин ендосперму та погіршує якість зерна. В цілому, не всі аспекти впливу посухи на біохімічні та фізіологічні процеси розвитку пшениці м'якої озимої відомі, тому необхідні подальші дослідження.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum* L.; фенологія; водний дефіцит; клімат; сорти.

## References

1. Abid M., Ali S., Qi L. K., Zahoor R., Tian Z., Jiang D., Snider J. L., Dai T. (2018), «Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.)», *Scientific Reports*, Vol. 8, № 1, P. 1-15.
2. Acevedo E., Silva P., Silva H. (2011), «Wheat growth and physiology», *Bread Wheat, Improvement and Production*, <http://www.fao.org/3/y4011e06.htm>
3. Balla K., Rakszegi M., Li Z., Békés F., Bencze S., Veisz O. (2011), «Quality of winter wheat in relation to heat and drought shock after anthesis», *Czech Journal of Food Sciences*, Vol. 29, № 2, P. 117-128.
4. Barnabás B., Jäger K., Fehér A. (2008), «The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals», *Plant, Cell and Environment*, V. 31, №1. – P. 11-38.
5. Blum A. (2017), «Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production», *Plant, Cell and Environment*, Vol. 40, №1, P. 4-10.
6. Demirevska K., Simonova-Stoilova L., Vassileva Vol., Vaseva I., Grigorova B., Feller U. (2008), «Drought-induced leaf protein alterations in sensitive and tolerant wheat varieties», *General and Applied Plant Physiology*, Vol. 34, №1-2, P. 79-102.
7. Duan H., Zhu Y., Li J., Ding W., Wang H., Jiang L., Zhou Y. (2017), «Effects of drought stress on growth and development of wheat seedlings», *International Journal of Agriculture and Biology*, Vol. 19, № 5, P. 1119-1124
8. Forrest K. L., Bhavé M. (2007), «The TIP and PIP aquaporins in wheat form a large and diverse family with unique gene structures and functionally important features», *Functional and Integrative Genomics*, №8 (2), P. 115-133.
9. Ghobadi M. E., Ghobadi M., Zebajadi A. (2011), «The response of winter wheat to flooding», *World Academy of Science, Engineering and Technology*, Vol. 78, P. 440-442.
10. Hu Y., Burucs Z., Schmidhalter U. (2006), «Short-term effect of drought and salinity on growth and mineral elements in wheat seedlings», *Journal of Plant Nutrition*, Vol. 29, № 12, P. 2227-2243
11. Ilyas M., Rasheed A., Mahmood T. (2016), «Functional characterization of germin and germin-like protein genes in various plant species using transgenic approaches», *Biotechnology Letters*, Vol. 38, №9, P. 1405-1421.
12. IPCC, 2014: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
13. Keskin B. C., Sarikaya A. T., Yüksel B., Memon A. R. (2010), «Abscisic acid regulated gene expression in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)», *Australian Journal of Crop Science*, Vol. 4, № 8, P. 617-625.
14. Kicheva M. I., Tsonev T. D., Popova I. P. (1994), «Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis in two wheat cultivars subjected to water stress», *Photosynthetica*, Vol. 30, P. 107-116.
15. Li C., Zhang W., Yuan M., Jiang L., Sun B., Zhang D., Shao Y., Liu A., Liu X., Ma J. (2019), «Transcriptome analysis of osmotic-responsive genes in ABA-dependent and –independent pathways in wheat (*Triticum aestivum* L.) roots», *PeerJ*, Vol. 7, doi: 10.7717/peerj.6519
16. Lioubimtseva E., Henebry G. M. (2012), «Grain production trends in Russia, Ukraine and Kazakhstan: New opportunities in an increasingly unstable world? », *Frontiers of Earth Science*, Vol. 6, № 2, P. 157-166.
17. Lipiec J., Doussan C., Nosalewicz A., Kondracka K. (2013), «Effect of drought and heat stresses on plant growth and yield: a review», *International Agrophysics*, Vol. 27, № 4, P. 463-477.
18. Müller D., Jungandreas A., Koch F., Schierhorn F. (2016), «Impact of Climate Change on Wheat Production in Ukraine», Kyiv: Institute for Economic Research and Policy Consulting, 41 pp.
19. Németh C., Sellyei B., Veisz O., Bedő Z. (2005), «Phenological and yield responses of wheat to changes in soil moisture in various developmental stages», *Cereal Research Communications*, Vol. 33, № 1, P. 283-286.

20. Nicolas M. E., Gleadow R. M., Dalling M. J. (1985), «Effect of post-anthesis drought on cell division and starch accumulation in developing wheat grains», *Annals of Botany*, Vol. 55, № 3, P. 433-444.
21. Onyemaobi I., Liu H., Siddique K. H. M., Yan G. (2017), «Both male and female malfunction contributes to yield reduction under water stress during meiosis in bread wheat», *Frontiers in Plant Science*, Vol. 7, <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02071>.
22. Pradhan G. P., Prasad P. Vol. Vol., Fritz A. K., Kirkham M. B., Gill B. S. (2012), «Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat», *Functional Plant Biology*, Vol. 39, № 3, P. 190-198.
23. Saeidi M., Abdoli M. (2015), «Effect of drought stress during grain filling on yield and its components, gas exchange variables, and some physiological traits of wheat cultivars», *Journal of Agricultural Science and Technology*, Vol. 17, P. 885-898.
24. Saradadevi R., Palta J. A., Siddique K. H. M. (2017), «ABA-mediated stomatal response in regulating water use during the development of terminal drought in wheat», *Frontiers in Plant Science*, Vol. 8, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01251>.
25. Sarto M. Vol. M., Sarto J. R. W., Rampim L., Rosset J. S., Bassegio D., da Costa P. F., Inagaki A. M. (2017), «Wheat phenology and yield under drought: a review», *Australian Journal of Crop Science*, Vol. 11, № 8, P. 941-946.
26. Selote D. S., Khanna-Chopra R. (2010), «Antioxidant response of wheat roots to drought acclimation», *Protoplasma*, Vol. 245, P. 153-163.
27. Selote D. S., Khanna-Chopra R. (2006), «Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing co-ordinated antioxidant defense at cellular and subcellular level in leaves of wheat seedlings», *Physiologia Plantarum*, №127, P. 494-506.
28. Siddique M. R. B., Hamid A., Islam M. S. (1999), «Drought stress effects on photosynthetic rate and leaf gas exchange of wheat», *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, Vol. 40, P. 141-145.
29. Singh S., Singh G., Singh P., Singh N. (2008), «Effect of water stress at different stages of grain development on the characteristics of starch and protein of different wheat varieties», *Food Chemistry*, Vol. 108, № 1, P. 130-139.
30. Soltani A., Gholipour M., Zeinali E. (2006), «Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity», *Environmental and Experimental Botany*, Vol. 55, № 1-2, P. 195-200.
31. Wang J. Y., Xiong Y. C., Li F. M., Siddique K. H. M., Turner N. C. (2017), «Effects of drought stress on morphophysiological traits, biochemical characteristics, yield, and yield components in different ploidy wheat: A meta-analysis», *Advances in Agronomy*, Academic Press, Vol. 143, P. 139-173.
32. Zhang J., Jia W., Yang J., Ismail A. M. (2006), «Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses», *Field Crops Research*, Vol. 97, P. 111-119.
33. Zhang J., Zhang S., Cheng M., Jiang H., Zhang X., Peng C., Lu X., Zhang M., Jin J. (2018), «Effect of Drought on Agronomic Traits of Rice and Wheat: A Meta-Analysis», *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Vol. 15, № 5, <https://doi.org/10.3390/ijerph15050839>
34. Adamenko T. I. (2014) «Agroclimatic zoning of Ukraine territory taking into account climate change» [«Ahroklimatychne zonuvannia terytorii Ukrainy z vrakhuvanniam zminy klimatu»], Kyiv, 16 p.
35. Arifov M. B., Arifova T. M., Lyfenko S. P. (2004), «Reaction of the modern cultivars and perspective lines of common winter wheat on different sewage terms» [Reaktsiia suchasnykh sortiv ta perspektyvnykh liniy ozymoi miakoi pshenytsi na rizni stroky sivby], *Collection of Scientific Papers of PBGI-NCSC* [Zbirnyk naukovykh prats SHI-NTsNS], Vol. 6 (46), P. 45-54.
36. Balabukh V. O., Odnolietok L. P., Kryvoshein O. O. (2017) «The impact of climate change on the productivity of winter wheat in Ukraine during periods of vegetation cycle» [Vplyv zminy klimatu na produktyvnist ozymoi pshenytsi v Ukraini u periody vechetatsiinoho tsyклу], *Hydrology, hydrochemistry and hydroecology* [Hidrolohiia, hidrokhimiia i hidroekolohiia], № 3, P. 72-85.

37. Blyshchuk D. V. (2015), «Agrometeorological conditions of growth and development of winter wheat during autumn-winter period in the Southern Ukraine» [Ahrometeorologichni umovy rostu ta rozvytku ozymoi pshenytsi v osinno-zymovyi period na pivdni Ukrainy], thesis of cand. geogr. sc.: 11.00.09 – meteorology, climatology, agrometeorology, Odesa, 237 p.
38. Blyshchuk D. V., Poloviy A. M., Feoktistov P. O. (2014), «Formation of freezing tolerance by winter wheat plants under the influence of the climate change in the Southern Ukraine» [Formuvannya morozostiikosti roslynamy ozymoi pshenytsi pid vplyvom zminy klimatu na pivdni Ukrainy], *Culture of the Black Sea People* [Kultura narodov Prychernomoria], №274 (60), P. 211-215.
39. Kovalenko O. A., Korkhova M. M. (2011), «The estimation of drought tolerance and selection of the cultivars of winter wheat (*Triticum aestivum* L.), which are suitable for spreading in Mykolaiv region» [Otsinka posukhostiikosti ta dobir sortiv pshenytsi ozymoi (*Triticum aestivum* L.) prydatnykh do poshyrennia v umovakh Mykolaivskoi oblasti], *Collection of Scientific Papers of VNAU* [Zbirnyk naukovykh prats VNAU], № 9 (49), P. 62-73.
40. Lytvynenko M. A. (2016), «Creation of the cultivars of soft winter wheat (*Triticum aestivum* L.), which are adapted to the climate change in the Southern Ukraine» [Stvorennia sortiv pshenytsi miakoi ozymoi (*Triticum aestivum* L.), adaptovanykh do zmin klimatu na pivdni Ukrainy], *Collection of Scientific Papers of PBGI-NCSC* [Zbirnyk naukovykh prats SHI–NTsNS], Vol. 27 (67), P. 36-52.
41. Lytvynenko M. A. (2004), «Duration of the vegetation period in connection with productivity and drought tolerance of cultivars and lines of winter wheat in the Southern Ukraine» [Tryvalist vegetatsiinoho periodu v zviazku z urozhainistiu y posukhostiikistiu sortiv ta liniy ozymoi pshenytsi na pivdni Ukrainy], *Collection of Scientific Papers of PBGI-NCSC* [Zbirnyk naukovykh prats SHI–NTsNS], Vol. 5 (45), P. 91-104.
42. Musich V. N., Pylnev V. V., Nefodov O. V., Rabinovych S. V. (1996), «Photoperiodic sensitivity and adaptability of different cultivars of winter wheat in the Southern Ukraine» [Fotoperiodychna chutlyvist ta adaptyvnist riznykh sortiv ozymoi pshenytsi na pivdni Ukrainy], *Realisation of potential opportunities of cultivars and hybrids of Plant Breeding and Genetics Institute in Ukraine* [Realizatsiia potentsiinykh mozhlyvostei sortiv ta hibrydiv Seleksiino-henetychnoho instytutu v umovakh Ukrainy], P. 76-83.
43. Narhan T. P. (2003), «The dependence of economically beneficial features of soft winter wheat from the duration of the vegetation period» [Zalezhnist hospodarsko korysnykh oznak ozymoi miakoi pshenytsi vid tryvalosti vegetatsiinoho periodu], *Collection of Scientific Papers of PBGI-NCSC* [Zbirnyk naukovykh prats SHI–NTsNS], Vol. 4 (44), P. 56-62.
44. Pysarenko V. M., Pysarenko P. V., Pysarenko V. V., Horb O. O., Chaika T. O. (2019), «Droughts in the context of the climate change of Ukraine» [Posukhy v konteksti zmin klimatu Ukrainy], *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy* [Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii], №. 1, P. 134-146.
45. Prokopik N. I., Chuhunkova T. V., Khomenko S. O. (2019), «Estimation of drought tolerance of the soft winter wheat cultivars of different ecogeographical origin under osmotic stress» [Otsinka posukhostiikosti sortiv pshenytsi miakoi ozymoi riznogo ekoloho-heohrafichnogo pokhodzhennia za umov osmotychnoho stresu], *Scientific Reports of NUBP of Ukraine* [Naukovi dopovidi NUBiP Ukrainy], №. 3 (79), <http://dx.doi.org/10.31548/dopovidi2019.03.004>.
46. Romanenko O. L., Konova S. R., Baloshenko S. V., Datsko L. V. (2016), «Moisture supply of the winter wheat sowings under global warming in the Southern Steppe of Ukraine» [Volohozabezpechenist posiviv ozymoi pshenytsi v umovakh hlobalnogo poteplinnia na pivdni Stepu Ukrainy], *Melioration and water industry* [Melioratsiia i vodne hospodarstvo], Vol. 102, P. 54-58.
47. Savranchuk V. V., Mostipan M. I., Liman P. B. (2004), «Formation of productivity and sowing features of winter wheat seeds depending on the sowing terms in the Northern Steppe of Ukraine» [Formuvannya vrozhaivosti ta posivnykh yakostei nasinnia u ozymoi pshenytsi zalezho vid strokiv sivy v umovakh pivnichnogo stepu Ukrainy], *Collection of Scientific Papers of PBGI-NCSC* [Zbirnyk naukovykh prats SHI–NTsNS], Vol. 6 (46), P. 55-62.

48. Ulich L. I., Bochkarova L. P., Lysikova V. M., Semenikhin O. V. (2008), «Drought tolerance of the cultivars of winter wheat (*Triticum aestivum* L.), which are suitable for the distribution in Ukraine» [Posukhostiikist sortiv pshenytsi ozymoi (*Triticum aestivum* L.), prydatnykh do poshyrennia v Ukraini], *Cultivar studies and protection of rights on plant cultivars* [Sortovyvchennia ta okhorona prav na sorty roslyn], № 1, P. 106-113.
49. Khomenko L. O., Sandetska N. V. (2018), «The sources of complex tolerance of winter wheat (*Triticum aestivum* L.), in the selection on adaptability» [Dzherela kompleksnoi stiikosti pshenytsi ozymoi (*Triticum aestivum* L.) u selektsii na adaptyvnist], *Plant Varieties Studying and Protection*, Vol. 14, № 3, P. 270-276.

**О. Л. Шестопа́л**<sup>1</sup>, к.б.н., провідний науковий співробітник

**І. С. За́мбріборщ**<sup>1</sup>, к.б.н., завідувачка лабораторією

**Д. В. Шпа́к**<sup>2</sup>, к.с.-г.н., зав.відділом селекції

**Т. Г. Алексе́єва**<sup>3</sup>, к.б.н., доцент

**О. А. Афіно́генов**<sup>1</sup>, інженер

<sup>1</sup>Селекційно-генетичний інститут–Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення, Овідіопольська дорога, 3, м.Одеса, 65036, Україна, e-mail:izambriborsh@gmail.com

<sup>2</sup>Інститут рису Української академії аграрних наук, с.Антонівка, Скадовський р-н, Херсонська обл., 75705, Україна

<sup>3</sup>Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

## ОЦІНКА РЕГЕНЕРАЦІЙНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ГІБРИДНОГО МАТЕРІАЛУ РИСУ ПОСІВНОГО (*ORYZA SATIVA* L.)

Проведено тестування гаплопродукційного потенціалу у культурах пиляків п'яти гібридних популяцій  $F_3$  рису *Oryza sativa* L. До культури *in vitro* було введено 30944 пиляків п'яти генотипів. Шляхом андрогенезу в культурі пиляків рису отримано 6542 новоутворень ( $21,14 \pm 0,23$  в середньому на 100 пиляків), які регенерували 539 зелених рослин ( $1,74 \pm 0,07$  в середньому на 100 пиляків). Найбільший регенераційний потенціал в культурі пиляків виявили у рослин гібридної популяції  $F_3$  Labelle/Малиш ( $2,90 \pm 0,17$ ). На сучасний момент на етапі колосіння дорощуються 193 рослини-регенеранта (35,8 %).

**Ключові слова:** рис; андрогенез *in vitro*; калюс; регенерація.

В останні кілька десятиліть розробка методів *in vitro* для створення гаплоїдів було головним завданням у галузі біотехнології та селекції рослин. Можливість скорочення циклів розмноження та отримання повноцінних гомозиготних рослин робить цю технологію найкращою для створення сортів, картографування генома, QTL-картування, кількісної генетики, геноміки, ідентифікації генів, виявлення генів у трансгенних рослин [13]. Перспективність та результативність проведення робіт із створення лінійного матеріалу *Oryza sativa* L. шляхом андрогенезу *in vitro* на матеріалі Української селекції показана позитивними результатами наших попередніх (2011–2018 рр.) досліджень [1, 2, 6, 8, 9]. Розроблені прийоми до сих пір не гарантують отримання достатньої для досліджень кількості ліній генплазми різного походження. Проте, культура пиляків *in vitro* стала найважливішим інструментом для селекціонерів, використання якого дозволяє не лише скоротити час створення сортів рису, але й фіксувати цінні рекомбінації. Рациональне поєднання методів класичної селек-

ції з біотехнологічними методами дозволяє вирішувати поставлені завдання за короткий термін [3, 5, 7, 9].

Показники регенераційної здатності сильно змінюються в залежності від гібрида і від генотипу, тобто навіть в межах однієї гібридної комбінації різні рослини  $F_1$  або  $F_2$  забезпечують різну інтенсивність калюсоутворення і регенерації зелених рослин: від дуже низької до дуже високої [13]. Таким чином, необхідно охоплювати максимально більшу кількість генотипів гібридних рослин для введення в культуру *in vitro*. Питання про те, яке покоління гібридів більш доцільно використовувати для культури пиляків *in vitro*, залишається дискусійним. В окремі роки гібридне потомство  $F_1$  не дає калюсоутворення; у цьому випадку для культури пиляків можливе використання тільки гібридів наступного покоління. Крім цього, у рослин рису з популяції  $F_2$  частота калюсоутворення вище, ніж у гібридів  $F_1$  [11]. Метою цього дослідження була оцінка гаплопродукційної здатності мікроспор перспективних селекційних зразків рису посівного, що є носіями генів стійкості до пірикуляріозу, та отримання гомозиготних ліній з комплексною стійкістю до пірикуляріозу шляхом андрогенезу *in vitro*.

#### Матеріали та методи досліджень

Як рослинний матеріал застосовували пиляки гібридних популяцій  $F_3$ : Sirio/Маршал (№ 207), Sirio/YiP4970 (№ 211), Labelle/Малиш (№ 236), Labelle/Chise bind (№ 240), Brazos/Малиш (№ 242), які вирощували у «чеках» у м. Скадовськ. Дані гібридні популяції створені гібридизацією батьківських форм – носіїв різних генів стійкості до збудника пірикуляріозу (Малиш, Chise Bind – ген *Pi-ta*, Brazos, Labelle – ген *Pi-b*). Волоті зрізали, коли мікроспори більшості пиляків знаходилися на середньо-пізній стадії розвитку.

Попередньо зрізані волоті, які знаходилися у покривному листку, поміщали у воду, обгортали фольгою листя та поміщали у кліматичну камеру за температури  $+8-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  на 4–5 діб для попередньої обробки [6, 10, 12]. Волоті звільняли від покривного листка та поміщали у чашки Петрі діаметром 90 мм для подальшої стерилізації. Останню проводили таким чином – волоті заливали розчином комерційного препарату «Білизна» протягом 5 хв., зливали його, додавали 0,05 н розчин HCl (10 хв.) з наступним п'ятиразовим промиванням дистильованою стерильною водою. Пиляки асептично виділяли в умовах ламинар-боксу та експлантували у чашки Петрі ( $\varnothing = 60\text{ мм}$ ) на тверді живильні середовища та культивували у темряві при  $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Для індукції новоутворень використали поживне середовище N6 за модифікацією Herath et al. [10] з додаванням фітогормонів: НОК – 1 мг/л, 2,4-дихлорфенооцтова кислота (2,4-Д) – 3 мг/л та кінетик – 1 мг/л; і 60 г/л цукрози. Для подальшого культивування отриманих на первинному середовищі новоутворень використовували поживне середовище MS з додаванням 0,75 мг/л БАП, 0,25 мг/л кінетину та 0,25 мг/л НОК, 30 г/л мальтози [12]. Оскільки формування калюсу з мікроспор рису – це

процес тривалий та відбувається так званими «хвилями», новоутворення пересажували у 2 етапи (І етап – через 4–5 тижнів культивування пиляків; ІІ етап – через 7–8 тижнів культивування) на відповідне поживне середовище та культивували при освітленні за температури  $+26^{\circ}\text{C}$ . Для культивування отриманих зелених регенерантів використовували поживне безгормональне середовище MS із половинним складом макро- та мікросолей.

Математичне опрацювання даних проводили, використовуючи комп'ютерні програми методів статистики та дисперсійного аналізу [4].

### Результати досліджень та їх обговорення

За результатами дослідження оцінки гаплопродукційної здатності п'яти гібридних популяцій  $F_3$  рису показана висока чутливість даних форм до наданих умов *in vitro* за культивування пиляків. Слід наголосити, що значний рівень формування новоутворень був характерним для усіх досліджених гібридних комбінацій (табл. 1).

Таблиця 1  
Ефективність гаплопродукції в культурі пиляків *in vitro* рису

Гібрид	Кількість пиляків	Новоутворення		Зелені регенеранти		Альбіносні регенеранти	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%
№ 207	4892	1715	$35,06 \pm 0,68$	103	$2,11 \pm 0,219$	11	$0,22 \pm 0,07$
№ 211	6430	411	$6,39 \pm 0,31$	13	$0,20 \pm 0,06$	0	0
№ 236	9329	2517	$26,98 \pm 0,46$	271	$2,90 \pm 0,17$	13	$0,14 \pm 0,04$
№ 240	4081	635	$15,56 \pm 0,57$	54	$1,32 \pm 0,18$	10	$0,25 \pm 0,08$
№ 242	6212	1264	$20,35 \pm 0,51$	98	$1,58 \pm 0,16$	27	$0,43 \pm 0,08$
НСР <sub>0,05</sub>			1,80		0,57		0,22

Найбільш продуктивними щодо формування новоутворень на першому етапі гаплопродукції в культурі ізолюваних пиляків виявилися гібриди Sirio/Маршал (№ 207) та Labelle/Малиш (№ 236) –  $35,06 \pm 0,68$  та  $26,98 \pm 0,46$  відсотків від висаджених пиляків відповідно. Три інші гібриди – Brazos/Малиш (№ 242), Labelle/Chise bind (№ 240) і Sirio/YiP4970 (№ 211) – розподілились у порядку зниження величин даного показника.

У наших попередніх дослідженнях [2, 6, 9] показано, що зміна джерела вуглецю (з сахарози на мальтозу) у регенераційному живильному середовищі підвищує рівень виходу зелених рослин-регенерантів. Цього року ми також у дослідженні гаплопродукційної здатності наданих гібридів третього покоління застосовували винайдений спосіб отримання лінійного матеріалу рису посівного [6].

В результаті дослідження виявлено, що здатність до регенерації одержаних новоутворень була дуже різною. Більша частина новоутворень виявила спро-

можність регенерувати лише коріння (різогенез). Слід зазначити, що зелені рослини-регенеранти були отримані в культурі пиляків усіх п'яти гібридних популяцій рису, у той час як доля хлорофіл-дефектних рослин була незначною (рис. 1, 2). Невелика кількість альбіносних регенерантів є вагомим здобутком наших досліджень, оскільки саме значний відсоток альбіносних рослин серед регенерантів є одним з головних негативних факторів широкого застосування методу культури пиляків в селекції рису [14].

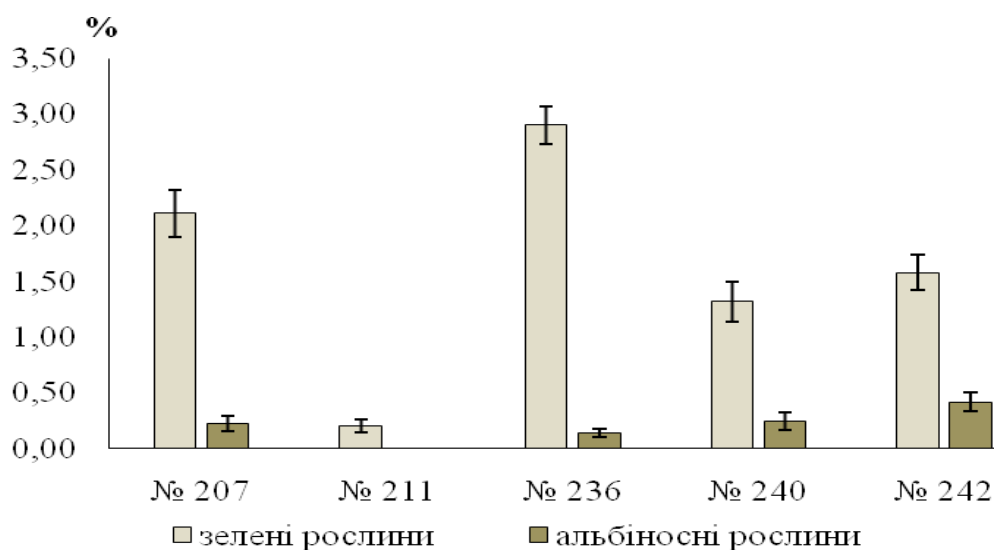


Рис. 1. Регенерація рослин в культурі пиляків рису (відсоток від висаджених пиляків)

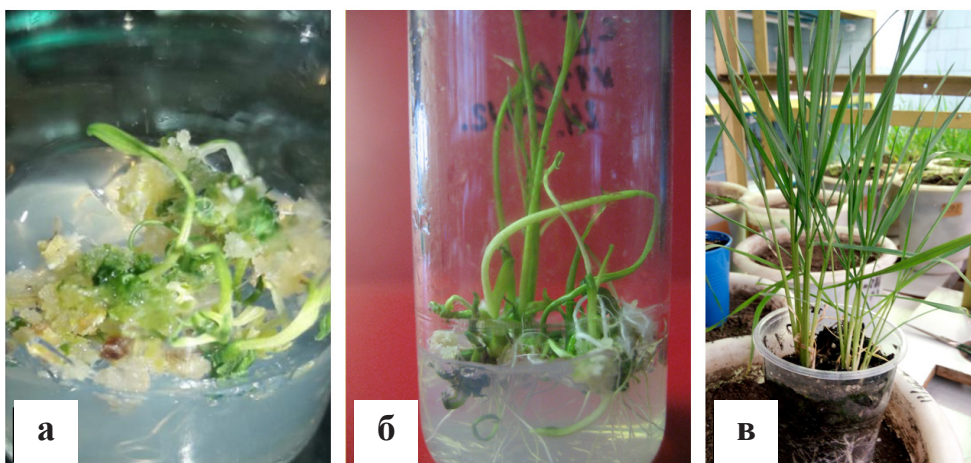


Рис. 2. Рослини-регенеранти: а) регенерація пагонів з калюсу в культурі пиляків рису; б) вкорінення регенерантів на живильному середовищі MS; в) адаптовані рослини у ґрунті

За величиною показника «регенерація зелених рослин» серед інших гібридів достовірно виділився генотип № 236 Labelle/Малиш –  $2,90 \pm 0,17$  зелених рослин на сто висаджених пиляків. Етап регенерації рослин на даний час ще не завершений. Зелені рослини-регенеранти пересаджували на безгормональне живильне середовище MS з половинною концентрацією солей, а потім висаджували у ґрунт для адаптації до умов *ex vitro*.

Одним із найкритичніших етапів будь-якої біотехнології *in vitro* – це адаптація рослин-регенерантів до умов *ex vitro*. Саме на цьому етапі відбувається втрата до 60 відсотків рослин (рис. 3).

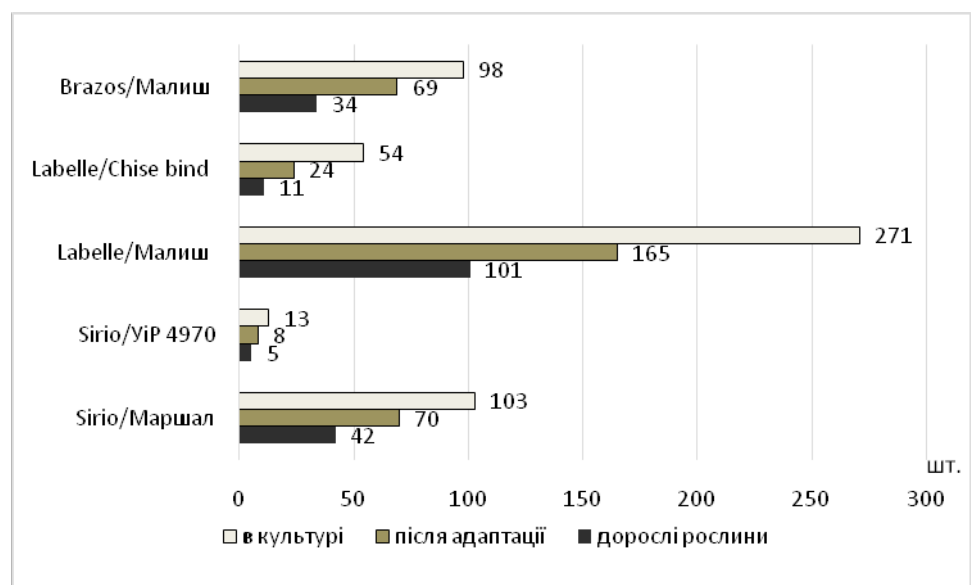


Рис. 3. Динаміка кількості рослин-регенерантів на різних етапах дорощування

Показано, що на етапі адаптації «живильне середовище – ґрунт» в середньому гине 37,7 % отриманих в культурі регенерантів. Однак, і серед адаптованих до ґрунту рослин не всі мають генетичні детермінанти, які дозволяють рослині проходити подальші етапи диференціації росту та розвитку до отримання насіння. Так, на наступних етапах дорощування рослин-регенерантів з різних причин (хромосомна (геномна) нестабільність, хвороби та ін.) гине в середньому до 40 % вже адаптованих рослин. Таким чином, приблизно третина (35,8 %) одержаних шляхом андрогенезу *in vitro* рослин-регенерантів рису посівного дасть насіннєве покоління, і цей факт неодмінно повинні враховувати дослідники ще на етапі планування експерименту.

Таким чином, застосування запатентованого способу отримання лінійного матеріалу рису [2] для тестування гібридних популяцій рису в культурі пиляків, забезпечує ефективний процес формування новоутворень і сприяє виходу достатньої кількості зелених регенерантів.

### Висновки

1. Виявлена різноманітність досліджених гібридних популяцій за здатністю до андрогенезу
2. На дані умови *in vitro* найкраще реагували мікроспори у пиляках рослини гібридної популяції F<sub>3</sub> Labelle / Малиш (новоутворення – 26,98±0,46; регенерація зелених рослин – 2,90 ± 0,17 на 100 висаджених пиляків), найгірше – Sirio/UiP4970 (новоутворення – 6,39 ± 0,31; регенерація зелених рослин – 0,20±0,06 відповідно). Всього за п'яти комбінаціями схрещування отримано 539 рослин-регенерантів.
3. Серед усіх досліджених комбінацій гібридів F<sub>3</sub> найгірша виживаність регенерованих зелених рослин на обох етапах (культура – адаптація до ґрунту та адаптація до ґрунту – виколюшування) була властива комбінації Labelle/Chise bind (20,37 % і 45,83 % відповідно). Найвищі відсотки виживаності на обох критичних етапах мали гібриди Sirio/Маршал (40,78 % і 60,00 %) та Sirio/UiP4970 (38,46 % і 60,50 %).

Стаття надійшла до редакції 12.03.2020

### Список використаної літератури

1. Замбриборщ І. С. Створення *in vitro* вихідного селекційного матеріалу пшениці та рису / І. С. Замбриборщ, О. Л. Шестопа, С. О. Ігнатова // Сільськогосподарська біотехнологія: теоретичні розробки і впровадження в селекцію рослин. – Одеса: Астропринт, 2016. – С. 139–148.
2. Замбриборщ И. С. Использование метода гаплоидии (андрогенез *in vitro*) в селекционном процессе злаковых культур Юга Украины / И. С. Замбриборщ, О. Л. Шестопа // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: XI Междунар. конф.: тез. докл. – Минск, 2018. – С. 72–73.
3. Илюшко М. В. Изменчивость гаплоидов риса, полученных в культуре пыльников *in vitro* / М. В. Илюшко, М. В. Ромашова // Рос. сельскохозяйств. наука. – 2019. – № 2. – С. 11–14
4. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 350 с.
5. Малышева Н. Н. Получение, оценка и отбор дигаплоидных линий риса с хозяйственно-ценными признаками / Н. Н. Малышева, Е. Г. Савенко, В. А. Глазырина, Л. А. Шундрин // Рисоводство, 2012. – Т. 21. – С. 14–18.
6. Пат. 108514 Україна, № u201512317 на корисну модель. Спосіб отримання ліній рису / Шестопа О.Л., Замбриборщ І. С., Шпак Д. В.; заявл. 14.12.2015 ; опубл. 25.07.2016, Бюл. № 14. – 5 с.
7. Савенко Е. Г. Использование методов *in vitro* для получения исходного селекционного материала / Е. Г. Савенко, В. А. Глазырина, Л. А. Шундрин // Рисоводство, 2012. – Т. 20. – С. 13–16.
8. Шпак Д. В. Ранньостиглий селекційний матеріал рису, створений методом культури *in vitro* / Д. В. Шпак, І. С. Замбриборщ, О. Л. Шестопа // Сільськогосподарська біотехнологія: теоретичні розробки і впровадження в селекцію рослин. – Одеса: Астропринт, 2016. – С. 174–180.
9. Шпак Д. В. Продуктивність та якість зерна ліній рису, створених з використанням методів культури *in vitro* / Д. В. Шпак, І. С. Замбриборщ, О. Л. Шестопа // Біотехнологія — інноваційний шлях розвитку селекції рослин: Міжн. наук. конфер.: тез доп. – Одеса, 2018. – С. 150–151.
10. Herath H. M. I. Effect of culture media for another culture of indica rice varieties and hybrids of

- indica and japonica / H. M. I. Herath, D. C. Bandara, P. K. Samarajeewa // Tropical agricultural research & extension. – 2007. – V. 10. – P. 17–22.
11. Naik N. Development of doubled haploids from an elite indica rice hybrid (BS6444G) using anther culture / N. Naik, P. Rout, N. Umakanta, R. L. Verma, J. L. Katara, K. K. Sahoo, O. N. Singh, S. Samantaray // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2017. – P. 128: 679–689.
  12. Rukmini M. Effect of cold pretreatment and phytohormones on anther culture efficiency of two indica rice (*Oryza sativa* L.) hybrids –Ajay and Rajalaxmi / M. Rukmini, G. J. N. Rao, R. N. Rao // Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences. – 2013. – Vol. 1(2). – P.69–76.
  13. Tripathy S. K. Anther culture in rice: progress and breeding perspective / S. K. Tripathy, D. Lenka, A. M. Prusti, D. Mishra, D. Swain, S. K. Behera // Applied Biological Research. – 2019. – Vol. 21(2). – P. 87–104.
  14. Tripathy S. K. Exploring factors affecting anther culture in rice (*Oryza sativa* L.) / S. K. Tripathy, D. Swain, P. M. Mohapatra, A. M. Prusti, B. Sahoo, S. Panda, M. Dash, B. Chakma, S. K. Behera // Journal of Applied Biology & Biotechnology. – 2019. – Vol. 7(02). –P. 87–92.

**O. L. Shestopal<sup>1</sup>, I. S. Zambriborshch<sup>1</sup>, D. V. Shpak<sup>2</sup>, T. G. Aliksieieva<sup>3</sup>,  
O. A. Afinogenov<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Plant Breeding & Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation

Ukraine, 65036, Odesa, Ovidiopolska road 3, e-mail: izambriborsh@gmail.com

<sup>2</sup>Rice Research Institute at Ukrainian Academy of Agrarian Sciences

Ukraine, 75705, Kherson region, Skadovsk district, Antonovka village,

<sup>3</sup>Odesa Mechnykov National University, Department of Genetics and Molecular Biology, 2 Dvoranska Street, Odesa, 65082, Ukraine

## **EVALUATION OF REGENERATION POTENTIAL OF RICE (*ORYZA SATIVA* L.) HYBRID MATERIAL**

### **Abstract**

**Introduction.** *In vitro* anther culture is an important source of linear material propagation for efficient breeding of rice (*Oryza sativa* L.), in particular due to the reduction of reproduction cycles and the production of homozygous plants. Given the strong variation in the regenerative ability of microspores in different hybrid combinations, it is desirable to cover the maximum number of combinations of hybrids of different generations.

**Aim.** Evaluation of the haploproduction ability of microspores of promising breeding samples of rice.

**Methods.** The anthers of five promising hybrid F<sub>3</sub> populations obtained at the Rice Institute (Skadovsk) as a result of hybridization of carriers of various resistance genes to pyriculariosis were used. The inflorescences with microspores at the mid-late stage of development were cut and pretreated for sterilization; the isolated anthers were explanted in Petri dishes on a solid nutrient medium and cultured in the dark until neoplasms were obtained, after which they were transplanted (stage I – after 4-5 weeks). The next transplant event (II stage – after 7-8 weeks) and further cultivation was carried out under lighting to obtain green regenerants.

**Results.** The high sensitivity to *in vitro* cultivation conditions was shown for five combinations of  $F_3$  rice hybrids. The rate of callus formation varied from 6.4 % (Sirio / YiP4970) to 35 % (Sirio / Marshal). The ability to regenerate in the obtained neoplasms also varied greatly, since most of them were only capable of rhizogenesis, without forming shoots and leaves. Nevertheless, the regenerant plants were obtained for each hybrid combination and the proportion of albinos among the total number of regenerants was relatively small. On average about 40 % of the regenerants obtained in the culture die at the critical stage of adaptation of regenerated plants to *ex vitro* conditions; approximately the same number of plants die during the growing process, being unable to give seed generation.

**Conclusions.** The most productive from the point of view of plant formation adapted to *ex vitro* conditions was the hybrid population  $F_3$  Labelle / Malish (101 adult plants), and the least productive was Sirio / YiP4970 (5 adult plants) among the studied combinations. Thus, by androgenesis in anther culture, 336 plants adapted to *ex vitro* conditions were obtained. At the moment, 193 plants are at the earing stage, which is 35.81% of the total number of green regenerants obtained in the culture.

**Key words:** rice, androgenesis *in vitro*, callus, regeneration

## References

1. Zambriborshch I. S., Shestopal O. L., Ihnatova S. O. (2016) "Creation of initial selection material of wheat and rice *in vitro*", *Agricultural biotechnology: theoretical developments and implementation in plant breeding* ["Stvorennia *in vitro* vykhidnoho selektsiinoho materialu pshenytsi ta rysu", Silskohospodarska biotekhnolohiia: teoretychni rozrobky i vprovadzhennia v selektsiiu roslyn], Odesa, p. 139-148.
2. Zambryborshch Y. S., Shestopal O. L. (2018) "The use of the method of haploidy (androgenesis *in vitro*) in the selection process of cereals in the South of Ukraine", *Biology of plant cells in vitro and biotechnology* ["Yspolzovanyie metoda haploidy (androhenez *in vitro*) v selektsyonnom protsesse zlakovykh kultur Yuha Ukrainy", XI Mezhdunar konf «Byolohiya kletok rastenyi invitro y byotekhnolohiya)], Minsk, pp. 72-73.
3. Ilyushko M. V., Romashova M. V. (2019) "Variability of rice haploids obtained in anther culture *in vitro*" ["Yzmenchivost haploydov rysa, poluchennikh v kulture pilnykov *in vitro*"], *Russian Agricultural Sciences*, 2, pp. 11-14.
4. Lakyn H. F. (1990) *Biometrics* [Byometryia], Moscow, 350 p.
5. Malysheva N. N., Savenko E. G., Glazyrina V. A., Shundrina L. A. (2012) *Receiving, assessment and selection of dihaploid rice lines with economic and valuable signs* ["Poluchenye, otsenka y otdor dyhaploydnykh lynyi rysa s khoziaistvenno-tsennimy pryznakamy"], *Rice growing*, 21, pp. 14-18.
6. Pat. 108514 Ukraine, № u201512317 for utility model. The method of rice lines obtaining [Sposib otrymannia linii rysu], Shestopal O. L., Zambryborshch I. S., Shpak D. V.; claimed 14.12.2015; publ. 25.07.2016, Bul. № 14. - 5 p
7. Savenko E.H., Hlaziyna V.A., Shundryna L.A. (2012) "Use of *in vitro* methods to obtain the original breeding material" ["Yspolzovanyie metodov *in vitro* dlia polucheniya yskhodnoho selektsyonnoho materyala"], *Rice growing*, 20, pp. 13-16.
8. Shpak D. V., Zambriborshch I. S., Shestopal O. L. (2016) "Early-maturing breeding material of rice, created by *in vitro* culture", *Agricultural biotechnology: theoretical developments and implementation in plant breeding* ["Rannostyihlyi selektsiinyi material rysu, stvorenyi metodom kultury *in vitro*", Silskohospodarska biotekhnolohiia: teoretychni rozrobky i vprovadzhennia v selektsiiu roslyn], Odesa, p. C. 174-180.

9. Shpak D. V., Zambriborshch I.S., Shestopal O. L. (2018) "*Productivity and grain quality of rice lines created using in vitro culture methods*", *Biotechnology - an innovative way to develop plant breeding*, ["Produktyvnist ta yakist zerna linii rysu, stvorenykh z vykorystanniam metodiv kultury in vitro", *Biotehnolohiia —innovatsiinyi shliakh rozvytku selektsii roslyn*], Odesa, pp.150-151.
10. Herath H. M. I., Bandara D. C., Samarajeewa P. K. (2007) Effect of culture media for another culture of indica rice varieties and hybrids of indica and japonica, *Tropical agricultural research & extension*, 10, p. 17–22.
11. Naik N., Rout P., Umakanta N., Verma R L, Katara J. L., Sahoo K. K., Singh O. N., Samantaray S. (2017) Development of doubled haploids from an elite indica rice hybrid (BS6444G) using anther culture, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 128, 679-689.
12. Rukmini M., Rao G. J. N., Rao R. N. (2013) Effect of cold pretreatment and phytohormones on anther culture efficiency of two indica rice (*Oryza sativa* L.) hybrids –Ajayand Rajalaxmi, *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 1(2), pp. 69-76.
13. Tripathy S. K., Lenka D., Prusti A. M., Mishra D., Swain D. and Behera S.K. (2019) «Anther culture in rice: progress and breeding perspective», *Appl.Biol.Res.*, 21(2), pp 87-104.
14. Tripathy S. K., Swain D., Mohapatra P. M., Prusti A. M., Sahoo B., S. Panda, Dash M., Chakma B., Behera S. K. (2019) Exploring factors affecting anther culture in rice (*Oryza sativa* L.), *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 7(02), pp. 87-92.

# **ЗООЛОГІЯ**





Т. В. Микитин<sup>1</sup>, к.б.н., доцент

В. П. Стефурак<sup>2</sup>, д.б.н., професор

<sup>1</sup>ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника»,  
Факультет природничих наук, кафедра біології та екології,  
вул. Галицька, 201, м. Івано-Франківськ, Україна,  
e-mail: mukutuntanja86@gmail.com

<sup>2</sup>Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра медичної  
біології та медичної генетики, вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, Україна

### ВПЛИВ ЦЕМЕНТНОГО ПИЛУ НА УГРУПОВАННЯ МУРАХ (HYMENOPTERA, FORMICIDAE)

Проведено дослідження впливу цементного пилу в зоні ПрАТ «Івано-Франківськцемент» на угруповання мурах. Під час дослідження не були виявлені мурашки роду *Formica* на територіях, які піддаються антропогенному впливу, зате види родів *Lasius* та *Mymica* були поширені.

Зі зменшенням ступеня забруднення частка підземних гнізд збільшується ( $r=0,90$  при  $p<0,05$ ), частка купольних гнізд зменшується ( $r=-0,94$  при  $p<0,05$ ). Всі гнізда, зареєстровані в найбільш забрудненій зоні, складаються з суміші цементного пилу і землі висотою до 45 см.

*Lasius niger* є стійким до впливу цементного пилу, що можна пояснити особливостями форми мурашиного гнізда цього виду.

**Ключові слова:** мурахи; антропогенний вплив; цементний пил; *Lasius*, *Mymica*.

Останнім часом все гостріше постає питання про вплив різних видів забруднення на тваринний і рослинний світ. Антропогенний фактор у більшості випадків чинить на тварин лише опосередкований вплив, руйнуючи їх оселища, режим трофіки, перериваючи канали внутрішньо-популяційної і біоценотичної інформації. Відсутність реакції на вплив людини у герпетобіонтів спостерігається рідко. У більшості випадків промислові викиди впливають на збіднення фауни комах не тільки за рахунок зменшення їх видового складу, але й за рахунок зменшення чисельності домінуючих видів [6, 7, 9].

Враховуючи, що в багатьох біогеоценозах серед комах верхнього ґрунтового шару переважають комахи-зоофаги, до складу яких входять мурахи, зрозуміла важливість вивчення відповідних реакцій представників родини Formicidae на різні форми антропогенного впливу [2, 10]. В даний час подібні реакції мурах вивчені недостатньо.

Промислові забруднення, за спостереженнями І. Петаль, призводять до обмеження кількості видів, зменшення щільності гнізд і чисельності особин у них. У районах промислового забруднення відмічаються зміни просторової структури популяцій мурах, збільшення в сім'ях частки личинок і лялечок,

зменшення маси тіла робочих особин; накопичення міді, свинцю, кадмію, цинку, фтору в тілі мурах [4, 11].

Зміни видового складу і чисельності мурах відзначаються і при посиленні рекреаційного пресу. Дослідження лісопарків міст показали, що при слабкому рекреаційному навантаженні відзначено 32 % від числа виявлених видів мурашок у лісопарках, при помірному – 88 %, при сильному – 52 % [2]. При цьому середня щільність гнізд одних і тих самих видів у місті в декілька разів вища, ніж в лісопарковій заміській зоні. Тільки *M. rubra* і *L. niger* можна зустріти на ділянках, які піддаються різним ступеням рекреаційного навантаження. Це види, які на думку ряду авторів, є найбільш стійкими до будь-яких форм антропогенного впливу. Велику стійкість до рекреаційного навантаження в цілому проявляють види роду *Мутіса*, однак, при сильному навантаженні щільність гнізд і частота трапляння *M. rubra* знижується [2, 8]. У той же час, за спостереженнями К. В. Успенського, найбільша щільність гнізд мурашок *M. rubra* спостерігається в зоні з сильним рекреаційним навантаженням [8].

У зв'язку з вищевказаною суперечливою інформацією нами проведені дослідження впливу цементного пилу на мурах Івано-Франківської області.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження впливу цементного пилу на мірмекокомплекси проводили на території с. Ямниця, Тисменицького району, Івано-Франківської області і його околиць, поблизу цементного заводу ПрАТ «Івано-Франківськцемент» в період з 2011 по 2019 роки (весняно-літній польовий сезон). Вивчено луки і широколистяні ліси в межах села Ямниця, які розташовані на різній відстані від джерела цементного пилу (0; 0,5 км; 1 км; 5,5 км) і в 30 км від межі села (контроль): комплексна пам'ятка природи Касова гора (луки контроль) та ліс на території с. Кінашів Галицький район (ліс контроль).

Дослідні ділянки:

1 – луки – 48°58'32.1"N 24°42'32.1"E;

2 – луки контроль – 49°13'17.3"N 24°43'40.2"E;

3 – ліс – 48°58'09.9"N 24°42'46.4"E;

4 – ліс контроль – 49°14'34.5"N 24°44'57.2"E.

Збір матеріалу і його камеральну обробку здійснювали згідно з традиційними методами і методиками. Мурах відбирали вручну, ентомологічним пінцетом, а також закладали ґрунтові пастки. Зібрано та ідентифіковано більше 1000 особин. Для кількісного підрахунку видового складу мурашок роду *Formica* використовували методики К. В. Арнольді (1979) [1]. Підрахунок гнізд і взяття проб мурашок проводили за методикою Г. М. Длуського (1965) [3]. Мурашники описувалися за стандартною методикою [5]. Облік будівельного матеріалу гнізд проводили візуально, матеріал не відбирався.

Статистичне опрацювання проведене із використанням пакету програм Statistica 7 і додатку Excel 2007 та статистичних методів [3, 4, 5].

### Результати дослідження та їх обговорення

#### Таксономічний і видовий склад мурах на території дослідження

Усього на дослідній території с. Ямниця, і його околиць, виявлено 8 видів мурах, які належать до 4 родів (*Formica*, *Lasius*, *Myrmica*, *Camponotus*), 2 підродин (*Formicinae* та *Myrmicinae*) (рис. 1).

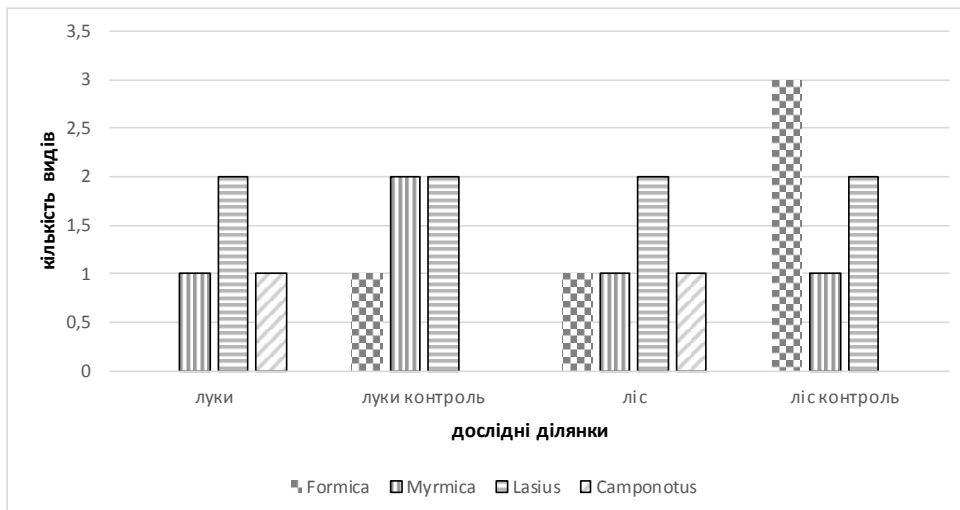


Рис. 1. Представленість мурах на дослідних ділянках

При цьому більшість видів належить до підродини *Formicinae* (6 видів, 75 %). На частку представників підродини *Myrmicinae* припадає 25 % (2 види). При цьому виявлена пряма кореляційна залежність між числом видів *Formicinae* і *Myrmicinae* на дослідних ділянках і відстанню до джерела цементного пилу (відповідно  $r=0,85$  і  $r=0,51$  при  $p<0,05$ ).

Основою мірмекофауни території дослідження є мурахи роду *Lasius* (2 види, 25 %), гнізда яких виявлені на всіх ділянках (рис. 1). Рід *Formica* представлений 3 видами (37,5 %), рід *Myrmica* – 2 види (25 %), рід *Camponotus* – 1 вид (12,5 %). Мурахи *M. rubra* спостерігали на території села і в контролі, *M. ruginodis* відзначені лише на луках в контролі. Мурашники *F. polystena* зареєстровані на луках і в лісах контрольної зони, а також в лісовій зоні на території села. Представників підроду *Formica* s. str. в зоні впливу цементного пилу не знаходили. Рід *Camponotus* представлений одним видом *C. herculeanus*, гнізда якого виявлені тільки на території села. На дослідних ділянках представники родів розподілені нерівномірно: на луках всього 6 видів мурах, з них на території села – 4, в контролі – 5; в лісах – 7 видів, у тому числі на території села – 5 видів та його околицях (контроль) відзначено 6 видів мурах (табл. 1).

Таблиця 1

## Біотопічний розподіл мурах дослідної території

Види\територія	Луки	Контроль луки	Ліс	Контроль ліс
<i>Camponotus herculeanus</i> (Linnaeus, 1758)	+	—	+	—
<i>Myrmica rubra</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+
<i>Myrmica ruginodis</i> (Nylander, 1846)	—	+	—	—
<i>Formica polystena</i> (Forster, 1850)	—	+	+	+
<i>Formica rufa</i> (Linnaeus, 1761)	—	—	—	+
<i>Formica fusca</i> (Linnaeus, 1758)	—	—	—	+
<i>Lasius niger</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+
<i>Lasius flavus</i> (Fabricius, 1781)	+	+	+	+
Загальна кількість:	4	5	5	6

У результаті аналізу розподілу родів і видів на дослідних луках нами виявлено пряму кореляційну залежність між числом видів мурах і відстанню від джерела цементного пилу ( $r=0,87$  при  $p<0,05$ ). Найбільшу кількість видів мурах в зоні впливу цементного пилу спостерігали з роду *Lasius* (рис. 2). Гнізда мурах роду *Myrmica* трапляються не ближче 1 км від цементного заводу, гнізда *Formica rufa* та *Formica fusca* – тільки в контролі.

Деяко відмінна тенденція спостерігається під час аналізу видового різноманіття мурах на луках, які розміщені на різній відстані від джерела забруднення. Чисельність мурашок роду *Lasius* збільшується при наближенні до джерела за-

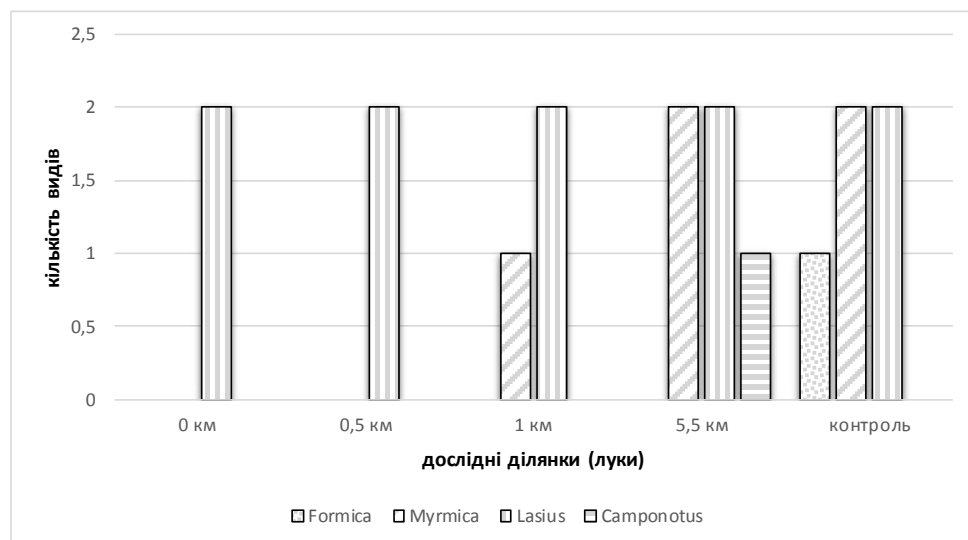


Рис. 2. Видове багатство мурах на території лук на різних відстанях від джерела забруднення

бруднення: мінімальне значення відзначено в контролі, а поблизу джерела цементного пилу відзначали тільки мурах з роду *Lasius*. Для мурах роду *Myrmica* відмічений зворотній розподіл: максимальне різноманіття – на відстані 5,5 км від цементного заводу та у контролі, мінімальне – поблизу джерела цементного пилу та на відстані 1 км від заводу. Видове різноманіття мурашок роду *Formica* в контролі становить 43 % від загальної кількості видів.

У цілому дослідні ділянки території широколистяних лісів характеризуються високим ступенем подібності видів (індекс подібності Жаккара – 57,2): виявлено 4 спільних види (*M. rubra*, *F. polystena*, *L. flavus*, *L. niger*). Гнізда мурашок роду *Camponotus* в умовах впливу цементного пилу зареєстровані тільки в широколистяному лісі та лузі на території села. Мурахи підроду *Serviformica* відзначені лише в контролі. Гнізда мурах підроду *Formica* s. str. відзначені на обох модельних ділянках.

У широколистяному лісі, який піддається впливу цементного заводу, відзначені гнізда мурах чотирьох родів, у контролі – трьох. Мурахи роду *Camponotus* зареєстровані тільки на території села (видове різноманіття 20 % від загальної кількості). Видове різноманіття *Formica* вище в контролі (50 %) порівняно з видовим різноманіттям на території села (20 %), для родів *Myrmica* і *Lasius* видове різноманіття в зоні впливу цементного пилу й у контролі істотно не відрізняється.

### Щільність гнізд мурашок

Під впливом цементного пилу на біотопи мурахи проявляють неадаптивну реакцію. Щільність їхніх поселень максимальна на контрольних ділянках (луки  $4,2 \pm 0,01$  гн./25 м<sup>2</sup>; ліс  $3,2 \pm 0,01$  гн./25 м<sup>2</sup>) і зменшується з наближенням до джерела забруднення.

Мінімальна щільність гнізд зареєстрована на найбільш забруднених ділянках (луки  $1,35 \pm 0,05$  гн./25 м<sup>2</sup>; ліс  $2,3 \pm 0,15$  гн./25 м<sup>2</sup>). Проведений аналіз зміни щільності поселення окремих родів показав, що на луках, розташованих поблизу джерела цементного пилу, щільність гнізд усіх родів мінімальна (рис. 3).

З віддаленням від джерела забруднення щільність поселень мурашок достовірно зростає ( $r=0,97$  при  $p<0,05$ ). Поселення роду *Lasius* поблизу цементного заводу становлять  $1,4$  гн./25 м<sup>2</sup>, в 5,5 км –  $2,1$  гн./25 м<sup>2</sup>, у контролі –  $3,8$  гн./25 м<sup>2</sup>. Така ж тенденція виявлена і для мурашок роду *Myrmica*: в 1 км від заводу щільність їх гнізд –  $0,1$  гн./25 м<sup>2</sup>, в контролі –  $0,4$  гн./25 м<sup>2</sup>. Поселення мурах роду *Formica* (*F. fusca*) зареєстровані тільки в контролі, щільність поселень досягає  $1,5 \pm 1,1$  гн./25 м<sup>2</sup>.

Дещо відмінні тенденції відзначені при аналізі щільності поселень мурах у широколистяних лісах. Щільність гнізд мурашок роду *Lasius* вища в контролі в 1,8 рази ( $3,1$  гн./25 м<sup>2</sup>), ніж у селі ( $1,75$  гн./25 м<sup>2</sup>). Для інших родів (*Camponotus*, *Myrmica* і *Formica*) зареєстрована протилежна реакція. Однак щільність мурашників *F. fusca*, які трапляються лише в контролі, сягає  $2,5 \pm 1,1$  гн./25 м<sup>2</sup>.

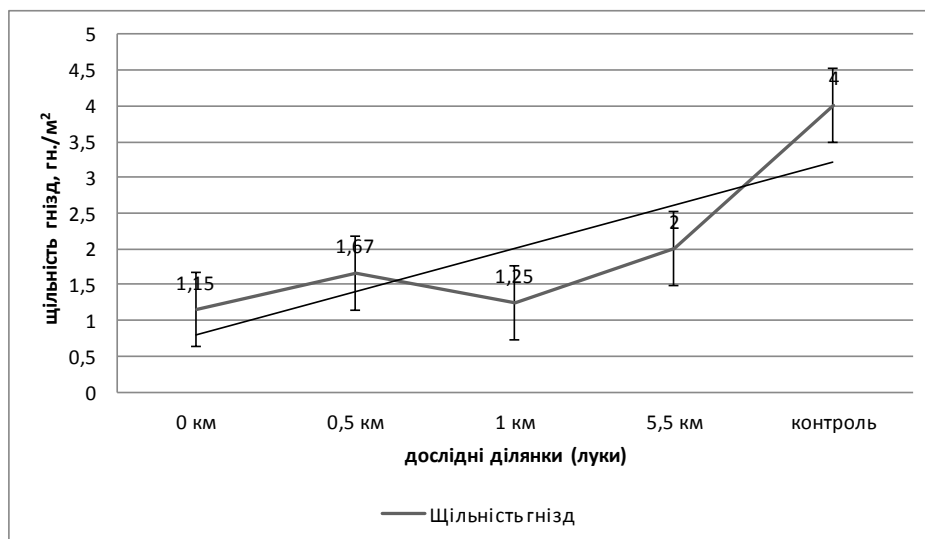


Рис. 3. Середня щільність гнізд мурах лук, які розміщені на різних відстанях від джерела цементного пилу

#### Типи гнізд

На дослідній території знайдено чотири типи гнізд мурашок: підземні, купольні, у вигляді земляних і рослинних горбків, в деревині. Аналіз розподілу типів гнізд мурах у зоні впливу цементного заводу виявив кореляційні залежності числа переважальних типів гнізд від відстані до джерела цементного пилу (рис. 4).

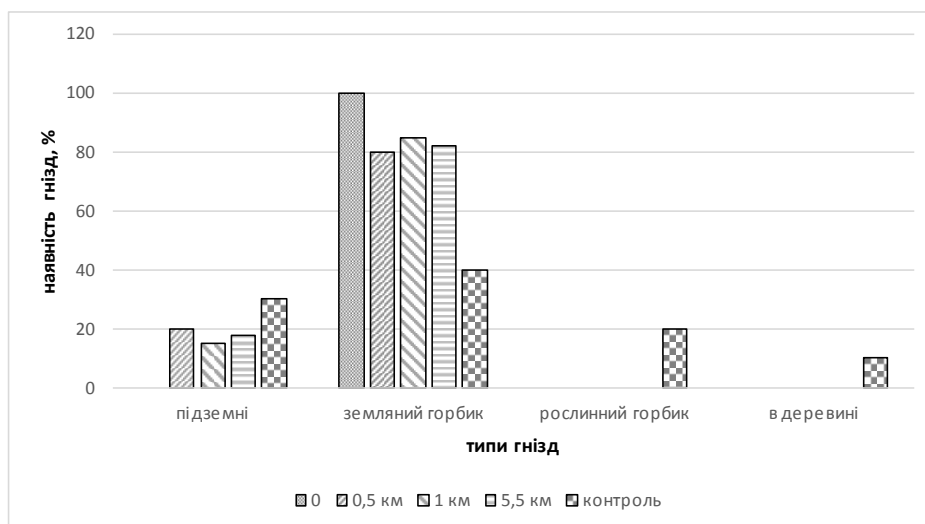


Рис. 4. Розподіл типів гнізд мурашок на луках на різній відстані до джерела цементного пилу, %

Із зменшенням ступеня забруднення частка підземних гнізд мурах збільшується ( $r=0,90$  при  $p<0,05$ ), частка купольних гнізд мурашок зменшується ( $r=-0,94$  при  $p<0,05$ ). При цьому розміри купола в середньому зменшуються при віддаленні від джерела забруднення.

Всі гнізда мурах, зареєстровані в найбільш забрудненій зоні, складаються з суміші цементного пилу і землі висотою до 45 см. Близько 75 % всіх знайдених гнізд мурашок були сильно зарослими. При розкопуванні гнізда розкриваються пошарово, купол був ніби зацементований.

При віддаленні від цементного заводу ПрАТ «Івано-Франківськцемент» на 0,5–1 км цементний пил був знайдений на гніздах, переважно на верхівці купола. При подальшому віддаленні від заводу (5,5 км) нами не було знайдено явних ознак присутності цементного пилу на гніздах мурах.

Адаптація мурах до впливу цементного пилу відрізняється від інших видів впливу, які були нами досліджені та описані, а саме: рекреаційного, техногенного навантаження від викидів ВАТ «Нафтохімік Прикарпаття» [4]. Виражається вона в тому, що під впливом цементного пилу гнізда мають частіше куполоподібну форму, менший діаметр і значно вищі, ніж ті, які розташовані з віддаленням від джерела впливу та у контрольній зоні. Можемо пояснити це тим, що ґрунт поблизу цементного заводу покритий шаром вапняного пилу, що сягає до 5 см.

Велика частина зареєстрованих поселень мурах у контрольній зоні представлена гніздами із земляними горбиками або з горбками з рослинних залишків. Середня висота купольних гнізд досягає 45 см з діаметром вала близько 58 см.

Число гнізд у деревині залежить тільки від числа повалених дерев на дослідній території та спостерігали тільки на ділянці Контроль ліс.

### Висновки

На дослідній території с. Ямниця і його околиць, виявлено 8 видів мурах, які належать до 4 родів, 2 підродин. Під дією викидів від ПрАТ «Івано-Франківськцемент» щільність гнізд мурашок роду *Formica* сильно зменшується і переважають мурах родів *Lasius* і *Myrmica*. Щільність поселень мурашок максимальна на контрольних ділянках і зменшується з наближенням до джерела забруднення. Висота земляного горбика гнізд *L. niger* обернено пропорційна відстані до джерела промислових викидів. У зоні впливу цементного пилу найчастіше спостерігали земляні гнізда, куполоподібні, розміри купола в середньому зменшувались при віддаленні від джерела забруднення.

Стаття надійшла до редакції 26.01.2020

### Список використаної літератури

1. Арнольди К. В. Изучение экологии муравьев / К. В. Арнольди, В. И. Гримальский, А. В. Демченко, В. К. Дмитриенко, А. А. Захаров, и др. // Муравьи и защита леса. – Тарту, 1979. – С. 156–171.
2. Бугрова Н. М. Оценка устойчивости к рекреационному воздействию различных видов муравьев / Н. М. Бугрова // Проблемы устойчивости биологических систем. – Харьков, 1990. – С. 275–276.
3. Длусский Г. М. Методы количественного учета почвообитающих муравьев / Г. М. Длусский // Зоол. журн, 1965. – Т. 44, № 5. – С. 716–727.
4. Микитин Т. В. Антропогенний вплив на міркеофауну техногенно-трансформованих околиць ВАТ «Нафтохімік Прикарпаття» / Т. В. Микитин // Вісник Черкаського університету. Серія «Біологічні науки». – 2014. – Вип. 36. – С. 67–74. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/VchuB\\_2014\\_36\\_12](http://nbuv.gov.ua/UJRN/VchuB_2014_36_12)
5. Пермитин Д. В. Математические методы обработки зоологических данных / Д. В. Пермитин, В. Б. Ильяшенко. – Кузбассвузиздат: Кемерово, 1996. – 41 с.
6. Писарски Б. Фауна беспозвоночных урбанизированных районов Варшавы / Б. Писарски // Биоиндикация в городах и пригородных зонах. – М., 1993. – С. 43–48.
7. Селиховкин А. В. Ответные реакции насекомых-дендрофагов на промышленное загрязнение воздуха / А. В. Селиховкин. – Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера», 2013. – Т. 5, № 1. – С. 47–70.
8. Успенский К. В. Система лесопатологического мониторинга дубрав зеленой зоны Воронежа / К. В. Успенский // автореф. дисс. канд. биол. наук. – М., 1999. – 24 с.
9. Федорова В. Г. Влияние промышленных выбросов Новгородского химкомбината (АО «Акронт») на фауну и численность насекомых / В. Г. Федорова // Сборник научных трудов 9 съезда РЭО «Проблемы энтомологии в России». Зоол. интРАН. – Санкт-Петербург, 1998. – С. 182–183.
10. Царик І. Й. Formicidae як індикатор змін біотичних і абіотичних компонентів екосистем / І. Й. Царик // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 59. – С. 3–11.
11. Blüthgen N. Food and Shelter: How Resources Influence Ant Ecology / N. Blüthgen, H. Feldhaar // ANT ECOLOGY, 2009. – pp. 116–136.

**T. V. Mykytyn<sup>1</sup>, V. P. Stefurak<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Faculty of Natural Science, Department of Biology and Ecology, 201 Galytska St., Ivano-Frankivsk, Ukraine, e-mail: mukutuntanja86@gmail.com

<sup>2</sup>Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Medical Biology and Medical Genetics, 2 Galytska St., Ivano-Frankivsk, Ukraine

### INFLUENCE OF THE CEMENT DUST ON ANTS GROUPING (HYMENOPTERA, FORMICIDAE)

#### Abstract

**Introduction.** Industrial emissions affect the impoverishment of insect fauna not only by reducing their species composition but also by reducing the abundance of dominant species.

**Aim.** Therefore, the goal of the research was to investigate how the cement dust affects species diversity of ants, density and types of anthills.

**Methods.** Investigation of the effect of cement dust on mirmecofauna was carried out on the territory of village Yamnytsia, Tysmenytsia district, Ivano-Frankivsk region and its vicinity, near the cement plant of PJSC «Ivano-Frankivskcement». Meadows and deciduous forests were studied within the village of Yamnytsia, which are located at different distances from the source of cement dust (0; 0.5 km; 1 km; 5.5 km) and 30 km from the village boundary (control). To quantify the species composition of *Formica* ants, the methods of K. V. Arnoldi were used. Counting of anthills and sampling of ants was performed according to the method of G. M. Dlussky. Anthills were described by the standard method, the account of the building material of the nests was carried out visually, the material was not selected.

**Results.** Analyzing the distribution of ants genera and species on the experimental meadows, we found a direct correlation between the number of ants and the distance from the sources of cement dust ( $r=0.87$  at  $p<0.05$ ). The largest number of the ant species was observed in the area of influence from the genus *Lasius*. *Myrmica* nests are found not closer than 1 km from PJSC «Ivano-Frankivskcement», *Formica* nests are only in the control. With a decrease in the pollution degree, the proportion of underground nests increases ( $r=0.90$  at  $p<0.05$ ), the proportion of the dome nests decreases ( $r=-0.94$  at  $p<0.05$ ). At the same time, the size of dome on average decreases when the distance from the source of pollution grows. All anthills registered in the most polluted zone consist of a mixture of cement dust and earth up to 45 cm high. About 75 % of all nests found were heavily overgrown. Adaptation of the ants to the influence of cement dust differs from other types of impact and is expressed in the fact that in technogenic territories anthills are more often dome-shaped, of smaller diameter and considerably higher than those located in the control zone. This is because the soil near PJSC «Ivano-Frankivskcement» is covered with a layer of the lime dust which reaches 5 cm. *Lasius niger* is resistant to various forms of the anthropogenic influence, which can be explained by the adaptive features of the anthill forms.

**Conclusion.** Under the influence of emissions from PJSC «Ivano-Frankivskcement», the anthill density of *Formica* genera is greatly reduced and is dominated by ants of the genera *Lasius* and *Myrmica*. The height of the *L. niger* anthill is inversely proportional to the distance to the source of industrial emissions, and the frequency of occurrence of underground nests of most species is directly proportional to the degree of anthropogenic impact.

**Keywords:** ants; anthropogenic influence; cement dust; *Lasius*; *Myrmica*.

## References

1. Arnoldi K. V. (1979) *Studying the ecology of ants* [Izuchenie ekologii murav'ev]. Murav'i I zashchita lesa. Tartu, pp 156–171.
2. Bugrova N. M. (1990) *Assessment of resistance to the recreational effects of various species of ants* [Ocenka ustojchivosti k rekreacionnomu vozdejstviyu razlichnyh vidov murav'ev]. Problemy ustojchivosti biologicheskikh sistem. Har'kov, pp 275–276. (In Russian).
3. Dlusskij G. M. (1965) *Methods for the quantification of soil ants* [Metody kolichestvennogo ucheta pochvoobitajushhih murav'ev]. Zool. zhurn., №44, 5, pp 716–727. (In Russian).
4. Mykytyn T. V. (2014) *Antropogenic influence on myrmecofauna on the technological transformed environs OJSC «Naftokhimik Carpathians»* [Antropogennyj vplyv na mirmekofaunu tehnogeno-transformovanyh okolyc' VAT «Naftohimik Prykarpattja»]. Visnyk Cherkas'kogo univer-

- sytetu. Serija «Biologichni nauky», №36, pp 67–74. (In Ukrainian) [http://nbuv.gov.ua/UJRN/VchuB\\_2014\\_36\\_12](http://nbuv.gov.ua/UJRN/VchuB_2014_36_12)
5. Permitin D. V. Il'jashenko V. B. (1996) *Mathematical methods for processing zoological data* [Matematicheskie metody obrabotki zoologicheskikh dannyh]. Kuzbassvuzizdat: Kemerovo, 41 p. (In Russian).
6. Pisarski B. (1993) *Invertebrate fauna of the Warsaw Urban Areas* [Fauna bespozvonochnyh urbanizirovannyh rajonov Varshavy]. Bioindikacija v gorodah i prigorodnyh zonah. M., pp 43–48. (In Russian).
7. Selykhovkyn A.V. (2013) *Dendrophage insect responses to industrial air pollution* [Otvetnie reaktsyy nasekomikh-dendrofahov na promishlennoe zahriaznenye vozdukha]. *Mezhdystsplynarnii nauchnii y prykladnoi zhurnal «Byosfera»*. T. 5, № 1. pp. 47–70. (In Russian).
8. Uspenskij K. V. (1999) *The system of the oak forest pathological monitoring of Voronezh green zone* [Sistema lesopatologicheskogo monitoringa dubrav zelenoj zony Voronezha]: avtoref. diss. kand. biol. nauk. M., 24 p. (In Russian).
9. Fedorova V. G. (1998) *The impact of industrial emissions of the Novgorod Chemical Plant (JSC Akront) on the fauna and number of insects* [Vlijanie promyshlennyh vybrosov Novgorodskogo himkombinata (AO «Akront») na faunu i chislennost' nasekomyh]. Sbornik nauchnyh trudov 9 sezda RJeO «Problemy jentomologii v Rossii». Zool. intRAN: Sankt-Peterburg; pp 182–183. (In Russian).
10. Tsaryk I. Ji. (2012) *Formicidae as an indicator of changes in biotic and abiotic components of ecosystems* [Formicidae iak indykator zmin biotychnykh i abiotychnykh komponentiv ekosystem]. *Visnyk L'vivs'kogo universytetu. Seriya biologichna*. 59. pp. 3–11. (In Ukrainian).
11. Blüthgen N. (2009) *Food and Shelter: How Resources Influence Ant Ecology*. *Ant Ecology*, pp. 116–136. (In English).

# **ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН**





**О. М. Клімова**<sup>1,2</sup>, д.б.н., професор

**А. І. Божков**<sup>2</sup>, д.б.н., професор

**С. В. Сушков**<sup>1</sup>, д.мед.н., професор

**О. В. Лавінська**<sup>1,2</sup>, к.б.н., старший науковий співробітник

**К. О. Биченко**<sup>1,2</sup>, молодший науковий співробітник, аспірант

**А. М. Агаркова**<sup>1</sup>, молодший науковий співробітник

**В. І. Ворфоломєєва**<sup>1</sup>, лаборант

**Н. І. Кургузова**<sup>2</sup>, викладач

<sup>1</sup>ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМНУ», діагностична лабораторія з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом, м. Харків, в'їзд Балакіреве, 1, Україна, 61103, e-mail: elena.lavinskaya@ukr.net, 050 166 71 41

<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, кафедра молекулярної біології та біотехнології, пл. Свободи, 4, м. Харків, 61000, Україна

## ІМУНОФІЗІОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ МІАСТОГЕННИХ СІРОВАТОК З РІЗНИМ СТУПЕНЕМ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ

Після імунізації тварин міастогенними сироватками різного ступеня цитотоксичності виявили сенсibiliзацію деяких показників вродженого імунітету – активності кисеньнезалежного і кисеньзалежного фагоцитозу, концентрації С3 і С4 компонентів комплементу.

**Ключові слова:** імунізація; міастогенна сироватка; цитотоксичність; фагоцитоз; комплемент.

У відповідь на введення антигенів в організмі відбувається його сенсibiliзація та імунна перебудова, що виявляється накопиченням або специфічним ослабленням і інгібуванням імунної відповіді. Антигени здатні взаємодіяти з лімфоцитами і антитілами, а при потраплянні в організм запускають процеси імуногенезу або викликають стан імунологічної толерантності [2, 8]. Вплив різних цитотоксичних чинників, що містяться в сироватці крові, призводить до зміни ключових подій у розвитку імуногенності – процесингу та презентації антигену, які здійснюються фагоцитуючими антигенпрезентуючими клітинами (нейтрофілами, дендритними клітинами, макрофагами і В-клітинами). Презентація антигену генерує антигенні пептиди, пов'язані з молекулами МНС (major histocompatibility complex) для передачі адаптивним імунним клітинам. В процесингу та презентації антигену головна роль притаманна фагоцитуючим клітинам та опсонізуючим чинникам системи комплементу [11, 16].

Механізми імуногенності можуть бути опосередковані різними чинниками, такими, як відмінності у молекулярній структурі або амінокислотній послідовності антигенів; агрегація білків (за рахунок наявності епітопів або змін у структурній конформації окремої молекули агрегованого білка); деградація білків (окиснення, дезамінування, глікозилювання); дія ад'ювантів [8, 17]. Присутність антигенних епітопів у агрегатах може безпосередньо стимулювати В-клітини і посилювати їх поглинання антигенпрезентуючими клітинами за рахунок порушення імунної толерантності [9, 10].

Процеси антигенного сприйняття у відповідь на чужорідні інфекційні та ендогенні антигени забезпечуються низкою рецепторів, таких як Fc-рецептори імуноглобулінів, рецептори білків комплементу, TLR, які є центральним елементом багаторівневої системи розпізнавання патоген-асоційованих молекулярних структур (PAMP), білки сімейства лектинів С-типу (манозов'язуючий білок), суперродини імуноглобулінів і рецепторів білків теплового шоку [3, 7].

При розвитку запальної реакції збільшується ймовірність розвитку і посилення сенсibilізації. Здатність антигенів різної специфічності викликати імунну відповідь визначається ступенем імуногенності антигенів, яка залежить від трьох груп факторів: молекулярних особливостей антигену, кінетики антигену в організмі і реактивності макроорганізму [2]. Для дослідження імуногенності антигенних комплексів тваринні моделі становлять інтерес з огляду на практично однозначні прояви імунної відповіді. При імунізації в сироватці крові з'являється широкий спектр антитіл з різною афінністю – утворюються поліклональні антитіла, так як антиген стимулює велику кількість клонів В-клітин. Спосіб введення і доза антигенів впливає на розвиток сенсibilізації, тож рівень і афінність антитіл можна підвищити, варіюючи дозу антигенів, і забезпечуючи більшу кількість контактів з антигенами шляхом багаторазової імунізації [16]. Так, підшкірний шлях викликає імуногенну відповідь частіше, ніж інші шляхи. Локалізація, тривала присутність, підвищена концентрація і близькість до антигенпрезентуючих клітин при доставці антигену підшкірним шляхом можуть сприяти посиленому захоплюванню, обробці і презентації антигенів, що приводить до імуногенності [13]. Оцінка наявності та характеру запалення за впливу факторів імуногенної природи залишається важливою проблемою [18]. Запальний процес характеризується активацією імунних клітин, зміною проникності судин і синтезом прозапальних медіаторів, в тому числі цитокінів, хемокінів, ліпідних посередників, стероїдів, факторів росту і синтезом білків системи комплементу [4]. Активация локального імунітету у процесах кисень-незалежного і кисеньзалежного фагоцитозу і запалення сприяє сенсibilізації організму до речовин білкової природи [8, 12].

У хворих на міастенію, що представляє собою важкий нервово-м'язовий розлад, стресові тригерні фактори призводять до порушень на всіх рівнях регуляції, що сприяє утворенню міастогенних факторів, гетерогенна природа яких залишається невідомою. Викликає інтерес оцінка характеру впливу міастоген-

них факторів сироватки крові хворих з тимуснезалежною та тимусзалежною міастенією на ланки імунної системи. Для отримання інформації про ступінь імуногенності різних антигенів (в тому числі міастогенних сироваток) і про можливі наслідки механізмів сенсibilізації, необхідним є проведення досліджень з їх *in vivo* метаболізації.

**Мета роботи** – оцінити імунофізіологічні ефекти після імунізації тварин міастогенними сироватками з різним ступенем цитотоксичності, отриманих від хворих з тимуснезалежною та тимусзалежною міастенією.

### Матеріали та методи досліджень

Експерименти проводили на 3-місячних щурах-самцях лінії Вістар масою 190–220 г. Тварини містилися в умовах стандартного світлового та харчового режиму (вода та їжа *ad libitum*). Дослідження проводили відповідно до положення Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.).

Для імунізації були відібрані сироватки пацієнтів з тимуснезалежною (М – міастенія, що протікає без морфо-функціональних змін тимусу) і тимусзалежною міастенією (МГ – міастенія на тлі гіперплазії тимусу; МТ – міастенія на тлі тимоми). Ступінь цитотоксичності відібраних сироваток встановлювали попередньо шляхом їх аналізу з використанням біоіндикатору *Dunaliella viridis* Teod. за коефіцієнтом цитотоксичності Кц [1]. Було прийнято Кц = 5,0 – низький ступінь цитотоксичності (М), Кц = 7,0 – середній ступінь цитотоксичності (МГ), Кц = 9,0 – високий ступінь цитотоксичності (МТ).

Індукцію сенсibilізації проводили шляхом 4-х-кратної (з інтервалом 72 години, об'ємом 0,1 мл) підшкірної імунізації в область очеревини тварин сироватками від хворих з різними клінічними фенотипами міастенії різного ступеня цитотоксичності. Були виділені 4 групи тварин (n = 5 в кожній групі): група I (контрольна) – тварини, яким вводили фізіологічний розчин об'ємом 0,1 мл; група II (М) – тварини, сенсibilізовані сироваткою з низьким ступенем цитотоксичності; група III (МГ) – тварини, сенсibilізовані сироваткою із середнім ступенем цитотоксичності; група IV (МТ) – тварини, сенсibilізовані сироваткою з високим ступенем цитотоксичності. Під час експерименту оцінювали фізіологічні показники тварин: температуру, рухову активність, зміну ваги, апетит, зміну функцій шлунково-кишкового тракту. Через 20 діб після першої імунізації тварин виводили з експерименту шляхом декапітації.

В роботі вивчали активність кисеньнезалежного (показники адгезії і ендотоксину нейтрофілів) [14] і кисеньзалежного фагоцитозу (тест відновлення нітросинього тетразоліну у нерозчинний діформазан під впливом супероксид-аніону, що утворюється в НАДФ-Н-оксидазній реакції) [15] за допомогою світлової мікроскопії (Olympus BX53). Визначення концентрації C3 і C4 компонентів комплементу проводили за імунотурбідиметричним методом (Dialab, Австрія) на біохімічному аналізаторі Stat-Fax 1904 за довжини хвилі 340 нм [5].

Отримані результати аналізували за допомогою t-критерію Стьюдента. Використовували програму Statistica 6.0. Дані представляли у вигляді середнього і стандартної похибки середнього арифметичного ( $M \pm m$ ).

### Результати дослідження та їх обговорення

Антигенний вплив може чинити на організм як специфічну, так і неспецифічну дію. Перше пов'язане з якістю антигену, його здатністю викликати розвиток певних змін в організмі, і впливати на імунну систему за допомогою відповідних рецепторів для нього. Неспецифічна дія проявляється у впливі антигену як стресового чинника [4]. Опосередковано про активацію сенсibiliзації судили за зміною температури тварин. У перший час після введення різних антигенів виявляються однотипні зміни в організмі, які часто проявляються в зміні температури. У тварин контрольної групи температура становила в середньому  $35,6 \pm 0,09$  °C. Після індукції сенсibiliзації сироватками з різним ступенем цитотоксичності у тварин було відзначено зміну температури – як реакцію на введення імуногенної сироватки (друга, п'ята, восьма та одинадцята доба експерименту на рис. 1). Після першої імунізації тварин відзначали підвищення температури на:  $\Delta = 1,2$  °C в групі II (М), на  $\Delta = 1,6$  °C в групах III

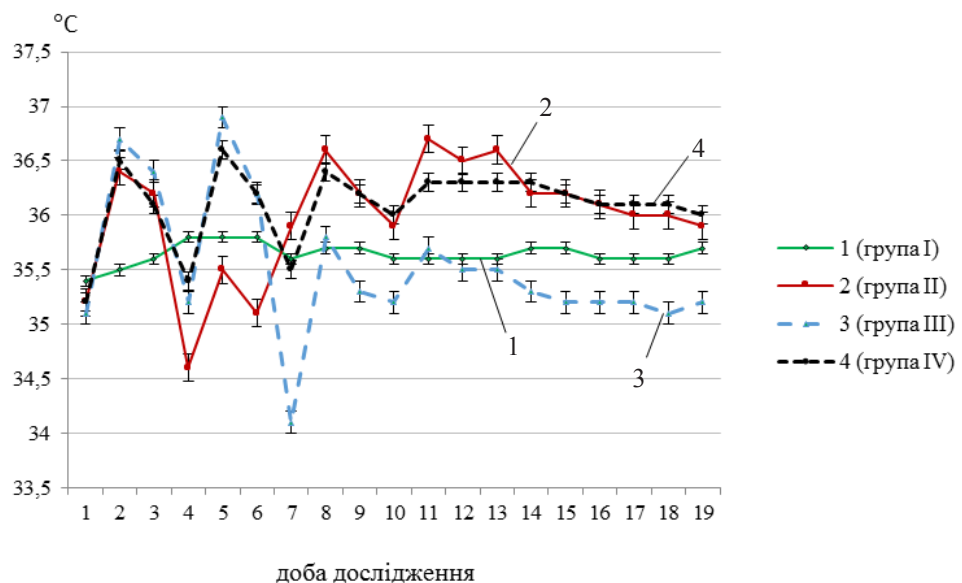


Рис. 1. Динаміка температури тіла у тварин в різні строки експерименту

Примітка: тварин імунізували на першу, четверту, сьому, десяту добу експерименту; група I – контроль; група II – тварини, імунізовані сироваткою з низькою цитотоксичністю (М); група III – тварини, імунізовані сироваткою з середньою цитотоксичністю (МГ); група IV – тварини, імунізовані сироваткою з високою цитотоксичністю (МТ); \* – достовірність відмінності у порівнянні з дослідженням у першу добу експерименту,  $p \leq 0,05$

(МГ) і IV (МТ). Після 4-ої імунізації зміна температури становила:  $\Delta = 0,8^{\circ}\text{C}$  в групі М,  $\Delta = 0,5^{\circ}\text{C}$  в групі МГ і  $\Delta = 0,3^{\circ}\text{C}$  в групі МТ. Температура тварин після антигенного навантаження становила в середньому:  $35,8^{\circ}\text{C}$  – група МГ і  $36,0^{\circ}\text{C}$  – група МТ.

Також у тварин після введення імуногенної сироватки спостерігали зниження апетиту, пригнічення функцій шлунково-кишкового тракту (діарея, запор, зміна консистенції калових мас), уповільнення приросту маси тіла. Мінімальний приріст маси тіла відзначали в групі тварин, імунізованих сироваткою з середнім ступенем цитотоксичності – група МГ,  $\Delta = 15$  г (табл. 1).

Таблиця 1

**Зміна маси тіла тварин в різні строки експерименту ( $n = 5$ )**

Група	Доба / маса, г							$\Delta$ , г
	1	4	7	10	13	16	19	
I	$198,0 \pm 13,5$	$213,0 \pm 9,5$	$229,7 \pm 20,0$	$229,0 \pm 10,5$	$236,3 \pm 10,0$	$242,0 \pm 15,7$	$251 \pm 14,5$	53
II	$193,0 \pm 12,4$	$217,5 \pm 17,8$	$232,0 \pm 21,8$	$234,5 \pm 15,6$	$247,6 \pm 27,8$	$254,5 \pm 16,4$	$258,0 \pm 13,8$	65
III	$187,0 \pm 7,9$	$184,0 \pm 20,8$	$192,5 \pm 14,6$	$196,6 \pm 14,1$	$201,0 \pm 12,8$	$203,0 \pm 12,1$	$202,0 \pm 12,2$	15
IV	$186,0 \pm 6,0$	$189,0 \pm 4,9$	$195,0 \pm 8,9$	$202,0 \pm 15,5$	$208,5 \pm 13,5$	$207,0 \pm 11,8$	$218,0 \pm 10,5$	32

Примітка: група I – контроль; група II – тварини, імунізовані сироваткою з низькою цитотоксичністю (М); група III – тварини, імунізовані сироваткою з середньою цитотоксичністю (МГ); група IV – тварини, імунізовані сироваткою з високою цитотоксичністю (МТ); \* – достовірність відмінності з контролем  $p \leq 0,05$

Після проведення багаторазової імунізації тварин оцінювали вплив імуногенної міастогенної сироватки на чинники вродженого імунітету. Кисеньнезалежна фагоцитарна активність нейтрофілів відрізнялася зміною адгезивних властивостей. При дослідженні кількості клітин, що вступили в фагоцитоз (фагоцитарний індекс), не виявили достовірних відмінностей між контролем (група I) і тваринами, сенсibilізованими сироваткою з низькою цитотоксичністю (група II). Адгезивні властивості нейтрофілів були значно знижені у тварин, імунізованих сироваткою з середнім (група III) і високим (група IV) ступенем цитотоксичності. У групах тварин, сенсibilізованих сироваткою з високою та середньою цитотоксичністю спостерігали зниження фагоцитарного індексу в 1,5 і в 1,7 разів відповідно (табл. 2).

Фагоцитарне число, яке свідчить про середню кількість поглинених антигенів, у II групі тварин, сенсibilізованих сироваткою з низьким ступенем цитотоксичності перевищувало даний показник у групах III і IV на 27 % та 34 % відповідно. У тварин, сенсibilізованих сироватками із середнім (група III) і високим (група IV) ступенем цитотоксичності також виявили зниження індек-

су завершеності фагоцитозу в середньому на 20 % в порівнянні з контрольною групою, що свідчить про недостатність перетравлюючої функції нейтрофілів (табл. 2).

Таблиця 2

**Показники кисеньнезалежного та кисеньзалежного фагоцитозу у інтактних та імунізованих тварин ( $n = 5$ )**

Показники		Група I	Група II	Група III	Група IV
Кисеньнезалежний фагоцитоз	ФІ, %	81,0±5,4	80,0±8,48	46,0±4,24*	53,0±7,07*
	ФЧ, у. од.	3,73±0,14	3,44±0,9	2,69±0,35*	2,57±1,06*
	ІЗФ, у. од.	1,45±0,18	1,71±0,13	1,19±0,05*	1,17±0,03*
Кисеньзалежний фагоцитоз	СП, %	24,0±1,3	58,0±2,4*	36,0±1,6*	43,0±2,5*
	СТ, %	74,0±6,9	65,0±3,9*	71,0±4,8	87,0±5,4*
	ІС, у. од.	3,08±0,3	1,12±0,21*	1,97±0,01*	2,02±0,03*

Примітка: ФІ – фагоцитарний індекс; ФЧ – фагоцитарне число; ІЗФ – індекс завершеності фагоцитозу; СП – кількість клітин, що поглинув барвник в спонтанній реакції; СТ – кількість клітин, що поглинув барвник в стимульованій зімозаном реакції; ІС – індекс стимуляції ( $IC = ST/SP$ ); \* – достовірність відмінності з контролем (група I)  $p \leq 0,05$

Оцінку активності кисеньзалежного фагоцитозу проводили за окисно-відновною здатністю нейтрофілів в тесті відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) [15]. Нейтрофіли поглинали і окиснювали гранули барвника НСТ з різною інтенсивністю, залежно від відновлювальної здатності ферментів, під впливом супероксид аніону ( $O_2^-$ ), що утворюється в НАДФ-Н-оксидазній реакції. Кількість клітин, які спонтанно поглинули барвник (СП) підвищувалась в 2,5 рази після сенсibilізації тварин сироваткою з низькою цитотоксичністю (група II) щодо контролю (група I). Після дії сироватки з середньою цитотоксичністю (група III), кількість клітин, які спонтанно поглинули барвник, була вище (в 1,5 рази), ніж в контролі, але нижче, ніж в групі II в 1,6 рази (табл. 2).

Після стимуляції зімозаном, відзначали зростання кількості клітин (СТ) (до  $87,0 \pm 5,4\%$ ), що поглинули барвник після сенсibilізації сироваткою з високою цитотоксичністю (група IV). Підвищення спонтанної окисної активності свідчило про виснаження окисного резерву нейтрофілів (табл. 2).

У всіх групах сенсibilізованих тварин індекс стимуляції, який відображає активність НАДФ-Н-оксидази нейтрофілів був нижче, ніж у контролі. Мінімальний рівень був у групі II (в 3 рази нижче контролю). У групах III і IV цей показник становив  $1,9 \pm 0,01$  і  $2,0 \pm 0,03$  відповідно, що свідчить про активацію ферментних систем фагоцитів (табл. 2).

Важливою сполучною ланкою між формуванням вроджених імунних реакцій і адаптивним імунітетом є білки системи комплементу, які проявляють опсонізуючу дію, а також реакції адаптивного гуморального імунітету, які формуються за рахунок утворення специфічних антитіл [7]. Поріг реактивності експериментальних тварин може визначати відповідні зміни вроджених і адаптивних гуморальних факторів імунорезистентності у відповідь на різні антигени. У сироватці крові контрольних тварин концентрація С3 компонента комплементу становила в середньому  $0,61 \pm 0,07$  г/л, а концентрація С4 компонента комплементу була на рівні  $9,1 \pm 2,4$  мг/дл (рис. 2 а, б).

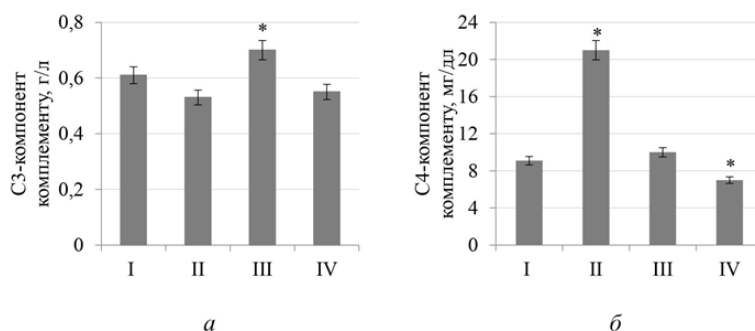


Рис. 2. Концентрація С3 (а) і С4 (б) компонентів комплементу у контрольних і сенсibilізованих тварин

Примітка: n = 5, група I – контроль; група II – тварини, імунізовані сироваткою з низькою цитотоксичністю (М); група III – тварини, імунізовані сироваткою з середньою цитотоксичністю (МГ); група IV – тварини, імунізовані сироваткою з високою цитотоксичністю (МТ); \* – достовірність відмінності з контролем  $p \leq 0,05$

В групах тварин, сенсibilізованих сироваткою з низькою (група II) і високою (група IV) цитотоксичністю, концентрація С3 компонента комплементу в середньому на 15 % була нижчою, ніж в контролі. У групі тварин, сенсibilізованих сироваткою з середньою (група III) цитотоксичністю концентрація С3 компонента комплементу навпаки, була на 15 % вище, ніж в контролі (рис. 2а). Можна припустити, що в групі III компенсаторне зниження фагоцитарного ін-

дексу супроводжувалося компенсаторним підвищенням концентрації С3 компонента комплементу і зниженням температури (табл. 1, рис. 2а). Концентрація С4 компонента комплементу достовірно відрізнялася від контролю у тварин, сенсibilізованих сироваткою з низьким ступенем цитотоксичності (група II), і була в 2,3 рази вище, що супроводжувалося підвищенням температури тварин даної групи до кінця експерименту (рис. 1, 2б).

Таким чином, введення комплексу антигенів в організм призводило до імунологічно опосередкованого підвищення його чутливості – стану сенсibilізації, який відображав ступінь реактивності організму і ступінь імуногенності введеного матеріалу. Відомо, що реактивність організму залежить від генетичних і епігенетичних факторів, які впливають на загальне функціонування систем організму [2]. А ініціювання імуногенної відповіді залежить від багатьох чинників та сигналів, які підвищують ефективність обробки та презентації антигену [7]. Виявлене зниження поглинальної здатності нейтрофілів (табл. 2), мабуть, може бути пов'язане з недостатністю опсонізуючих чинників, таких як IgG і IgM, фрагменти компонентів комплементу С3b, С4b, С5b, білки гострої фази та ін. Також виявлено збільшення концентрації С3-конвертази (в групі тварин, імунізованих сироваткою із середнім ступенем цитотоксичності) (рис. 2а) і С4 компонента комплементу (в групі тварин, імунізованих сироваткою з низьким рівнем цитотоксичності) (рис. 2б), що може бути одним з проявів запального процесу, який характеризується втратою захисно-протекторної функції і перетворенням її в окремий патогенний чинник [3, 13].

### Висновки

1. Після імунізації тварин сироватками крові хворих з міастенією виявили зниження перетравлюючої функції нейтрофілів (індекс завершеності фагоцитозу) на 20% у кисеньнезалежному фагоцитозі в групах тварин, імунізованих сироватками із середнім (МГ) і високим (МТ) рівнем цитотоксичності.
2. У всіх групах тварин після дії імуногенних сироваток виявили дворазове збільшення в порівнянні з контролем активності ферментів нейтрофілів у спонтанному тесті в кисеньзалежному фагоцитозі.
3. Виявили виражене компенсаторне збільшення гуморального чинника вродженого імунітету – С3 компоненту комплементу в групі тварин, імунізованих сироваткою із середнім ступенем цитотоксичності (МГ), а дія сироватки з низькою цитотоксичністю (М) призводила до збільшення концентрації С4 компоненту комплементу, що вказувало на сенсibilізацію цього чинника на тлі підвищення температури тіла.

Стаття надійшла до редакції 28.02.2020

### Список використаної літератури

1. Климова Е. М. Оценка степени цитотоксичности компонентов патологических сывороток с использованием клеточной тест-системы / Е. М. Климова, Е. В. Лавинская, А. И. Божков, Т. И. Кордон // Биотехнология. – 2010. – Т. 3, № 6. – С. 85–92.
2. Коваленко Т. И. Иммунорезистентность экспериментальных животных разного возраста на модели генерализованного воспалительного процесса / Т. И. Коваленко, В. В. Минухин, Е. М. Климова // Світ медицини та біології. – 2015. – № 3 (52). – С. 106–109.
3. Мальцев Д. В. Дефіцит манозозв'язувального білка / Д. В. Мальцев. // Український терапевтичний журнал. – 2015. – № 1. – С. 80–90.
4. Chen L. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs / L. Chen, H. Deng, H. Cui, J. Fang, Z. Zuo, J. Deng, Y. Li, X. Wang, L. Zhao // Oncotarget. – 2018. – Vol. 9, (No 6). – P. 7204-7218. doi: 10.18632/oncotarget.23208.
5. Chernecky C. C. Laboratory tests and diagnostic procedures / C. C. Chernecky, B. J. Berger. – 5th ed. – Saunders Elsevier. – 2008. – 1232 pp.
6. Etinger R. A. HLA-DR-restricted T-cell responses to factor VIII epitopes in a mild haemophilia A family with missense substitution A2201P / R. A. Etinger, E. A. James, W. W. Kwok, A. R. Thompson, K. P. Pratt // Haemophilia. – 2010. – 16. – P. 44–55. DOI:10.1111/j.1365-2516.2008.01905.x
7. Foley J. H. Interplay between fibrinolysis and complement: plasmin cleavage of C3b modulates immune responses / J. H. Foley, E. A. Peterson, V. Lei, L. W. Wan, M. J. Krisinger, E. M. Conway // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2015. – Vol. 13(4). – P. 610–618. doi: 10.1111/jth.12837
8. Gonzalez-Jaramillo V. Epigenetics and Inflammatory Markers: A Systematic Review of the Current Evidence / V. Gonzalez-Jaramillo, E. Portilla-Fernandez, M. Glisic, T. Voortman, M. Ghanbari, W. Bramer, R. Chowdhury, T. Nijsten, A. Dehghan, O. H. Franco, J. Nano // International Journal of Inflammation. – 2019. – Vol. 2019. – P. 1–14. doi: <https://doi.org/10.1155/2019/6273680>.
9. Jones J. C. Virus aggregating peptide enhances the cell-mediated response to influenza virus vaccine / J. C. Jones, E. W. Settles, C. R. Brandt, S. Schultz-Cherry // Vaccine. – 2011. – Vol. 29. – P. 7696–7703. doi:10.1016/j.vaccine.2011.07.133
10. Klimova E. M. Young and old animals use different strategies for forming an immune response to infectious agents (*Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*) / E. M. Klimova, A. M. Bozhkov, T. I. Kovalenko, V. V. Minukhin, I. V. Belozero // Advances in Gerontology. – 2018. – Vol. 8, No4. – P. 284–291.
11. Mahanty S. Immunogenicity of infectious pathogens and vaccine antigens / S. Mahanty, A. Prigent, O. Garraud // BMC Immunology. – 2015. – Vol. 16, 31 – P. 1–6. doi: 10.1186/s12865-015-0095-y.
12. Marsland A. L. The effects of acute psychological stress on circulating and stimulated inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis / A. L. Marsland, C. Walsh, K. Lockwood, N. A. John-Henderson // Brain, behavior, and immunity. – 2017. – Vol. 64. – P. 208–219. doi: 10.1016/j.bbi.2017.01.011.
13. Mohanan D. Administration routes affect the quality of immune responses: a cross-sectional evaluation of particulate antigen-delivery systems / D. Mohanan, B. Slutter, M. Henriksen-Lacey, W. Jiskoot, J. A. Bouwstra, Y. Perrie, T. M. Kündig, B. Gander, P. Johansen // Journal control release. – 2010. – Vol. 147. – P. 342–349. doi: 10.1016/j.jconrel.2010.08.012.
14. Muniz-Junqueira M. I. Novel microtechnique for assessment of postnatal maturation of the phagocytic function of neutrophils and monocytes / M. I. Muniz-Junqueira, L. M. Peçanha, V. L. Silva-Filho, M. C. A. Cardoso, C. E. Tosta // Clinical and diagnostic laboratory immunology. – 2003. – Vol. 10. – P. 1096–1102. doi:10.1128/cdli.10.6.1096-1102.2003.
15. Park B. H. Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils: A diagnostic acid / B. H. Park, S. M. Fikrig, E. M. Smithwick // Lancet. – 1968. – Vol. 2. – P. 532–534. doi:10.1016/s0140-6736(68)92406-9.
16. Sethu S. Immunogenicity to biologics: mechanisms, prediction and reduction / S. Sethu, K. Govindappa, M. Alhaidari, M. Pirmohamed, K. Park, J. Sathish // Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (Warsz). – 2012. – Vol. 60 (5). – P. 331–344. doi:10.1007/s00005-012-0189-7.

17. Van Beers M. M. On the role of aggregates in the immunogenicity of recombinant human interferon beta in patients with multiple sclerosis / M. M. van Beers, W. Jiskoot, H. Schellekens // *Journal of Interferon & Cytokine Research*. – 2010. – Vol. 30. – P. 767–775. doi:10.1089/jir.2010.0086
18. Webb D. R. Animal models of human disease: inflammation / D. R. Webb // *Biochemical pharmacology*. – 2014. – Vol. 87, 1. – P. 121–130. doi.org/10.1016/j.bcp.2013.06.014.

**E. M. Klimova<sup>1,2</sup>, A. I. Bozhkov<sup>2</sup>, S. V. Sushkov<sup>1</sup>, E. V. Lavinska<sup>1,2</sup>,  
E. A. Bychenko<sup>1,2</sup>, A. N. Agarkova<sup>1</sup>, V. I. Vorfolomeeva<sup>1</sup>, N. I. Kurguzova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>V. T. Zaitcev Institute of General and Urgent Surgery of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Diagnostic Laboratory with Immunoenzyme and Immunofluorescence Analysis,

Balakirev vyizd, 1, Kharkiv, 61103, Ukraine, elena.lavinskaya@ukr.net

<sup>2</sup>V. N. Karazin Kharkiv National University, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Svobody Sq., 4, Kharkiv, 61000, Ukraine.

## **IMMUNOPHYSIOLOGICAL EFFECTS IN EXPERIMENTAL ANIMALS AFTER ADMINISTRATION OF MYASTHENOGENIC SERUMS WITH VARYING DEGREES OF CYTOTOXICITY**

### **Abstract**

**Introduction.** The action of foreign antigens on the body leads to its sensitization, reflecting the degree of reactivity of the organism and the degree of immunogenicity of the introduced material. The animal immunization model can be used to elucidate the nature of various antigenic agents, including myasthenogenic factors. It is of interest to assess the nature of the impact of immunogenic myasthenogenic factors on the immune system (phagocytosis, opsonizing complement factors).

**Aim.** To estimate the immunophysiological effects after animals' immunization with myasthenogenic blood serum with varying cytotoxicity degrees obtained from patients with thymus-independent and thymus-dependent myasthenia.

**Methods.** The animals were immunized 4 times with myasthenogenic serums with different levels of cytotoxicity: M – myasthenia gravis without morphological and functional thymus changes (low cytotoxicity), MH – myasthenia gravis with thymus hyperplasia (medium cytotoxicity), MT – myasthenia gravis with thymoma (high cytotoxicity). The activity of oxygen-independent and oxygen-dependent phagocytosis was determined using light microscopy; the concentration of C3 and C4 complement components was measured by immunoturbidimetric method.

**Results.** As a result of immunization, a change in temperature was detected in animals as a reaction to the administration of immunogenic myasthenogenic serum. In animals immunized with serums with medium and high cytotoxicity, a decrease in the adhesive properties (phagocytic index) of phagocytic neutrophils by 1.7 and 1.5 times, respectively, and a 20 % decrease in the digesting function of neutrophils (index of phagocytosis completion) compared with the control was revealed. In all immunized animals, the stimulation index reflecting the activity of NADPH-N-oxidase neutrophils was reduced. After the action of myasthenogenic serum with low and high

levels of cytotoxicity, the concentration of the C3 component of the complement was 15 % lower than the control. The administration of the highly cytotoxic serum led to an increase in the concentration of the C3 complement component against a decrease in temperature. A twofold increase in the concentration of the C4 complement component in animals sensitized with the serum with a low degree of cytotoxicity was accompanied by an increase in temperature.

**Conclusion.** Myasthenogenic serums of varying cytotoxicity degrees sensitized innate immunity factors – phagocytosis and complement proteins, which led to a violation in the processes of opsonization, absorption, processing and presentation of the antigen, and was accompanied by a change in physiological parameters.

**Keywords:** immunization; myasthenogenic serum; cytotoxicity; phagocytosis; complement.

## References

1. Klimova E. M., Lavinskaya E. V., Bozhkov A. I., Kordon T. I. (2010) «*Estimation of the cytotoxicity degree of components of pathological serums with use of the cellular test-system*» [«Otsenka stepeny tsytotoksichnosti komponentov patolohicheskikh syvorotok s yspolzovanyem kletochnoi test-sistemy»], *Biotechnology*, 3, 6, pp 85-92.
2. Kovalenko T. I., Minukhin V. V., Klimova E. M. (2015) «*Immunological resistance of experimental animals of different ages on the model of generalized inflammatory process*» [Immunorezistentnost' jeksperimental'nyh zhivotnyh raznogo vozrasta na modeli generalizovannogo vospalitel'nogo processa], *Medicine and Biology*, No. 3 (52), pp. 106-109.
3. Maltsev D. V. (2015) «*Deficiency of mannose-binding protein*» [«Defitsyt manozozv'iazuvalnogo bilka»], *Ukrainian Therapeutic J*, 1, pp. 80-90.
4. Chen L., Deng H., Cui H., Fang J., Zuo Z., Deng J., Li Y., Wang X., Zhao L. (2018) «*Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs*», *Oncotarget*, 9, 6, pp. 7204-7218. doi: 10.18632/oncotarget.23208.
5. Chernicky C. C., Berger B. J. (2008) «*Laboratory tests and diagnostic procedures*», 5th ed., Saunders Elsevier, 1232 p.
6. Etinger R. A., James E. A., Kwok W. W., Thompson A. R., Pratt K. P. (2010) «*HLA-DR-restricted T-cell responses to factor VIII epitopes in a mild haemophilia A family with missense substitution A2201P*», *Haemophilia*, 16, pp 44-55. doi:10.1111/j.1365-2516.2008.01905.x
7. Foley J. H., Peterson E. A., Lei V., Wan L. W., Krisinger M. J., Conway E. M. (2015) «*Interplay between fibrinolysis and complement: plasmin cleavage of C3b modulates immune responses*», *J Thromb Haemost*, 13(4), pp 610-618. doi: 10.1111/jth.12837
8. Gonzalez-Jaramillo V. V., Portilla-Fernandez E., Glisic M., Voortman T., Ghanbari M., Bramer W., Chowdhury R., Nijsten T., Dehghan A., Franco O. H., Nano J. (2019) «*Epigenetics and Inflammatory Markers: A Systematic Review of the Current Evidence*», *Int J Inflam*, 6273680, pp 1-14. doi: <https://doi.org/10.1155/2019/6273680>.
9. Jones J. C., Settles E. W., Brandt C. R., Schultz-Cherry S. (2011) «*Virus aggregating peptide enhances the cell-mediated response to influenza virus vaccine*», *Vaccine*, 29, pp 7696–7703. doi:10.1016/j.vaccine.2011.07.133.
10. Klimova E.M., Bozhkov A.M., Kovalenko T.I., Minukhin V.V., Belozero I.V. (2018) «*Young and old animals use different strategies for forming an immune response to infectious agents (Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli)*», *Advances in Gerontology*, 8, 4, pp. 284–291. doi: <https://doi.org/10.1134/S2079057018040082>
11. Mahanty S., Prigent A., Garraud O. (2015) «*Immunogenicity of infectious pathogens and vaccine antigens*», *BMC Immunology*, 16, 31, pp 1-6. doi: 10.1186/s12865-015-0095-y.

12. Marsland A. L., Walsh C., Lockwood K., John-Henderson N. A. (2017) «The effects of acute psychological stress on circulating and stimulated inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis», *Brain Behav Immun*, 64, pp 208-219. doi: 10.1016/j.bbi.2017.01.011.
13. Mohanan D., Slutter B., Henriksen-Lacey M., Jiskoot W., Bouwstra J. A., Perrie Y., Kündig T. M., Gander B., Johansen P. (2010) «Administration routes affect the quality of immune responses: a cross-sectional evaluation of particulate antigen-delivery systems», *J control release*, 147, pp 342-349. doi: 10.1016/j.jconrel.2010.08.012.
14. Muniz-Junqueira M. I., Peçanha L. M., Silva-Filho V. L., Cardoso M. C. A., Tosta C. E. (2003) «Novel microtechnique for assessment of postnatal maturation of the phagocytic function of neutrophils and monocytes», *Clin Diagn Lab Immunol*, 10, pp 1096-1102. DOI:10.1128/cdli.10.6.1096-1102.2003.
15. Park B. H., Fikrig S. M., Smithwick E. M. (1968) «Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils: A diagnostic acid», *Lancet*, 2, pp 532-534. DOI:10.1016/s0140-6736(68)92406-9.
16. Sethu S., Govindappa K., Alhaidari M., Pirmohamed M., Park K., Sathish J. (2012) «Immunogenicity to biologics: mechanisms, prediction and reduction», *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 60 (5), pp 331-344. doi:10.1007/s00005-012-0189-7.
17. Van Beers M. M., Jiskoot W., Schellekens H. (2010) «On the role of aggregates in the immunogenicity of recombinant human interferon beta in patients with multiple sclerosis», *J Interferon Cytokine Res*, 30, pp 767-775. doi:10.1089/jir.2010.0086.
18. Webb D. R. (2014) «Animal models of human disease: inflammation», *Biochemical pharmacology*, 87, 1, pp 121-130. doi.org/10.1016/j.bcp.2013.06.014.

УДК 599.323: 612.062: 631.811.4:616.71-007.234

doi 10.18524/2077-1746.2020.1(46).205837

**О. А. Макаренко**, д.б.н., завідувач кафедри

**Г. В. Майкова**, к.б.н., доцент

**Н. А. Кириленко**, к.б.н., доцент

**Л. В. Еберле**, к.б.н., біолог

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фізіології людини і тварин,

вул. Дворянська 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: makolga29@gmail.com

## **ОБМІН РІЗНИХ ФОРМ КАЛЬЦІЮ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ З ПРЕДНІЗОЛОНОВИМ ОСТЕОПОРОЗОМ**

Проведено аналіз складу раковин рапани необроблених та оброблених лимонною кислотою. Досліджено обмін кальцію в організмі щурів з преднізолоновим остеопорозом за профілактичного вживання різних форм кальцію. Визначено, що за умов вживання цитрату кальцію при преднізолоновому остеопорозі покращувався стан кісткової системи.

**Ключові слова:** остеопороз, цитрат кальцію, карбонат кальцію, рапана.

Глюкокортикоїди володіють високою біологічною активністю, що дозволяє використовувати їх при ревматичних та інфекційних захворюваннях, при бронхіальній астмі та інших важких клінічних ситуаціях. Будучи препаратами з високою терапевтичною активністю, які дозволяють швидко досягти позитивної динаміки стану пацієнта, вони викликають численні небажані реакції. При системній терапії глюкокортикоїдами у фармакологічних дозах небажані реакції можуть включати зміни з боку багатьох органів і систем. Ризик їх появи, як правило, підвищується зі збільшенням доз і тривалості застосування глюкокортикоїдів. Одним з істотних небажаних ефектів є вплив на кальцієвий метаболізм і кісткову тканину. Глюкокортикоїд-індукований остеопороз відноситься до найбільш частого варіанту вторинного остеопорозу [5, 8].

Глюкокортикоїди знижують абсорбцію кальцію в кишечнику і збільшують екскрецію нирками. Також вони викликають пригнічення синтезу статевих гормонів, які впливають на локальні регулятори, що збільшують резорбцію кісткової тканини [5].

Тому для зниження остеопенічного стану, а також для зменшення ризиків остеопоротичних переломів у пацієнтів, що знаходяться на тривалій глюкокортикоїдній терапії, необхідний додатковий прийом препаратів, що містять кальцій.

Перспективним, на наш погляд, є використання як джерела кальцію раковин промислових гідробіонтів, які складають близько 72% від маси молюска та від-

носяться до відходів виробництва охолодженого і мороженого м'яса молюсків, зокрема рапани (*Rapana Venosa* (Valenciennes, 1846)) – брюхоногого молюску, який мешкає в Чорному і Азовському морях.

Кальцій з природних джерел (раковин молюсків, яєчної шкаралупи кісток тварин та ін.) представлений в переважній більшості карбонатом. В такій формі він найчастіше використовується у вітамінно-мінеральних комплексах, так як є лідером за вмістом елементарного кальцію. Однак, засвоєння кальцію з цієї солі безпосередньо залежить від кислотності (рН) шлункового соку, яка іноді може бути зниженою. Тому для препаратів, що містять кальцій використовують також цитрат кальцію, який отримують у процесі реакції карбонату кальцію з лимонною кислотою [9].

**Метою** роботи було порівняльне дослідження ефективності засвоєння у організмі щурів кальцію з раковин рапани (карбонату) або раковин, оброблених лимонною кислотою (цитрату) на тлі тривалого прийому преднізолону.

#### **Матеріали та методи досліджень**

Дослідження проводили на кафедрі фізіології людини і тварин ОНУ імені І. І. Мечникова на 24 лабораторних білих безпородних щурах-самках, віком 7 місяців, масою 180–230 г. В ході дослідження було сформовано чотири групи тварин: перша група (n=6) – інтактні тварини; друга група (n=6) – тварини, яким формували преднізолоновий остеопороз; третя група (n=6) – тварини, які на тлі преднізолонового остеопорозу отримували цитрат кальцію у дозі 300 мг/кг, четверта група (n=6) – тварини, які на тлі преднізолонового остеопорозу отримували карбонат кальцію у дозі 300 мг/кг. Преднізолоновий остеопороз моделювали пероральним введенням преднізолону у дозі 5 мг/кг впродовж 2 місяців [6]. Дозу препаратів кальцію розраховували виходячи з добової норми кальцію для людини з урахуванням коефіцієнту міжвидового переносу доз для щурів [1] та урахуванням кількості кальцію та його засвоєння. Карбонат кальцію отримували механічним подрібненням раковин рапани, розмір часток становив <0,5 мм після просівання скрізь сито. Цитрат кальцію отримували додаванням розчину лимонної кислоти до порошку з раковин рапани у співвідношенні 2:1.

Через два місяці дослідження тварин розміщували в метаболічні камери для добового збору сечі, калу і залишків корму, в яких визначали вміст кальцію (середній за три доби на одну тварину) [2]. У раковинах рапани проводили визначення вмісту цинку, свинцю і кадмію методом непом'яної атомної абсорбційної фотометрії на AAS ZEnit 650P фірми Analytik Jena [4], кальцію – методом титрування з мурексидом, фосфору – спектрофотометрично на DR6000 фірми HACH LANGE [3].

Щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом. У тварин визначали мінеральну щільність, вміст кальцію та активність лужної та кислої фосфатаз стегнової кістки за загально прийнятими методиками (на спектро-

фотометрі UV-mini-1240 фірми Shimadzu) [3, 7]. Показники представлені у вигляді середнього значення та похибки, вірогідність визначали U-критерієм Манна-Уїтні.

#### Результати досліджень та їх обговорення

Першим етапом дослідної роботи було дослідження складу обробленого лимонною кислотою та необробленого порошку з раковин Чорноморської рапани, яку збирали на скельній гряді в літній період 2018 року в Одеській затоці у районі Малого Фонтану в 50 м від берега на глибині 5–7 м.

Як видно з наведених в табл. 1 даних, вміст усіх досліджених компонентів у кілька разів перевищує у карбонатній, ніж у цитратній формі: кальцію – у 3,5 рази, фосфору – у 13,6 разів, цинку – у 2,1 рази, свинцю – у 3 рази та кадмію – більш ніж у 80 разів.

Таблиця 1

**Склад деяких важливих елементів і важких металів у оброблених лимонною кислотою та необроблених раковинах рапани**

Показники	Кальцій, г/кг	Фосфор, мг/кг	Цинк, мг/кг	Свинець, мг/кг	Кадмій, мг/кг
Необроблені раковини рапани (карбонат кальцію)	387	92,5	3,11	0,66	0,083
Оброблені лимонною кислотою раковини рапани (цитрат кальцію)	111	6,8	1,46	0,22	< 0,01

Отже, оброблені лимонною кислотою раковини рапан (цитратна форма) програють необробленій формі (карбонатна форма) за вмістом всіх макроелементів, але зниження важких металів – кадмію та свинцю до допустимих значень (для свинця – 0,5 мг/кг, для кадмію – 0,05 мг/кг), робить цитрат більш безпечним для вживання.

Наступним етапом дослідження було визначення кількості кальцію, що отримано щурами з їжею або з додатковим введенням в складі препаратів (табл. 2). За добу щури інтактної групи отримували стандартний раціон, в складі якого знаходилось 5,20 мг кальцію на кожні 100 г ваги щура. Друга група щурів, яким моделювали преднізолоновий остеопороз, з їжею споживала 5,92 мг кальцію на 100 г ваги ( $p \leq 0,05$ ), що пов'язано з більшою кількістю спожитого тваринами корму. В організм щурів третьої групи, що на тлі остеопорозу вживали цитрат кальцію, надходило на 31,4 % ( $p \leq 0,05$ ), а щурів четвертої групи, що вживали карбонат – на 184,5 % ( $p \leq 0,05$ ) кальцію більше, ніж у щурів на тлі введення преднізолону (табл. 2).

В ході дослідження було показано підвищення ниркової екскреції кальцію під тривалим впливом преднізолону. Так, у тварин другої групи з сечею виводилось на 55,1 % ( $p \leq 0,05$ ) кальцію більше, ніж у тварин інтактної групи. Ниркова екскреція кальцію у щурів, що додатково отримували кальцій у вигляді

ді цитрату на тлі преднізолону, вірогідно зменшилась (19,8 %), але одночасно зберіглася високою по відношенню до показника у інтактній групі. Введення карбонату кальцію щурам з преднізолоновим остеопорозом сприяло більш вираженому гальмуванню екскреції кальцію з сечею – рівень цього показника знизився на 23,1 % ( $p \leq 0,05$ ) і не досягнув значень норми, які зареєстровані у інтактних тварин (табл. 2).

Таблиця 2

**Обмін кальцію в організмі щурів з преднізолоновим остеопорозом**

Показники	Інтактна група (n=6)	Преднізолоновий остеопороз (n=6)	Преднізолоновий остеопороз + цитрат кальцію (n=6)	Преднізолоновий остеопороз + карбонат кальцію (n=6)
Кількість введеного кальцію, мг	5,20±0,18	5,92±0,21*	7,78±0,1**	16,84±0,41**
Кількість виведеного кальцію з сечею, мг	0,78±0,04	1,21±0,09*	0,97±0,03**	0,93±0,06#
Кількість виведеного кальцію з калом, мг	0,43±0,02	2,21±0,12*	2,12±0,09*	2,27±0,1*
Загальна кількість виведеного кальцію, мг	1,22±0,08	3,47±0,11*	3,09±0,12**	3,21±0,2**
Кальцій, що затримався в організмі, мг	3,98±0,1	2,45±0,12*	4,69±0,16**	13,63±0,36**

Примітка: \* – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи,  $p \leq 0,05$ ; # – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками щурів з преднізолоновим остеопорозом,  $p \leq 0,05$

За тривалого введення преднізолону встановлені більш значні втрати кальцію з калом щурів, у тварин другої групи цей показник збільшився в середньому в 5 разів ( $p \leq 0,05$ ). Профілактичне введення кальцію в вигляді цитрату або карбонату, у третьої та четвертої групах відповідно, суттєво не впливало на підвищене виведення кальцію (табл. 2).

На тлі введення преднізолону, завдяки посиленій екскреції кальцію з сечею та калом, спостерігалось зменшення кількості засвоєного організмом кальцію у цих щурів на 38,4 % ( $p \leq 0,05$ ). Навпаки, після додаткового вживання цитрату кальцію та карбонату кальцію щурами третьої або четвертої груп цей показник зріс і був більшим на 17,8 % ( $p \leq 0,05$ ) та на 242,5 % ( $p \leq 0,05$ ) щодо такого у інтактних тварин (табл. 2).

Але кальцій, що залишився в організмі, не завжди використовується в обміні.

Основна маса кальцію знаходиться в кістковій тканині, яка відіграє роль депо для циркулюючих з кровотоком іонів кальцію. Тому наступним етапом роботи було дослідження стану кісткової системи тварин.

Як видно з представлених даних, у щурів, які отримували преднізолон, спостерігається тенденція до зниження мінеральної щільності стегнової кістки та суттєве зниження вмісту іонізованого кальцію в стегновій кістці на 27,8 % ( $p \leq 0,05$ ) (табл. 3).

Таблиця 3

**Мінеральна щільність, вміст кальцію та активність лужної (ЛФ) та кислої фосфатази (КФ) в стегновій кістці щурів з преднізолоновим остеопорозом при вживанні різних форм кальцію**

Показники	Інтактна група (n=6)	Преднізолоновий остеопороз (n=6)	Преднізолоновий остеопороз + цитрат кальцію (n=6)	Преднізолоновий остеопороз + карбонат кальцію (n=6)
Мінеральна щільність, мг/мм <sup>3</sup>	1,502±0,021	1,445±0,026	1,609±0,015*#	1,548±0,022#
Вміст кальцію в стегновій кістці, ммоль/г	1,912±0,051	1,381±0,092*	2,054±0,082#	1,620±0,035*
Активність ЛФ в стегновій кістці, мк кат/кг	24,52±1,13	8,80±1,32*	12,03±0,92*#	9,02±1,32*#
Активність КФ в стегновій кістці, мк кат/кг	2,17±0,24	3,92±0,24*	2,80±0,25#	3,01±0,12*#

Примітка: \* – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи,  $p \leq 0,05$ ; # – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками щурів з преднізолоновим остеопорозом,  $p \leq 0,05$

Додаткове введення джерел кальцію сприяло покращенню обох показників. Так, мінеральна щільність стегнової кістки тварин, які отримували на тлі преднізолону цитрату кальцію, збільшилась на 11,3 % по відношенню до показника другої групи ( $p \leq 0,05$ ) та на 7,1 % відносно інтактних щурів ( $p \leq 0,05$ ).

Швидше за все, збільшення щільності стегнової кістки щурів, які отримували препарати кальцію, здійснювалось завдяки включенню цього основного макроелемента до кісткової тканини. Вміст іонізованого кальцію в стегнової кістки щурів, які отримували цитрат кальцію, зріс на 48,7 % в порівнянні з показником у тварин другої групи ( $p \leq 0,05$ ) та відповідав нормальним значенням (табл. 3). У тварин, що вживали карбонат, вміст кальцію в стегновій кістці по відношенню до здорових тварин інтактної групи був на 15,3 % ( $p \leq 0,05$ ) нижчим, але по відношенню до щурів з остеопорозом вищим на 17,3 % ( $p \leq 0,05$ ) (табл. 3).

Втрата кістковою тканиною кальцію може бути наслідком зниження остеогенезу або підвищення кісткової резорбції. В дослідженні у тварин з модельованим остеопорозом зареєстровані зміни активності кісткових фосфатаз: активність лужної фосфатази (ЛФ) в стегновій кістці, яку можна вважати маркером остеогенезу, була знижена в 2,8 рази, а активність кислої фосфатази (КФ) – підвищена в 1,8 разів, що вказує на уповільнення процесів кісткової резорбції (табл. 3). Тобто тривале введення преднізолону викликало зменшення інтенсивності остеогенезу з одночасним підвищенням резорбції кісткової тканини.

Додаткове введення щурам цитрату кальцію на тлі преднізолону привело до збільшення активності кісткової ЛФ на 36,7 % ( $p \leq 0,05$ ), а значить й інтенсивності остеогенезу, незважаючи на те, що цей показник зберігався вдвічі нижчим, ніж рівень у інтактних тварин. Приблизно так само підвищувалась активність ЛФ в кістковій тканині щурів, які отримували кальцій у вигляді карбонату.

Профілактичне введення цитрату сприяло гальмуванню активності кісткової КФ на 28,6 % ( $p \leq 0,05$ ) та нормалізувало цей показник. При цьому, введення карбонату кальцію також змінювало активність КФ, але менш значно та зберігало його на високому рівні ( $p \leq 0,05$ ) порівняно зі значеннями у інтактних тварин.

Посилене виведення кальцію під впливом преднізолону може здійснюватися за рахунок активації процесів резорбції кісткової тканини за участю КФ і зниження інтенсивності остеогенезу за допомогою ЛФ, а значить і включення кальцію в склад гідроксиапатиту кісткової тканини. Підтвердженням цього є встановлення в дослідженні суттєвого зменшення іонізованого кальцію в кістковій тканині, а також мінеральної щільності стегнової кістки у щурів, які тривало отримували преднізолон.

Порівняльне дослідження профілактичного введення карбонату та цитрату кальцію з раковин рапан, виявило певні переваги впливу цитрату кальцію на організм щурів. Так, незважаючи на те, що при вживанні цитрату щури отримували у 3,5 рази кальцію менш, ніж з карбонатом, за допомогою першого було досягнуто більш ефективного зниження екскреції кальцію з сечею та пригнічення активності кісткової КФ на тлі значної активації остеогенезу та включення кальцію до складу гідроксиапатиту кісткової тканини, а також більш виражене підвищення мінеральної щільності стегнової кістки щурів, яким тривало вводили преднізолон.

За профілактичного вживання цитрату кальцію щурами кількість кальцію в їх організмі була менше в 2,9 рази, ніж за вживання карбонату, але цей кальцій мав більш позитивний вплив на стан кісткової системи щурів з остеопорозом, що, можливо, зумовлено більш високою біодоступністю цієї форми кальцію, а також – вираженою здатністю цитрату регулювати метаболізм, а саме гальмувати деструктивні процеси в кістковій тканині, які індуковані преднізолоном. Крім того, при однаковій дозі введення обох форм кальцію (300 мг / кг) у щу-

рів, які отримували карбонат, зберігався підвищений рівень кальцію, що може мати негативні наслідки для функціонування нирок, печінки та серцево-судинної системи. Важливим висновком дослідження є факт істотного зниження рівня важких металів в процесі обробки раковини рапани лимонною кислотою.

Проведене дослідження показує перспективність використання як джерела кальцію раковин моллюсків, а також розробки ефективних препаратів за допомогою обробки сировини лимонною кислотою для отримання цитратної форми кальцію, яка є більш біодоступною та ефективною при порушеннях метаболізму кісткової тканини і посиленої втрати кальцію організмом.

### Висновки

1. Оброблений лимонною кислотою порошок з раковин рапани Одеської затоки, на відміну від необробленого, вміщував у 3,5 рази менше кальцію, у 13,6 разів – фосфору, у 2,1 рази – цинку, у 3 рази – свинцю та більш ніж у 80 разів – кадмію.

2. Профілактичний прийом карбонату та цитрату кальцію, отриманих з раковин рапани, у щурів з преднізолоновим остеопорозом призводив до незначного зменшення кількості виведеного кальцію та до збільшення кальцію, що залишався в організмі відповідно на 242,5 % ( $p \leq 0,05$ ) та на 17,8 % ( $p \leq 0,05$ ) щодо такого у інтактних тварин.

3. Додавання цитрату та карбонату кальцію, отриманих з раковин рапани, до їжі щурів з преднізолоновим остеопорозом призводило до збільшення вмісту кальцію у стегновій кістці щурів відповідно на 33 % та 15%, а також до нормалізації показників мінеральної щільності стегнової кістки.

4. Профілактичний прийом цитрату кальцію, отриманого з раковин рапани, призводив до підвищення активності лужної фосфатази (маркера остеогенезу) та зниження активності кислої фосфатази (маркера кісткової резорбції) в більшому ступені, ніж карбонат кальцію відносно тварин з преднізолоновим остеопорозом.

Стаття надійшла до редакції 04.04.2020

### Список використаної літератури

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / Під ред. О. В. Стефанова. – Київ: Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Левицький А. П. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза. Метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга. – Киев: ГФЦ МЗ Украины, 2005. – 50 с.
3. Левицкий А. П. Методы экспериментальной стоматологии. Учебное пособие / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, С. А. Демьяненко. – Симферополь: ООО «Изд-во Тарпан», 2018. – 78 с.
4. Масленко С. Н. Аналітична хімія і методи аналізу / С. Н. Масленко, В. В. Величко, Н. М. Великонська, В. В. Перескока. – Дніпропетровськ: НМетАУ, 2011. – 162 с.

5. Поворознюк В. В. Менопауза и костно-мышечная система / В. В. Поворознюк, Н. В. Григорьева. – К.: Книга плюс, 2004. – 512 с.
6. Фролькис В. В. Экспериментальный остеопороз / В. В. Фролькис, В. В. Поворознюк, О. Е. Евтушенко, Н. В. Григорьева // Doctor. – 2003. – № 6. – С. 48–52.
7. Ходаков І. В. Спосіб визначення щільності кісток лабораторних тварин / І. В. Ходаков // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 2 (4). – С. 38–41.
8. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis / E. Canalis // Curr. Opin Rheumatol. – 2003. – Vol. 15. – P. 454–457.
9. Heller H. J. Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of two calcium supplements in postmenopausal women / H. J. Heller // Journal of Clinical Pharmacology. – 2000. – Vol. 40. – P. 1237–1244.

**O. A. Makarenko, H. V. Maikova, N. A. Kirilenko, L. V. Eberle**

Odesa Mechnykov National University, Department of Human and Animal Physiology

2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail makolga29@gmail.com

## **EXCHANGE OF VARIOUS CALCIUM FORMS IN ORGANISM OF RATS WITH PREDNISOLONE OSTEOPOROSIS**

### **Abstract**

**Relevance.** In order to reduce osteopenic condition, as well as risks of osteoporotic fractures in patients who are on long glucocorticoid therapy, additional intake of calcium-containing medications is required. Application of preparations of natural origin for prevention of osteoporosis and increase of treatment efficiency is relevant, with mollusc shells being likely to be considered as promising raw material for production of calcium-containing medications.

**The aim** of the work was to carry out comparative research of efficiency of metabolising in organisms of rats calcium obtained from Rapana shells (carbonate) or shells treated with citric acid (citrate) at the background of long-terms intake of prednisolone.

**Materials and methods.** The research was performed on white rats of outbred breeding, which for two months were modelled prednisolone (5 mg/kg) osteoporosis with addition to the diet of non-treated (calcium carbonate) and treated with citric acid (calcium citrate) crashed Rapana shells for prophylaxis. Rapana shells were analysed for content of zinc, lead and cadmium by method of flameless atomic absorption photometry, of calcium – by method of titration with murexide, of phosphorus – spectrophotometrically. The research also included determination of day amount of calcium obtained by a rat organism and excreted with urine and feces. In femur of rats bone mineral density, content of calcium and activity of phosphatases were determined.

**Results and conclusions.** Comparative study of preventive introduction of calcium carbonate and citrate from Rapana shells found certain advantages of impact of calcium citrate on rat organism. Thus, in spite of the fact that when given citrate, rats received 3.5 times less calcium than with carbonate, the former contributed to achievement of more efficient reduction of calcium excretion with urine and inhibition of

bone AP activity at the background of considerable activation of osteogenesis and inclusion of calcium into composition of bone tissue hydroxyapatite, as well as more expressed increase of mineral density of femur of rats which experienced long-term introduction of prednisolone.

In case of preventive intake of calcium citrate by rats the amount of calcium in their organism was 2.9 times lower than in case of carbonate intake, but that calcium had more positive effect on the condition of bone system of rats with osteoporosis, which might be explained by higher bioaccessibility of the said form of calcium, as well as expressed ability of citrate to regulate metabolism, namely to slow down prednisolone-induced destructive processes in bone tissue. Moreover, with equal introduced dose of both forms of calcium (300 mg/kg), rats which received carbonate preserved a higher level of calcium, which can have negative consequences for functioning of kidneys, liver and cardiovascular system. An important conclusion of the research is the fact of considerable reduction of the level of heavy metals in the process of treating Rapana shell with citric acid.

**Key words:** osteoporosis; calcium citrate; calcium carbonate; Rapana.

## References

1. Stefanov O. V. (2001) *Docs Methodical recommendations* [Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv. Metodychni rekomendatsii], Kyiv, Avitsena, 528 p.
2. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Denga O. V. (2005) *Experimental methods for the study of stimulants of osteogenesis. Method. recommendations* [Eksperimentalnyie metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza. Metod. Rekomendatsii], Kiev, GFTs MZ Ukrainyi, 50 p.
3. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Demyanenko S. A. (2018) *Methods of experimental dentistry. Textbook* [Metody eksperimentalnoy stomatologii. Uchebnoe posobie], Simferopol, OOO «Izd-vo Tarpan», 78 p.
4. Maslenko S. N., Velychko V. V., Velykonska N. M., Pereskoka V. V. (2011) *Analytical chemistry and methods of analysis* [Analitychna khimiia i metody analizu], Dnipropetrovsk, NMetAU, 162 p.
5. Povoroznyuk V. V., Grigoreva N. V. *Menopause and musculoskeletal system* [Menopauza i kostno-myishechnaya Sistema], Kiev, Kniga plyus, 512 p.
6. Frolkis V. V., Povoroznyuk V. V., Evtushenko O. E., Grigoreva N. V. (2003) "Experimental osteoporosis" ["Eksperimentalnyi osteoporoz"], *Doctor*, 6, pp.48-52.
7. Khodakov I. V. (2004) "The way of identification of laboratory creatures" ["Sposib vyznachennia shchilnosti kistok laboratornykh tvaryn"], *Dosiahnennia biolohii ta medytsyny*, 2 (4), pp 38–41.
8. Canalis E. (2003) Mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis, *Curr. Opin Rheumatol*, 15, pp 454-457.
9. Heller H. J. (2000) Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of two calcium supplements in postmenopausal women, *Journal of Clinical Pharmacology*, 40, pp 1237-1244.

УДК 612.359: 612.273 + 616.12-008.331.1 doi 10.18524/2077-1746.2020.1(46).205826

**Р. В. Янко**, к.б.н., старший науковий співробітник

**О. Г. Чака**, к.б.н., старший науковий співробітник

**І. Г. Літовка**, д.б.н., провідний науковий співробітник

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАНУ, відділ клінічної фізіології  
сполучної тканини, вул. Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна,

e-mail: biolag@ukr.net

### **ВПЛИВ ДОЗОВАНОЇ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА МОРФО- ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ГЕПАТОЦИТІВ НОРМОТЕНЗИВНИХ І ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ**

Проведено дослідження і порівняння морфо-функціонального стану гепатоцитів нормо- (лінія Wistar) і спонтанно-гіпертензивних (лінія SHR) щурів після впливу дозованої нормобаричної гіпоксії. Виявлено, що і морфологічні зміни гепатоцитів, і біохімічні показники активності мітохондрій клітин свідчать про підвищення фізіологічної регенерації і активності паренхіми печінки щурів, які дихали гіпоксичною газовою сумішшю. Дані зміни більшою мірою проявлялися у гіпертензивних щурів, ніж у тварин лінії Wistar.

**Ключові слова:** печінка; переривчаста гіпоксія; артеріальна гіпертензія.

В печінці відбувається забезпечення основних метаболічних процесів в організмі, а саме: обмін білків, жирів, вуглеводів, обмін гормонів та інших біологічно активних речовин, вітамінів і мікроелементів. Печінка є центральним органом детоксикації, що забезпечує фагоцитоз мікроорганізмів, знешкодження токсичних речовин ендogenous і екзогенного походження, а також їх виведення з організму [16]. У зв'язку з великим функціональним навантаженням, яке лягає на печінку, цей орган досить вразливий. За даними Європейської асоціації з вивчення печінки, близько 30 мільйонів європейців страждають в даний час від хронічних захворювань цього органу. У зв'язку з цим зростає актуальність розробки нових ефективних методів профілактики і лікування захворювань печінки. Одним з таких методів може бути використання дозованої нормобаричної гіпоксії (ДНГ).

В даний час переривчаста нормобарична гіпоксія все більш широко використовується в клінічній практиці для лікування і профілактики ряду захворювань серцево-судинної, дихальної, ендокринної, травної, імунної та інших систем організму [1, 14, 18, 19]. Літературні дані про вплив гіпоксичних газових сумішей на стан печінки неоднозначні. Це пов'язано з використанням в експериментах тварин різних видів і віку, відмінностями в режимах подачі гіпоксичних сумішей, впливу гіпоксії в умовах гіпо- або нормобарії, сезонністю і тривалістю проведення дослідів та ін. [1, 17]. Більшість досліджень, присвя-

чених впливу ДНГ на стан паренхіми печінки, проведено на нормотензивних тваринах [6, 9, 13]. Тоді, як роботи, в яких би досліджувався вплив ДНГ на стан печінки у тварин і людей з артеріальною гіпертензією поодинокі [21]. Можна вважати, що вплив ДНГ на людей, або тварин з підвищеним артеріальним тиском може мати як прямий, так і опосередкований вплив на стан паренхіми печінки. З іншого боку, тривала артеріальна гіпертензія також може привести до порушення морфо-функціонального стану печінки та змінити тим самим характер адаптивних перебудов, характерних для впливу гіпоксії. Це зумовлює необхідність проведення досліджень на тваринах з підвищеним артеріальним тиском.

**Мета роботи** – дослідити і порівняти морфо-функціональний стан гепатоцитів нормо- і гіпертензивних щурів після впливу ДНГ.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Дослідження проведено в осінній період на 24 нормотензивних (лінія Wistar) і 24 спонтанно-гіпертензивних (лінія SHR) щурах-самцях. Вік щурів на кінець експерименту становив 4 місяці, маса  $270 \pm 10$  г. Щури перебували в уніфікованих умовах на стандартному раціоні харчування. Артеріальний тиск у щурів визначали в умовах віварію неінвазивним методом на хвостовій артерії. Всі вимірювання проводили за допомогою сфігмоманометру (S-2 "SHE" Німеччина). В експеримент брали щурів лінії SHR з систолічним тиском не нижче 145 мм рт. ст.

Тварини були розділені на 4 групи: I і III – контрольні щури лінії Wistar і SHR відповідно, II і IV – дослідні щури лінії Wistar і SHR. Для проведення щоденних сеансів ДНГ щурів поміщали в герметичну камеру, в яку подавали гіпоксичну газову суміш (12 % кисню в азоті) в переривчастому режимі (15 хвилин деоксигенація / 15 хвилин реоксигенація протягом 2-х годин) за допомогою мембранного газорозподільного елемента. Решту часу доби (22 години) щури дихали атмосферним повітрям. Тривалість експерименту складала 28 діб. Щурів виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців, відповідно до вимог міжнародних принципів Європейської конвенції. Для морфологічних і морфометричних досліджень, методом сліпої рандомізації, відбирали зразки тканини печінки, з яких виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою: фіксували в рідині Буена, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, заливали в парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном Бемера і еозином, а для виявлення елементів сполучної тканини – методом Ван Гізона [3]. Використовуючи цифрову камеру мікропрепарати фотографували на мікроскопі «Nicon» (Японія). На цифрових зображеннях препаратів здійснювали морфометрію за допомогою комп'ютерної програми «Image J».

На гістологічних зрізах печінки вимірювали середній діаметр, площу поперечного перерізу гепатоцитів, їх ядер і цитоплазми; визначали ядерно-цитоплазматичне співвідношення; підраховували кількість одно- і двоядерних

клітин і кількість ядерців на 100 ядер гепатоцитів; вимірювали відстань між суміжними ядрами гепатоцитів. Підрахунок кількості гепатоцитів проводили в 10 полях зору мікроскопа, а вимірювання площі здійснювали для кожної клітини з підрахунком середнього значення відносно 100 клітин.

У суспензії мітохондрій гепатоцитів визначали активність ферменту сукцинатдегідрогенази методом Кривченкова і концентрацію білку методом Лоурі [2].

Отримані дані опрацьовували методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Statistica 6.0 for Windows і програми Microsoft Excel 2010. Достовірність відмінностей між контрольною і дослідною групами, після попередньої перевірки на нормальність розподілу, оцінювали за t-критерієм Стюдента. Відмінності вважали достовірними при значенні  $p < 0,05$ .

### Результати досліджень та їх обговорення

Після впливу ДНГ паренхіма печінки щурів, незалежно від лінії, зберігала фізіологічну структуру. Гепатоцити – середнього розміру, мали добре виражену клітинну мембрану. Ядра – округлої форми, з центральним розташуванням в клітині. Ядерна мембрана була збережена і мала чіткі контури. Структурні межі часточок нечітко виражені, що відповідає даному виду тварин. Міждолькова сполучна тканина слабо виражена. Ядерця – округлої форми, середнього розміру ( $\approx 1$  мкм) (рис.).

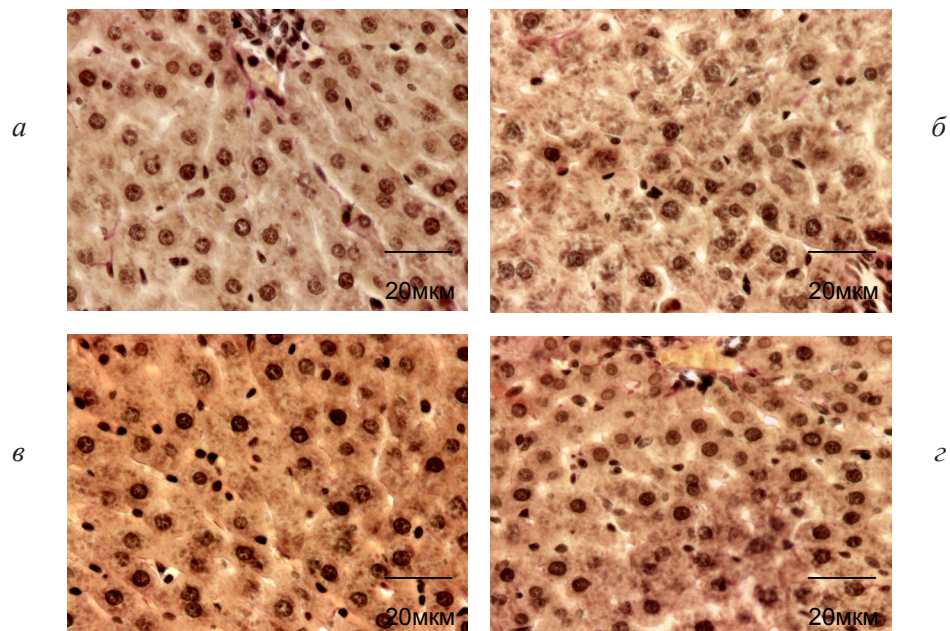


Рис. Мікрофотографія печінки контрольних (а – лінія Wistar, в – лінія SHR) і дослідних (б – лінія Wistar, г – лінія SHR) щурів. Забарвлення за методом Ван-Гізона. Збільшення 800

У структурі паренхіми печінки контрольних щурів різних ліній не виявили суттєвих відмінностей в отриманих морфометричних показниках. Виняток становила лише кількість двоядерних гепатоцитів, яка була достовірно меншою на 36 % у щурів лінії SHR, в порівнянні з тваринами лінії Wistar (табл. 1).

Таблиця 1

**Морфометричні показники гепатоцитів (n = 12, M ± m)**

Показники	Лінія Wistar		Лінія SHR	
	Контроль	Гіпоксична суміш	Контроль	Гіпоксична суміш
Діаметр гепатоцита, мкм	17,9 ± 0,2	17,2 ± 0,3	16,8 ± 0,3	16,0 ± 0,4
Площа гепатоцита, мкм <sup>2</sup>	290 ± 5	267 ± 7	270 ± 6	235 ± 6*
Площа ядра, мкм <sup>2</sup>	40 ± 1	40 ± 1	43 ± 1	42 ± 1
Площа цитоплазми, мкм <sup>2</sup>	250 ± 5	227 ± 8	227 ± 9	193 ± 5*
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення	0,160 ± 0,004	0,180 ± 0,005*	0,190 ± 0,006	0,220 ± 0,002*
Кількість ядерць в ядрі, шт	1,59 ± 0,04	1,81 ± 0,06*	1,75 ± 0,06	2,11 ± 0,11*
Ядерцево-ядерне співвідношення	0,040 ± 0,001	0,045 ± 0,002*	0,041 ± 0,001	0,050 ± 0,001*
Загальна кількість гепатоцитів, шт.	123,9 ± 2,6	122,5 ± 3,6	130,8 ± 2,2	145,2 ± 2,4*
Кількість одноподібних гепатоцитів, шт.	118,6 ± 1,8	117,8 ± 3,5	127,4 ± 3,8	139,1 ± 2,4
Кількість двоядерних гепатоцитів, шт.	5,3 ± 0,5	4,7 ± 0,4	3,4 ± 0,4	6,1 ± 0,4*
Співвідношення двоядерні / одноподібні гепатоцити	0,045 ± 0,001	0,040 ± 0,001	0,027 ± 0,001	0,044 ± 0,001*
Відстань між ядрами суміжних гепатоцитів, мкм	8,1 ± 0,2	7,7 ± 0,3	8,4 ± 0,3	7,1 ± 0,2*

Примітка: тут і в табл. 2 \* p < 0,05 – достовірність відмінностей у порівнянні з контролем

Виявлено, що структурні зміни в паренхімі печінки спонтанно-гіпертензивних щурів, які дихали гіпоксичною газовою сумішшю, проявлялися більше, ніж у тварин лінії Wistar. У щурів обох ліній, що зазнавали впливу ДНГ, відмічали зменшення розмірів гепатоцитів. У дослідних щурів лінії Wistar виявили тільки тенденцію до зниження площі поперечного перерізу гепатоцитів і їх ци-

топлазми на 8 і 9 % відповідно, в порівнянні з контролем. Тоді, як у щурів лінії SHR площа клітин і їх цитоплазми достовірно були меншими, від контрольних значень, на 13 % і 14 % відповідно. При цьому, площа ядра гепатоцитів, незалежно від лінії тварин, не змінювалася. Як наслідок цього спостерігалось достовірне збільшення ядерно-цитоплазматичного співвідношення на 13 % (лінія Wistar) і 16 % (лінія SHR) в порівнянні з контролем (табл. 1). Збільшення цього показника свідчить про зростання функціонального навантаження на ядра гепатоцитів, що може вказувати на підготовку клітини до мітозу і пов'язану з ним інтенсифікацію синтезу нуклеїнових кислот, білків та ін. [5].

Після впливу ДНГ в ядрах гепатоцитів дослідних щурів обох ліній кількість ядерців була достовірно більшою на 14 % (лінія Wistar) і 21 % (лінія SHR), ніж у контрольних. Це призвело до зростання ядерцево-ядерного співвідношення на 13 і 25 % ( $p < 0,05$ ) відповідно (табл. 1). Гіперплазія ядерців є однією з ознак активації фізіологічної регенерації гепатоцитів на внутрішньоклітинному рівні [8]. Оскільки до основних функцій ядерців відносять синтез рРНК, з якої утворюються субодиниці рибосом, вважають, що зростання кількості ядерців вказує на підвищення білоксинтетичної активності гепатоцитів [11].

У печінці дослідних тварин лінії Wistar кількість як одноядерних, так і двоядерних гепатоцитів не змінювалася. Тоді, як у тварин лінії SHR, що зазнавали впливу ДНГ, виявлено збільшення загальної кількості (на 11 %,  $p < 0,05$ ), кількості одноядерних (на 9 %) і двоядерних (на 79 %,  $p < 0,05$ ) гепатоцитів порівняно з контрольними значеннями (табл. 1). У дорослих тварин і людини двоядерні гепатоцити зустрічаються постійно, але їх відсоток по відношенню до загальної кількості клітин може варіювати. Більшість дослідників схильна вважати, що утворення двоядерних гепатоцитів з одноядерних в процесі регенерації є резервом поліплоїдизації, яка є еквівалентом клітинному розмноженню [7, 12].

Після впливу ДНГ у печінці щурів лінії SHR виявили достовірне зниження відстані між ядрами суміжних гепатоцитів на 15 % (табл. 1). Скоріш за все, це пов'язано зі зниженням розмірів гепатоцитів дослідних щурів. Але, зменшення цього показника також може свідчити про щільне розміщення клітин між собою і про зниження кількості міжклітинної сполучної тканини, що є характерною ознакою регенерації паренхіми печінки.

Активність сукцинатдегідрогенази в суспензії мітохондрій гепатоцитів дослідних щурів лінії Wistar і SHR зросла, відповідно, на 9 % і 45 % ( $p < 0,05$ ). Це може свідчити про підвищення енергетичного потенціалу мітохондрій клітин [4]. Концентрація білку в суспензії мітохондрій гепатоцитів збільшилася тільки у спонтанно-гіпертензивних щурів на 49 % ( $p < 0,05$ ), що вказує на підвищення білоксинтетичної активності мітохондрій клітин (табл. 2).

Таблиця 2

**Активність сукцинатдегідрогенази і концентрація білку в суспензії мітохондрій гепатоцитів (n = 12, M ± m)**

Показники	Лінія Wistar		Лінія SHR	
	Контроль	Гіпоксична суміш	Контроль	Гіпоксична суміш
Активність сукцинатдегідрогенази, нмоль / хв / мг	10,5 ± 0,5	11,4 ± 0,9	8,8 ± 0,8	12,8 ± 1,2*
Концентрація білку, мг / г	2,84 ± 0,18	2,78 ± 0,11	2,49 ± 0,07	3,72 ± 0,18*

Іншими дослідниками також виявлено позитивний вплив ДНГ на функціональну активність печінки. Показано, що після впливу гіпоксії (в режимі 5 хв деоксигенація / 5 хв реоксигенація протягом 2 годин, тривалістю 10 днів), з 10 % вмістом кисню в азоті, активізувалися пластичні процеси в печінці щурів: зросла кількість мітохондрій, пероксисом, мембран ендоплазматичного ретикулу, лізосомних і ліпофусцинових утворень. Виявлено також гіпертрофію ядер гепатоцитів, гіперплазію агранулярного ендоплазматичного ретикулу, повнокрів'я синусоїдів [6]. Michael S. M. і співавт. спостерігали посилення експресії гіпоксія-індуцибельних транскрипційних факторів HIF-1α і HIF-2α в печінці після впливу гіпоксичної газової суміші [15]. Показано, що за короткострокового періодичного впливу гіпоксії відбувається зростання системи захисту клітинних мембран гепатоцитів, що свідчить про підвищення активності антиоксидантної системи [10]. Після впливу дозованої гіпоксії виявлено: поліпшення кровонаповнення печінки, активацію мікросомального окислення в гепатоцитах, стабілізацію клітинних мембран, нормалізацію активності амінотрансфераз [13]. Показано, що індуковані гіпоксичною газовою сумішшю транскрипційні фактори (HIF) регулюють ліпідний обмін в гепатоцитах, знижуючи прогресування жирової хвороби печінки [20].

Таким чином, на підставі результатів наших досліджень можна припустити, що 28-добовий вплив ДНГ активує процеси фізіологічної регенерації і функціональної активності паренхіми печінки як нормотензивних, так і спонтанно-гіпертензивних щурів. Про це свідчить збільшення кількості двоядерних клітин і ядерців в ядрах гепатоцитів, зростання ядерно-цитоплазматичного і ядерцево-ядерного співвідношення, а також підвищення активності сукцинатдегідрогенази і концентрації білку в суспензії мітохондрій гепатоцитів. Ці дані можуть мати не тільки теоретичне значення, а й представляти певний практичний інтерес при використанні гіпоксичних газових сумішей в санаторно-курортних або оздоровчих установах для підвищення функції паренхіми печінки у хворих з наявністю артеріальної гіпертензії.

### Висновки

1. Після впливу дозованої нормобаричної гіпоксії зміни морфо-функціонального стану гепатоцитів більшою мірою проявлялися у гіпертензивних щурів (лінія SHR), ніж у нормотензивних тварин (лінія Wistar).

2. Морфологічні зміни гепатоцитів і зміни біохімічних показників активності їх мітохондрій у щурів, які дихали гіпоксичною газовою сумішшю, свідчать про підвищення фізіологічної регенерації і активності паренхіми печінки щурів.

Стаття надійшла до редакції 17.02.2020

### Список використаної літератури

1. Березовский В. А. Природная и инструментальная оротерапия / В. А. Березовский. – Донецк: Заславский А. Ю., 2012. – 306 с.
2. Егорова М. В. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы / М. В. Егорова, С. А. Афанасьев // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26, № 1. – С. 22–28.
3. Журавлева С. А. Гистология. Практикум / С. А. Журавлева. – Минск: Вышэйшая школа, 2013. – 320 с.
4. Иванская Н. Н. Активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы в печени крыс при острой циркуляторной гипоксии / Н. Н. Иванская, И. И. Антонеева // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 4. – С. 67–68.
5. Лебедева Е. И. Морфометрические показатели гепатоцитов белых крыс и человека при токсическом циррозе печени / Е. И. Лебедева // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. – 2015. №7-8. URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/2547>.
6. Лебкова Н. П. Адаптационные внутриклеточные механизмы регуляции энергетического гомеостаза при прерывистой нормобарической гипоксии / Н. П. Лебкова, А. Я. Чижов, Ю. И. Бобков // Рос. физиол. журн. им. Сеченова. – 1999. – Т. 85, № 3. – С. 403–411.
7. Романова Л. П. Роль двуядерных гепатоцитов в регенерации печени после механической травмы в раннем онтогенезе у крыс / Л. П. Романова, И. И. Малышев // Вестник Чувашского университета. – 2011. – № 3. – С. 398–402.
8. Саркисов Д. С. Электронная микроскопия деструктивных и регенераторных внутриклеточных процессов / Д. С. Саркисов. – Москва: Медицина, 1967. – 224 с.
9. Янко Р. В. Влияние прерывистой гипоксии на морфофункциональное состояние щитовидной железы и печени / Р. В. Янко, В. А. Березовский, М. И. Левашов // Росс. физиол. журн. им. М.И. Сеченова. – 2017. – Т. 103, № 5. – С. 553–561.
10. Arkhipenko Y. Periodic hypoxia and hyperoxia improves resistance of membrane structures in heart, liver and brain / Y. Arkhipenko, T. Sazontova, A. Zhukova // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2005. – Vol. 140, № 3. – P. 278–281.
11. Boisvert F. The multifunctional nucleolus. Nature Reviews / F. Boisvert, S. Konningsbruggen, J. Navascues [et al.] // Molecular Cell Biology. – 2007. – Vol. 8, № 7. – P. 574–85. doi:10.1038/nrm2184.
12. Duncan A. W. The ploidy conveyor of mature hepatocytes as a source of genetic variation / A. W. Duncan, M. H. Taylor, R. D. Hickey [et al.] // Nature. – 2010. – Vol. 467, № 7316. – P. 707–710. doi:10.1038/nature09414.
13. Kurhaluk N. The effects of intermittent hypoxia training on mitochondrial oxygen consumption in rats exposed to skeletal unloading / N. Kurhaluk, H. Tkachenko, V. Nosar // Annals of Clinical and Laboratory Science. – 2013. – Vol. 43, № 1. – P. 54–63.

14. Mekjavic I. B. Intermittent normobaric hypoxic exposures at rest: effects on performance in normoxia and hypoxia / I. B. Mekjavic, T. Debevec, M. Amon [et al.] // *Aviation, Space and Environmental Medicine*. – 2012. – Vol. 83, № 10. – P. 942–950.
15. Michael S. W. Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2a in distinct cell populations of different organs / S. W. Michael, S. J. Jan, R. Christian [et al.] // *Faseb J.* – 2003. – Vol. 17. – P. 271–273.
16. Rui L. Energy metabolism in the liver / L. Rui // *Comprehensive Physiology*. – 2014. – Vol. 4, № 1. – P. 177–197. doi: 10.1002/cphy.c130024.
17. Savransky V. Chronic intermittent hypoxia predisposes to liver injury / V. Savransky, A. Nanayakara, A. Vivero [et al.] // *Hepatology*. – 2007. – Vol. 45, № 4. – P. 1007–1013.
18. Schega L. Effect of intermittent normobaric hypoxia on aerobic capacity and cognitive function in older people / L. Schega, B. Peter, T. Brigadski [et al.] // *Find, Browse, and Follow Biomedical Journals*. – 2016. – Vol. 19, № 11. – P. 941–945. doi: 10.1016/j.jsams.2016.02.012.
19. Serebrovskaya T. V. Intermittent hypoxia training as non-pharmacologic therapy for cardiovascular diseases: Practical analysis on methods and equipment / T. V. Serebrovskaya, L. Xi // *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*. – 2016. – Vol. 241, № 15. – P. 1708–1723. doi: 10.1177/1535370216657614.
20. Suzuki T. Hypoxia and fatty liver / T. Suzuki, S. Shinjo, T. Arai [et al.] // *World J Gastroenterol*. – 2014. – Vol. 20, № 41. – P. 15087–15097 doi: 10.3748/wjg.v20.i41.15087.
21. Yanko R. Morphofunctional characteristic of hepatocytes after exposure to intermittent normobaric hypoxia in normotensive and hypertensive rats / R. Yanko, V. Berezovskii, E. Chaka [et al.] // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2017. – Vol. 8, № 2. – P. 265–270. doi:10.15421/021741.

**R. V. Yanko, O. G. Chaka, I. G. Litovka**

O. O. Bogomolets Institute of Physiology of National Academy of Science of Ukraine, Department of Physiology of Connective Tissue,  
4 Bogomolets Str, Kyiv, 01024, Ukraine, e-mail: biolag@ukr.net

## **EFFECT OF DOSED NORMOBARIC HYPOXIA ON MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES IN HEPATOCYTES OF NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RATS**

### **Abstract**

**Problem.** Study of the effect of dosed hypoxia on the hepatocytes activity and morphometric parameters of rats of different lines.

The **aim** of the work was to investigate and compare the morphological and functional changes in hepatocytes of normotensive and spontaneously hypertensive rats after exposure to dosed normobaric hypoxia.

**Materials and methods.** The study was conducted in the autumn on 48 male rats of the Wistar and SHR line. Experimental animals were given daily hypoxic gas mixture (12 % oxygen in nitrogen) in intermittent mode: 15 minutes deoxygenation / 15 minutes reoxygenation for 2 hours. The duration of the experiment was 28 days. Histological preparations were made from liver tissue using a standard technique. Morphometry was performed using the computer program "Image J". The activity of succinate dehydrogenase and protein concentration in a hepatocytes mitochondrial suspension was determined.

**Results.** It was revealed that morphological changes in the liver parenchyma and biochemical parameters of hepatocyte mitochondria activity in spontaneously hypertensive rats, breathing in a hypoxic gas mixture, were manifested to a greater extent than in animals of the Wistar line. Experimental animals showed an increase in the number of binuclear cells (SHR line) and nucleolus in the nucleus hepatocyte, an increase in nuclear-cytoplasmic and nucleolus-nuclear ratio, as well as an increase in succinate dehydrogenase activity and protein concentration (SHR line) in a suspension of hepatocyte mitochondria. These data may indicate an increase in the functional activity of hepatocytes and activation of physiological cell regeneration at the intracellular level.

**Conclusions.** The effects of dosed normobaric hypoxia have morphofunctional signs of increased physiological regeneration and activity of the liver parenchyma in spontaneously hypertensive rats to a greater extent than in animals of the Wistar line.

**Key words:** liver; intermittent hypoxia; arterial hypertension.

## References

1. Berezovsky V. A. (2012) *Natural and instrumental orotherapy* [Prirodnyaya i instrumentalnaya oroterapiya], Donetsk, "Zaslavsky A. Yu.", 306 p.
2. Egorova M. V., Afanasyev S. A. (2011) "Isolation of mitochondria from cells and tissues of animals and human: modern methodical approaches" ["Vydelenie mitohondrij iz kletok i tkanej zhivotnyh i cheloveka: sovremennyye metodicheskie priemy"]. *Sibirskij medicinskij zhurnal*, 26, 1, pp 22-28.
3. Zhuravleva S. A. (2013) *Histology. Workshop* [Gistologiya. Praktikum], Minsk, The High School, 320 p.
4. Ivanskaja N. N., Antoneeva I. I. (2004) "Succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activity in rat liver during acute circulatory hypoxia" ["Aktivnost sukcinatdegidrogenazy i citohromoksidazy v pecheni krysa pri ostroj cirkulyatornoj gipoksii"]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 4, pp 67-68.
5. Lebedeva E. I. (2015) "Morphometric parameters of hepatocytes of white rats and humans in toxic liver cirrhosis" ["Morfometricheskie pokazateli gepatocitov belyh krysa i cheloveka pri toksicheskom cirroze pecheni"]. *Universum: Medicina i farmakologiya: electron. scientific. journal*. 7-8: URL: <http://7universum.com/en/med/archive/item/2547>.
6. Lebkova N. P., Chizhov A. Y., Bobkov Yu. I. (1999) "Adaptive intracellular mechanisms of regulation of energy homeostasis with intermittent normobaric hypoxia" ["Adaptacionnyye vnutrikletochnye mehanizmy regulyatsii energeticheskogo gomeostaza pri preryvistoj normobaricheskoj gipoksii"]. *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal imeni Sechenova*. 85, 3, pp. 403-411.
7. Romanova L. P., Malyshev A. I. (2011) "The role of binuclear hepatocytes in liver regeneration after mechanical trauma in early ontogenesis in rats" ["Rol dvuyadernykh gepatocitov v regeneratsii pecheni posle mehanicheskoy travmy v rannem ontogeneze u krysa"]. *Vestnik Chuvashskogo universiteta*. 3, 398-402.
8. Sarkisov D. S. (1967) *Electron microscopy of destructive and regenerative intracellular processes* [Elektronnaya mikroskopiya destruktivnykh i regenerativnykh vnutrikletochnykh processov], Moscow, Medicine, 224 p.
9. Yanko R. V., Berezovsky V. A., Levashov M. I. (2017) "Influence of intermittent hypoxia on the morphofunctional state of the thyroid and liver" ["Vliyanie preryvistoj gipoksii na morfofunktsionalnoe sostoyanie shhitovidnoj zhelezy i pecheni"]. *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal imeni I. M. Sechenova*. 103, 5, pp 553-561.

10. Arkhipenko Y., Sazontova T., Zhukova A. (2005) "Periodic hypoxia and hyperoxia improves resistance of membrane structures in heart, liver and brain". *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 140, 3, pp 278-281.
11. Boisvert F., Konningsbruggen S., Navascues J., Lamond A. I. (2007). "The multifunctional nucleolus". *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. 8, 7, pp 574-585. doi:10.1038/nrm2184.
12. Duncan A. W., Taylor M. H., Hickey R. D., Hanlon Newell A. E., Lenzi M. L., Olson S. B., Finegold M. J., Grompe M. (2010) "The ploidy conveyor of mature hepatocytes as a source of genetic variation". *Nature*. 467, 7316, pp 707-710. doi:10.1038/nature09414.
13. Kurhaluk N., Tkachenko H., Nosar V. (2013) "The effects of intermittent hypoxia training on mitochondrial oxygen consumption in rats exposed to skeletal unloading". *Annals of Clinical and Laboratory Science*. 43, 1, pp 54-63.
14. Mekjavic I. B., Debevec T., Amon M., Keramidas M. E., Kounalakis S. N. (2012) "Intermittent normobaric hypoxic exposures at rest: effects on performance in normoxia and hypoxia". *Aviation, Space, and Environmental Medicine*. 83, 10, pp 942-950.
15. Michael S. W., Jan S. J., Christian R., Charlotte K. S., Jan H. H. (2003) "Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2a in distinct cell populations of different organs". *Faseb J*. 17, pp 271-73.
16. Rui L. (2014) "Energy metabolism in the liver". *Comprehensive Physiology*. 4, 1, pp 177-197. doi: 10.1002/cphy.c130024.
17. Savransky V., Nanayakkara A., Vivero A., Li J., Bevans S., Smith P. L., Torbenson M. S., Polotsky V. Y. (2007) "Chronic intermittent hypoxia predisposes to liver injury". *HEPATOLOGY*. 45, 4, pp 1007-1013.
18. Schega L., Peter B., Brigadski T., Leßmann V., Isermann B., Hamacher D., Törpel A. (2016) "Effect of intermittent normobaric hypoxia on aerobic capacity and cognitive function in older people". *Find, Browse, and Follow Biomedical Journals*. 19, 11, pp 941-945. doi: 10.1016/j.jsams.2016.02.012.
19. Serebrovskaya T. V., Xi L. (2016) "Intermittent hypoxia training as non-pharmacologic therapy for cardiovascular diseases: Practical analysis on methods and equipment". *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*. 241, 15, pp 1708-1723. doi: 10.1177/1535370216657614.
20. Suzuki T., Shinjo S., Arai T., Kanai M., Goda N. (2014) "Hypoxia and fatty liver". *World J Gastroenterol*. 20, 41, pp 15087-15097 doi: 10.3748/wjg.v20.i41.15087.
21. Yanko R., Berezovskii V., Chaka E., Levashov M., Plotnikova L., Litovka I. (2017) "Morpho-functional characteristic of hepatocytes after exposure to intermittent normobaric hypoxia in normotensive and hypertensive rats". *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 8, 2, pp 265-270. doi:10.15421/021741.



## **ІСТОРІЯ ФАКУЛЬТЕТУ ТА УНІВЕРСИТЕТУ**





**T. V. Vasylieva**<sup>1</sup>, Ph.D., assistant professor,  
**S. G. Kovalenko**, Ph.D., assistant professor,  
**O. Yu. Bondarenko**, Ph.D., assistant professor,  
**V. V. Nemertsalov**, Ph.D., assistant professor  
 Odesa Mechnykov National University, Department of Botany  
 2, Dvorianska str., Odesa 65082, Ukraine, e-mail: tvas@onu.edu.ua

### COLLECTIONS OF INVESTIGATORS OF XIX CENTURY HUNGARIAN FLORA IN E.E. LINDEMANN'S HERBARIUM (MSUD)

Life of outstanding Hungarian investigators of flora was described and geography their scientific collections was analysed. The main attention was paid to herbarium collections, gathered or identified by A. Tauscher, V. Borbas, V. Janka in XIX century, which are components of E. E. Lindemann's herbarium – a valuable historical herbarium of Odesa Mechnykov National University (MSUD) included into the list of objects, which represent national property of Ukraine. The species from MSUD collection, collected and identified by the named scientists, are presented.

**Key words:** herbarium, MSUD, collection, Hungarian investigators, A. Tauscher, V. Borbas, V. Janka

In the herbarium's collection of E. E. Lindemann, which is a part of MSUD herbarium, there are plants from different regions of the earth. Eduard Emanuelovich Lindemann (1825-1901), a well-known systematic botanist and florist, as a collector, not only collected and described herbarium samples but also actively exchanged with other herbariums, thus the list of collection authors contains more than 800 names (<http://news.onu.edu.ua/eng/treasures/single/11>) [1]. However, most herbarium sheets are from Europe. Many of them belong to investigators from the Austria-Hungarian Empire of XIX century: A. Tauscher, V. Borbas, and V. Janka, which have the most specimens [2, 3]. Our work was aimed at choosing in the herbarium of E. E. Lindemann and analyzing collections of the investigators, who studied Hungarian flora, describing their role in the investigation of the said flora, and emphasizing their main life events. Besides the indicated scientists, there are herbarium specimens of L. Vagner from Marmarosh (*Gentiana pyrenaica* L., *Sedum hispanicum* L., *Saxifraga pedemontana* All.), J.F. Freyn from Tatry and Hungary (*Dianthus glacialis* Haenke, *Cerastium alpinum* L., *Alsine glomerata* Fent.), Cardinal Dr. J. Haynseld from Transylvania (*Bruchenthalia spiculifolia* Reichb. and *Gallium capillipes* Reichb.), A. Schneller (*Allium ursinum* L., *Urtica radicans* Balla), L. Richter (*Lepidium perfoliatum* L.  $\beta$  *simplex mini*, *Serratula radiata* M.B.), Janos Kunstr (*Fritillaria Meleagris* L.), and P.P. Wierzbicki (*Bupleurum gerardia* Jacq, *Valeriana sudetia* W.),

in addition to the mentioned ones there are unidentified collectors: Vralolyi (*Alsine setacea* Mert.et Koch.  $\gamma$  *pubescens* Fenzl.) and Simkovich (*Micropus conizaensis* Dubois) from Hungaria.

### Materials and methods

As the materials for investigation served the herbarium collections of famous Hungarian investigators of flora A. Tauscher, V. Borbas, and V. Janka, which are a part of historical E.E. Lindemann's herbarium collection. The biographical materials of those scientists and considerable facts from their life were presented.

The herbarium sheets, gathered or identified by those scientists in the XIX century in different parts of Hungaria, Europe, and also Asia were analyzed. The names of plants, their taxonomy are presented in accordance with the terminology of those times. The names of settlements are quoted from the information on the labels. In the work classical generally known methods of herbarium collection analysis were used.

### Research result and discussion

The major part of the collection from Hungaria belongs to Gyula Ágoston (Julius August) Tauscher (08.01.1833-16.03.1882), who was a famous doctor and botanists [fig.1]. There is no information about his secondary education. In 1851 he became a student of medical faculty of Pest University. His study was interrupted by the war on Sardinia. In 1861, he became a medical doctor, who first worked in Tarnaori and from 1867 with Doctor Simon Georg Erch - in Ersch. In 1874 due to his active work, he became the principal doctor of the company. The significant scientific investigation allowed him to become a famous Hungarian scientist.



Fig.1 Gyula Ágoston (Julius August) Tauscher [5]

He published two books: "Flora of Czepel" and "Flora of Transsilvania" in contact with famous scientists E. Halashi, L. Reichenbach, A. Kerner von Marylaun.

As a specialist on studying Caryophyllaceae family he published the description of genus *Scleranthus* in Austrian Botanical Journal No 22 (1872) and No 24 (1874) - article "To flora of Hungaria." He was inspired by Salamon Peten to also investigate in the field of ornithology. In 1862, he became a member of the Hungarian Academy of Sciences [4, 7, 8].

In table 1, G. Tauscher collection from Czepel (1871-1872) is presented in systematical order of his time.

Table 1

## Systematical list of herbarium' collection of G. Tauscher

NN	Family	Quantity of		
		genera	species	forms
1	Aceraceae	1	1	
2	Amarylidaceae	1	1	
3	Boraginaceae	2	2	
4	Caesalpiniaceae	1	1	
5	Campanulaceae	1	2	
6	Caryophyllaceae	7	12	
7	Celastraceae	1	1	
8	Chenopodiaceae	5	5	1
9	Compositae	15	22	1
10	Crassulaceae	1	1	
11	Cruciferae	7	8	1
12	Gramineae	3	3	1
13	Juncaginaceae	1	1	
14	Labiatae	6	7	2
15	Leguminosae	4	9	
16	Liliaceae	1	4	2
17	Limoniaceae	1	1	
18	Lythraceae	1	1	
19	Malvaceae	1	1	
20	Melantiaceae	1	1	
21	Oleaceae	1	1	
22	Plantaginaceae	1	1	
23	Ranunculaceae	4	5	
24	Resedaceae	1	2	
25	Rosaceae	1	1	
26	Rubiaceae	1	1	
27	Salicaceae	1	1	
28	Santalaceae	1	1	
29	Saxifragaceae	1	1	
30	Scrophulariaceae	2	2	
31	Simaroubaceae	1	1	
32	Solanaceae	1	1	
33	Umbelliferae	3	4	
34	Urticaceae	1	1	
35	Violaceae	1	1	

In the herbarium, there are 112 herbarium sheets of 109 species and eight forms of plants from Magnoliophyta, which belong to 82 genera and 35 families. The most species there are in Compositae (Asteraceae) (15 g. 22 sp.), Caryophyllaceae (7 g. 12 sp.), Leguminosae (Fabaceae) (4 g. 9 sp.), Cruciferae (Brassicaceae) (7 g. 8 sp.), Labiatae (Lamiaceae) (6g. 7 sp.), Chenopodiaceae (5 g. 5 sp.), Ranunculaceae (4 g. 5 sp.), Umbelliferae (Apiaceae) (3 g. 4 sp.), Liliaceae (1 g. 4 sp.), Gramineae (Poaceae) (3 g. 3 sp.). Boraginaceae and Scrophulariaceae have two genera and two species, one genus and two species – Campanulaceae and Resedaceae. 21 families have one species.

The biggest genera are *Scleranthus* (5 sp.), *Allium* (4 sp.), *Astragalus*, *Cytisus*, *Inula*, *Senecio* (3 sp.). There are 10 genera with with two species. We must indicate that between species of *Scleranthus*, which are in this herbarium, three species were identified by L. Reichenbach, and one received his name in honor of Tauscher: *S. biennis* Reutrm., *S. dichotomus* Horng., *S. stipatus* Reichb., *S. tauscheri* Reichb., *S. tenellus* Reichb. (syn. *S. verticillatus* Tauscher, 1829)

Among the herbarium species the name of Tauscher was given to *Centaurea tauscheri* Kern. (which was gathered on 2.08.1872 by Tauscher in Pest) and *Aegilops tauschii* Coss. (syn. *A. squarrosa* L.), which was gathered in Caucasus by Medvedev. Among the species, defined by Tauscher, we indicated *Marrubium reichardtii* Tausch. [Fig. 2.], *Bromus brachystachys* Horng. (syn. *B. aegypticus* Tausch.), *Ribes multiflorum* Kit. (syn. *R. urceolatum* Tausch.).

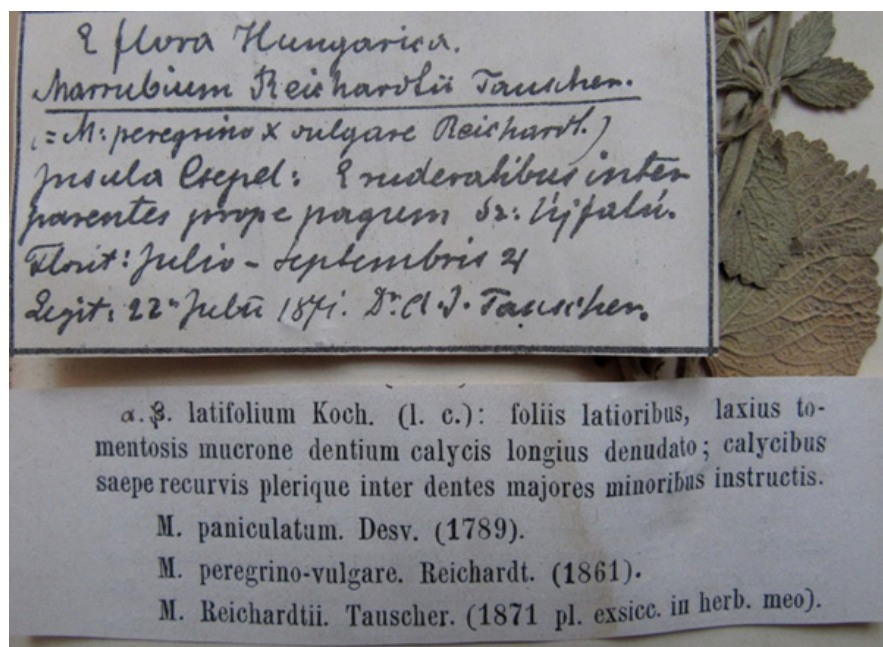


Fig. 2. Label of *Marrubium Reichardtii* Tauscher (1871), which was collected by A. Tauscher 22 July 1871 in Czepel

Vince Borbas von Deiter (29.07.1844-7.07.1905) – Hungarian doctor, botanist and philologist [fig. 3].

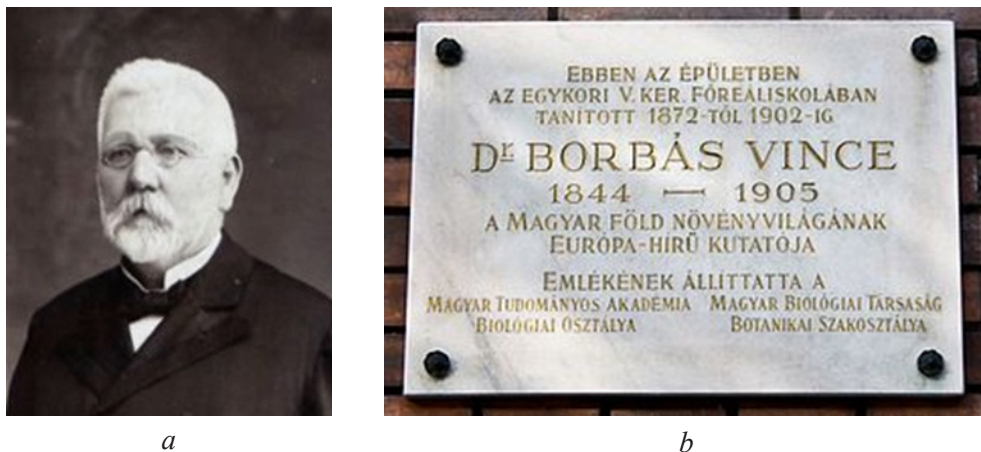


Fig. 3. a. Vince Borbas von Deiter. b. Memorial plaque on the school, where he was a teacher in 1872-1902 [9]

He was born and lived firstly in poverty, so everything that he achieved in his life he realized himself. In 1860, he graduated from a gymnasium and in 1868 became a student of Budapest University, where in 1871 he became an assistant of botany professor Layosh Urania. In 1874, he received the rank of a doctor of philosophy. In 1874 - 1875 he worked with famous systematics scientists Alexander Braun in Berlin and Anton Kerner in Innsbruck. In 1880 he became a doctor of technical sciences and in 1898 – an extraordinary professor. In the same time in 1872-1902 he worked as a teacher of a real school in Budapest [fig.3, b]. He regularly investigated the flora of different parts of Hungary. In 1902, he became a Cluj university professor and director of the botanical garden, where he worked to the end of his life. He named 101 plant species, for example, *Acer bedoi* Borbas, *Heliotropium gymnocarpum* Borbas etc.

In the herbarium on the 69 sheets, there are 1873-1888 collections mainly from Walachia. Their systematical list is presented in table 2.

In table 2 there are plants, which belong to 61 species and 3 forms from 44 genera, 22 families, three classes: Polypodiopsida, Liliopsida and Magnoliopsida and two sections: Polypodiophyta and Magnoliophyta. The greatest quantity of species are in Compositae (Asteraceae) (11 g. 13 sp.), Caryophyllaceae (4 g. 10 sp.), Leguminosae (Fabaceae) (7 g. 9 sp.), a також Campanulaceae (2 g. 4 sp.), Liliaceae, Labiatae (Lamiaceae) (3 g. 3 sp.), Cruciferae (Brassicaceae), Saxifragaceae, Valerianaceae (2 sp.). There are 13 families with one species. The genus *Scleranthus* is biggest on with 6 species, which were identified by Reichenbach or named in his honor: *Scleranthus galescens* Reichb., *S. juvenis* Rchb., *S. Neogradensis* Reichb.,

*S. Reichenbachii* Taush., *S. subbracteatus* Rscb., *S. valachius* Reichb. There is one genus with three species *Cytisus*: *Cytisus leucotrichus* Kit., *C. procumbens* Lpr., *C. supinus* L. and 6 genera with 2 species: *Achillea*, *Alsine*, *Artemisia*, *Cerastium*, *Saxifraga*, *Valerianella*.

In fig. 4 there is the label of *Picris pyrenaica* L., which was gathered on August 6, 1873 by Borbas in the shady forests (*Silvio umbrosio*) of flora Banatica.

Table 2

## Systematical list of plants from V. Borbas' herbarium

NN	Family	Quantity of		
		genera	species	forms
1	Aspidiaceae	1	1	
2	Aspleniaceae	1	1	
3	Campanulaceae	2	4	
4	Caryophyllaceae	4	10	
5	Compositae	11	13	2
6	Crassulaceae	1	1	
7	Cruciferae	2	2	
8	Euphorbiaceae	1	1	
9	Fagaceae	1	1	
10	Iridaceae	1	1	
11	Labiatae	3	3	
12	Leguminosae	7	9	1
13	Liliaceae	3	3	
14	Melantiaceae	1	1	
15	Ranunculaceae	1	1	
16	Rosaceae	1	1	
17	Rubiaceae	1	1	
18	Saxifragaceae	1	2	
19	Scrophulariaceae	1	1	
20	Umbelliferae	1	1	
21	Valerianaceae	1	2	
22	Violaceae	1	1	

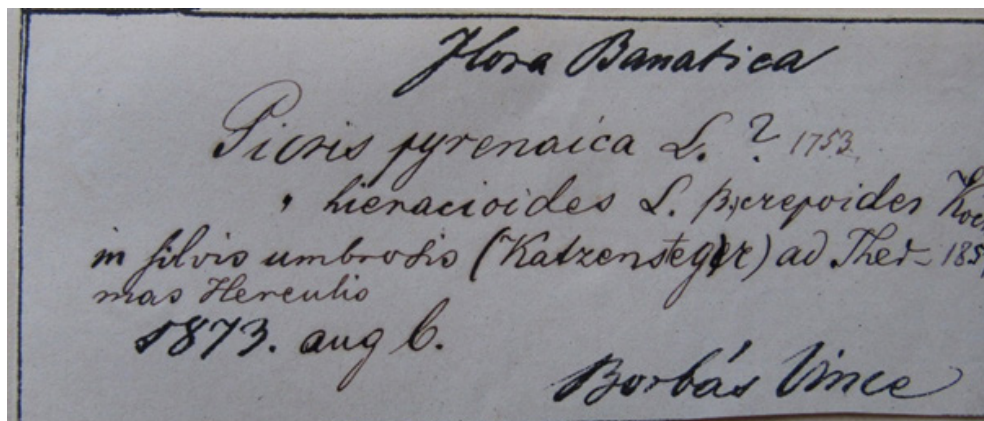


Fig. 4. Label of *Picris pyrenaica* L., collected by Borbas in 1873



Fig. 5. Victor Janka von Bulcs

Victor Janka von Bulcs (24.12.1837–8.08.1890) – Austrian military officer and botanist [fig.5].

He was born in Vienna, served as an officer in a cuirassier regiment of Austrian Emperor's army. After resigning, he became the curator of the botanical section of Budapest National Museum, where he worked till 1889. He gathered many plants in Austria-Hungarian Empire, which now are in herbarium of Romanian university in Babes-Bolyai [6], identified and described some species of plants, including *Colchicum hungaricum* Janka. His name was given to relict genus *Jankea*, and such species as - *Himantoglossum jankae* and *Chamaecytisus jankae*. In table 3 there is systematical spectrum of plants, collected by him and included into MSUD herbarium.

The collection of plants in MSUD, gathered by V. Janka are on the 15 herbarium sheets, they belong to 8 families, 10 genera, 14 species. There is genus with three species *Dianthus* (*D. aridus* Griseb., *D. pinifolius* Sm., *D. viscidus* Bor.et Chaub.) and genus with two species: *Achillea* and *Hypericum*.

We indicated the species, which were identified by V. Janka, but gathered in other places: *Achillea sericea* Janka (which was gathered in 1865 in Serbia) and *Prim-*

*ula frondosa* Janka (which was gathered in 1871 in Turkey)[6] etc. It is necessary to draw the main attention to *Achillea pseudopectinata* Janka, which was gathered 12.06.1871, and received his name in 1871.

Table 3

## Systematical spectrum of plants, gathered by V. Janka in 1865-1871

NN	Family	Quantity of	
		genera	Species
1	Caryophyllaceae	2	4
2	Campanulaceae	1	1
3	Compositae	2	3
4	Boraginaceae	1	1
5	Guttiferae	1	2
6	Leguminosae	1	1
7	Primulaceae	1	1
8	Rubiaceae	1	1



Fig. 6. Herbal sheet and label of *Primula frondosa* Janka (autotypus), which was collected by V. Janka in 1871

Among the species, identified by V. Janka, but gathered by other investigators, there are *Euphorbia fragifera* Jan. – species, which was gathered by Buhse in Triest and *Melica ciliata* L.var., which is a synonym of *M. Magnolii* Janka.

### Conclusion

So, in E.E. Lindemann's herbarium collection in MSUD there are 200 species, which were gathered in XIX cent. by investigators of Hungarian flora. The greatest quantity belongs to G.Tauscher, V. Borbas and V. Janka. These historical herbarium samples can be used to study the changes in the flora of Europe, the study of climate change, as well as the dynamics of the genetic diversity of populations. The stored samples can be used as autotypes to clarify scientific priority and understand the volume of taxa.

Стаття надійшла до редакції 25.03.2020

### Список використаної літератури

1. Гербарна колекція Е. Е. Ліндеманна / Укладачі: С. Г. Коваленко, О. Ю. Бондаренко, Т. В. Васильєва, В. В. Немерцалов. - Одеса, Освіта України, 2017. – 776 с.
2. Коваленко С. Г. Збори видатних ботаніків у гербарній колекції Е. Е. Ліндеманна (MSUD) / С. Г. Коваленко, О. Ю. Бондаренко, Т. В. Васильєва, В. В. Немерцалов // Вісник ОНУ. Біологія. – 2015. – С. 205-215
3. Коваленко С. Г. Збори Людвіга Вагнера та інших угорських натуралістів XIX століття у гербарії Одеського національного університету імені І. І. Мечникова (MSUD) / С. Г. Коваленко, О. Ю. Бондаренко, Т. В. Васильєва, В. В. Немерцалов // Міжнародна наукова конференція «Внесок натуралістів-аматорів у вивчення біологічного різноманіття», присвячена 200-річчю від дня народження Людвіга Вагнера (м. Берегово, 14-16 травня, 2015 року). – С. 374-379.
4. Tauscher Gyula Ágoston (1833-1882), Mediziner und Botaniker Österreichisches Biographisches Lexikon 1815-1950, 64. Lieferung (ISBN 978-3-7001-7482-0), 2013
5. Janka von Bulcs, Viktor (1837-1890), Botaniker. URL: [http://www.biographien.ac.at/oeb1/oeb1\\_J/Janka-Bulcs\\_Viktor\\_1837\\_1890.xml](http://www.biographien.ac.at/oeb1/oeb1_J/Janka-Bulcs_Viktor_1837_1890.xml)
6. Plants of the world online. URL: <http://powo.science.kew.org/taxon/533311-1>
7. Tauscher Gyula Ágoston. A Wikipédiaból, a szabad enciklopédiaból. URL: [https://hu.wikipedia.org/wiki/Tauscher\\_Gyula\\_%C3%81goston](https://hu.wikipedia.org/wiki/Tauscher_Gyula_%C3%81goston)
8. Borbás Vince URL: [https://hu.wikipedia.org/wiki/Borb%C3%A1s\\_Vince](https://hu.wikipedia.org/wiki/Borb%C3%A1s_Vince)

**Т. В. Васильєва, С. Г. Коваленко, О. Ю. Бондаренко, В. В. Немерцалов**  
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,  
біологічний факультет  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: tvas@ukr.net;

## **ЗБОРИ ДОСЛІДНИКІВ УГОРСЬКОЇ ФЛОРИ XIX СТ. У ГЕРБАРІЇ Е.Е. ЛІНДЕМАННА (MSUD)**

### **Резюме**

**Вступ.** Гербарна колекція кафедри ботаніки Одеського національного університету імені І. І. Мечникова (MSUD) представлена низкою іменних колекцій визначних вчених-ботаніків XIX-XX століття. Окреме місце серед них має гербарій Е. Е. Ліндеманна (1825-1901), у матеріалах якого, окрім рослин власноруч зібраних та визначених колектором, зберігаються гербарні збори більш ніж 800 вчених-ботаніків, що були отримані внаслідок гербарного обміну. **Метою** роботи було виділити з гербарію Е. Ліндеманна та проаналізувати збори угорських дослідників, охарактеризувати їх роль у вивченні регіональної флори та окремих таксонів, підкреслити основні події в біографії вчених.

**Результати.** Назви рослин та їх систематику подано за термінологією того часу. Прив'язка до географічних пунктів здійснювалася відповідно до тексту етикеток. В дослідженні використовувалися основні загальновідомі методи аналізу гербарних колекцій та літературних джерел. Значна частка гербарних зразків з колекції Е. Ліндеманна, зібраних у різних куточках Угорщини (а також інших регіонів Європи та Азії), належить дослідникам з Австро-Угорської імперії XIX ст.: А. Таушеру, В. Борбасу та В. Янці. В статті коротко охарактеризовано їх життєвий шлях і вказано види, зібрані і визначені ними. Окрім цих дослідників зустрічаються гербарні збори Л. Вагнера з Мармарошу (L. Vagner), Й. Ф. Фрейна з Тарту та Угорщини (J. F. Freyn), Кардинала доктора Й. Гайнсельда з Трансільванії (Cardinal Dr. J. Haynseld), О. Шнеллера (A. Schneller), Л. Ріхтера (L. Richter), Яноса Кунстра (Janos Kunstr) та П. П. Вержбицького (P. P. Wierzbicki), окрім цього є неідентифіковані нами колектори: Vralolyi та Simkovich.

**Заключення.** З колекції Е. Ліндеманна було виділено та проаналізовано понад 200 видів рослин, зібраних угорськими вченими, що може бути використано при виявленні змін у флорі Європи, вивченні впливу клімату, динаміки генетичного розмаїття популяцій, тощо. Також перспективним напрямком гербарних досліджень є виявлення та дослідження аутотипів з метою встановлення наукового пріоритету в описі виду та обсягу авторського розуміння таксонів.

**Ключові слова:** гербарій, MSUD, колекції, угорські дослідники, А. Таушер, В. Борбас, В. Янка

## Reference

1. Herbarna kolektsia E. E. Lindemanna (2017) Ukladachi: S. G. Kovalenko, O. Yu. Bondarenko, T. V. Vasylyeva, V. V. Nemertsalov. Odesa: Osvita Ukrainy. P. 76.
2. Kovalenko S. G., Vasylyeva T. V., Bondarenko O. Yu., Nemertsalov V. V. *Collection of outstanding botanists in the herbarium collection of EE Lindemann (MSUD)*. [Zbory vydatnykh botanikov u herbarniy kolektsii E.E. Lindemanna (MSUD)] (2015). *Visnyk ONU, Biologia*, pp.205-215.
3. Kovalenko S. G., Vasylyeva T. V., Bondarenko O. Yu., Nemertsalov V. V. (2015) *Collection of Ludwig Wagner and other Hungarian naturalists of the XIX century in the herbarium of Odessa National University named after II Mechnikov (MSUD)* [Zbory Ludviga Vagnera ta inshykh ugarskikh naturalistiv XIX storichchia u herbarii Odeskogo natsionalnogo universitetu imeni I. I. Mechnikova (MSUD)]. Mignarodna naukova konferentsia "Vnesok naturalistiv-amatoriv u vyvchennia biologichnogo riznomanittia", prusviachena 200-richchu vid dnia narodgennia Ludviga Vagnera (m. Beregovo, 14-16 travnia, 2015 roku). pp. 374-379.
4. Tauscher Gyula Ágoston (1833-1882), Mediziner und Botaniker Österreichisches Biographisches Lexikon 1815-1950, 64. Lieferung (ISBN 978-3-7001-7482-0), 2013
5. Janka von Bulcs, Viktor (1837-1890), Botaniker. URL.: [http://www.biographien.ac.at/oeb1/oeb1\\_J/Janka-Bulcs\\_Viktor\\_1837\\_1890.xml](http://www.biographien.ac.at/oeb1/oeb1_J/Janka-Bulcs_Viktor_1837_1890.xml).
6. Plants of the world online. URL: <http://powo.science.kew.org/taxon/533311-1>.
7. Tauscher Gyula Ágoston. A Wikipédiából, a szabad enciklopédiából. URL: [https://hu.wikipedia.org/wiki/Tauscher\\_Gyula\\_%C3%81goston/](https://hu.wikipedia.org/wiki/Tauscher_Gyula_%C3%81goston/)
8. Borbás Vince URL: [https://hu.wikipedia.org/wiki/Borb%C3%A1s\\_Vince](https://hu.wikipedia.org/wiki/Borb%C3%A1s_Vince).

## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

### 1. ПРОФІЛЬ ЖУРНАЛУ

1.1. «Вісник Одеського національного університету. Біологія» здійснює такі публікації:

1. Наукові статті.
2. Короткі повідомлення.
3. Матеріали конференцій.
4. Рецензії.
5. Матеріали з історії науки та університету.

1.2. У певному конкретному випуску один автор має право надрукувати тільки одну самостійну статтю.

1.3. Мова видання – українська, англійська.

1.4. До редакції «Вісника...» подається відредагований і погоджений з редколегією текст статті, записаної на електронному носії у форматі \*.doc (гарнітура Times New Roman (Сур), кегль 14, відстань між рядками 1,5 інтервали; поля: ліве – 2,5 см, праве – 1,5 см, верхнє – 2 см, нижнє – 2 см), набраний без застосування функції «Розстановка переносів» та два екземпляри «роздруковки» з неї.

Резюме двома додатковими мовами (зразок оформлення публікації наведено наприкінці Правил).

Рекомендація кафедри або наукової установи до друку.

### 2. ПІДГОТОВКА СТАТТІ – ОБОВ'ЯЗКОВІ СКЛАДОВІ

Оригінальна стаття має включати:

2.1. Вступ, в якому обговорюють актуальність проблеми, формулюють мету та основні завдання дослідження.

2.2. Матеріали і методи дослідження.

2.3. Результати досліджень та їх обговорення.

2.4. Висновки.

2.5. Список використаної літератури.

2.6. Резюме подається українською та англійською мовами

2.7. Ключові слова.

### **3. ОФОРМЛЕННЯ РУКОПИСУ, ОБСЯГ, ПОСЛІДОВНІСТЬ ТА РОЗТАШУВАННЯ ОБОВ'ЯЗКОВИХ СКЛАДОВИХ СТАТТІ**

3.1. Обсяг рукопису наукової статті (з урахуванням малюнків, таблиць і підписів до них, резюме, списку літератури) – 10–18 сторінок друкованого тексту, оглядів – до 25 сторінок, коротких повідомлень – до 2–6 сторінок. Рукописи більшого обсягу приймаються до журналу тільки після попереднього узгодження з редколегією.

3.2. Послідовність друкування окремих складових наукової статті має бути такою:

1. УДК – в лівому верхньому кутку першого аркуша.
2. Прізвище та ініціали автора (авторів) мовою статті, вчений ступінь та посада.
3. Назва наукової установи (в тому числі відділу, кафедри, де виконано працю).
4. Повна поштова адреса (за міжнародним стандартом).
5. Назва статті. Вона повинна точно відбивати зміст праці, бути короткою (в межах 9–12 повнозначних слів), містити ключові слова.
6. Анотація мовою оригіналу друкується перед початком статті з відступом 20 мм від лівого поля. Містить не більше 50 повнозначних слів і передує (окремим абзацом) основному тексту статті.
7. Під анотацією друкуються ключові слова, які відокремлюються крапкою з комою.
8. Далі йде текст статті, що включає основні змістові розділи, список використаної літератури.
9. Таблиці та малюнки разом з підписами та необхідними поясненнями до них розміщуються у тексті статті, після першого згадування про них у тексті.
10. На окремому аркуші подаються резюме (українською та англійською мовами), оформлених таким чином: прізвище та ініціали автора (авторів), назва наукової установи, повна поштова адреса установи, назва статті, слово «Резюме» (Abstract), текст резюме, ключові слова. Резюме повинне бути зрозумілим без звертання до самої публікації включати актуальність проблеми, мету, методи дослідження, основні результати дослідження, висновки та конкретні пропозиції автора. Об'єм резюме 250–280 слів. Додатково: телефон та електронна адреса (e-mail) для співпраці з авторами, ідентифікатор ORCID авторів.

З основними вимогами до «Резюме» можна ознайомитись на сайті <http://visbio.onu.edu.ua/about/submissions#authorGuidelines>.

3.3 Стаття повинна бути підписана автором (авторами).

#### **4. МОВНЕ ОФОРМЛЕННЯ ТЕКСТУ: ТЕРМІНОЛОГІЯ. УМОВНІ СКОРОЧЕННЯ, ПОСИЛАННЯ. ТАБЛИЦІ, СХЕМИ, МАЛЮНКИ**

4.1. Автори несуть повну відповідальність за бездоганне мовне оформлення тексту, за правильну українську наукову термінологію (її слід звіряти за фаховими термінологічними словниками).

4.2. Латинські біологічні терміни (назви видів, родів) подаються обов'язково латиницею і курсивом. За першого вживання латинської назви у дужках слід обов'язково подати український відповідник назви.

4.3. Якщо часто повторювані у тексті словосполучення автор вважає за потрібне скоротити, то такі аббревіатури за першого вживання наводять у дужках. Наприклад, селекційно-генетичний інститут (далі СГІ).

4.4. Посилання на літературу подаються у тексті статті, обов'язково у квадратних дужках, цифрами. Цифра в дужках позначає номер праці у «Списку використаної літератури». Назви праць у списку літератури розташовуються у алфавітному порядку і оформлюються за ГОСТ 7.1:2006.

4.5. Цифровий матеріал, по можливості, слід зводити у таблиці і не дублювати у тексті. Таблиці повинні бути компактними, мати порядковий номер; графі, колонки мають бути точно визначеними логічно і графічно. Цифровий матеріал таблиць повинен бути оброблений статистично. Матеріал таблиць (як і малюнків) повинен бути зрозумілим незалежно від тексту статті. При об'єднанні декількох рисунків або фотографій в один рисунок рекомендується позначати кожен з них прописними літерами знизу.

4.6. Рисунки виконуються у програмі «Діаграма Microsoft Excel» та вставляються у текст. Кожна крива на рисунку повинна мати номер, зміст кривих пояснюється у підписах під рисунком. На осях абсцис і ординат рисунка зазначається лише величина, що вимірюється, і розмірність в одиницях СІ (% , мм, г і т.п.). Математичні (хімічні) формули виконуються засобами внутрішнього редактора формул «Microsoft Equal» і, при потребі, нумеруються.

4.7. У розділі «Результати досліджень та їх обговорення» необхідно викласти виявлені ефекти, а також причинно-результативні зв'язки між встановленими ефектами, порівняти отриману інформацію з даними літератури і наголосити на виявлених нових даних. При аналізі слід посилається на ілюстративний матеріал статті. Аналіз має закінчуватися відповіддю на питання, поставлені у вступі. При викладі результатів слід уникати повторення змісту таблиць та рисунків, а звертати увагу на найважливіші факти та певні закономірності, що з них випливають.

4.8. Редколегія має право редагувати текст статей, рисунків та підписів до них, погоджуючи відредагований варіант з автором, а також відхиляти рукописи, якщо вони не відповідають вимогам «Вісника ОНУ. Біологія». Рукописи статей, що прийняті до публікування, авторам не повертаються.

## 5. ЛІТЕРАТУРА

Список літератури друкується мовою оригіналу відповідної праці. Назви праць у списку літератури розташовуються у алфавітному порядку і оформлюються за ГОСТ 7.1:2006. Автор (автори) повинні посилатися на сучасну (останнє десятиріччя) літературу. У статтях при наявності обов'язково вказувати цифровий ідентифікатор об'єкта (Digital Object Identifier, або doi).

Додатково у електронному варіанті необхідно додати References оформлений згідно міжнародним стандартам за гарвардським стилем (BSI) на англійській мові. При оформленні українськомовного або російськомовного джерела іншою мовою після переведення джерела в [квадратних дужках] вказується транслітерування вихідного. Детальну інформацію та приклади можна отримати на сайті <http://visbio.onu.edu.ua/about/submissions#authorGuidelines>.

### Приклади бібліографічних описань

#### *Книги, монографії, атласи, словники*

1. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: [справочное пособие] / А. М. Горячковский. – Одесса: Екологія, 2005. – 616 с.
2. Медицинская микробиология: учебник для ВУЗов / под ред. В. И. Покровского. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 786 с.
3. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин и др. – К.: Наукова думка, 1987. – 548 с.
4. Анатомія пам'яті: атлас схем і рисунків провідних шляхів і структур нервової системи, що беруть участь у процесах пам'яті: посіб. для етуд. та лікарів / О. Л. Дроздов, Л. А. Дзяк, В. О. Козлов, В. Д. Маковецький. – 2-ге вид, розшир, та доповн. – Дніпропетровськ: Пороги, 2005. – 218с.
5. Українсько-німецький тематичний словник / [уклад. Н. Яцко та ін.]. – К.: Карпенко, 2007. – 219 с.

#### *Статті із журналів*

1. Писаренко В. М. Посухи в контексті змін клімату України / В. М. Писаренко, П. В. Писаренко, В. В. Писаренко, О. О. Горб, Т. О. Чайка // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2019. – №. 1. – С. 134-146. doi 10.31210/visnyk2019.01.15.
2. Топтиков В. А. Генетико-биохимические особенности мутантных линий сои / В. А. Топтиков, Д. А. Жарикова, Г. А. Чеботарь, И. В. Темченко // Вісник ОНУ. Біологія. – 2018. – Т. 22, Вип. 2 (44). – С. 73–94. doi 10.18524/2077-1746.2018.2(43).147013.
3. Duan H. Effects of drought stress on growth and development of wheat seedlings / H. Duan, Y. Zhu, J. Li, W. Ding, H. Wang, L. Jiang, Y. Zhou // International Journal of Agriculture and Biology. – 2017. – V. 19, №. 5. – P. 1119-1124. doi: 10.17957/IJAB/15.0393.

### **Збірки**

1. Спектр тканевых карбоксиэстераз в онтогенезе суслика крапчатого (*Spermophilus suslicus* Guld.) / А. М. Андриевский, Ю. Н. Олейник, В. А. Кучеров, А. С. Асманская // Генетика в современном обществе: науч. конф., 3–5 окт. 2004 г.: тезисы докл. – Харьков, 2004. – С. 12.
2. Селекция *in vitro* генотипов пшеницы с комплексной устойчивостью к фузариозу злаков / Е. А. Клечковская, С. А. Игнатова, А. И. Слепченко и др. // Биология клеток растений *in vitro*, биотехнология и сохранение генофонда: VII междунар. симп.: труды. – Москва, 2001. – С. 372.
3. Cell transfer and Interferon Studies / J. C. De Man, M. Rogosa, M. E. Sharpe // Abstracts of the V International symposium of immunopharmacology, 17–21 May 2004: proc. of conf, Quebec, 2004. – P. 31.

### **Дисертації, автореферати дисертації**

1. Дослідження процесів перекисного окислення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту при цукровому діабеті: автореф. дис. на здобуття наук, ступеня, канд. біол. наук: 03.00.04 «Біохімія» / О. О. Олярик. – К., 2007. – 17 с.
2. Дослідження процесів перекисного окислення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту при цукровому діабеті: дис... канд. біол. наук: 03.00.04 / Олексій Олексійович Орляник. – Київ, 2007. – 117 с.
3. України СО7Д 243/24 ФС № 953812. Спосіб отримання 3-окси7-бром-5(орто-хлор)-бенздіазепіна / И. И. Иванов; заявитель и патентообладатель Физико-химический институт им. А. В. Богатского. – № 19803; Заявл. 09.04.90; опубл. 22.06.92; НКИ 355/68. — 3 с

### **Депоновані наукові роботи, патенти, авторські свідоцтва**

1. Микрофитобентос Филлофорного поля Зернова. – Севастополь: Деп. в ВИНТИ 11.07.91 г., № 2981. – В91, 1991. – 28 с.
2. Пат. 108514 Україна, № u201512317 на корисну модель. Спосіб отримання ліній рису / Шестопап О. Л., Замбриборщ І. С., Шпак Д. В.; Заявл. 14.12.2015 ; опубл. 25.07.2016, Бюл. № 14. – 5 с.

### **Приклади бібліографічних описань за BSI**

#### **Книги**

1. Horiachkovskii A. M. (2005) *Clinical Biochemistry in laboratory diagnostics* [Klinicheskaia biokhimiia v laboratornoi diahnostike], Odessa: Ecology, 616 p.
2. Dobrochaeva D. N., Kotov M. I., Prokudin Yu. N. (1987) *The determinant of higher plants of Ukraine* [Opredelitel visshih rastenii Ukrainy], Kiev, 548 p.

### **Книги під редакцією**

1. Pozdeev O. K. (2002) *Medical microbiology: a textbook for high schools*. In editor: Pokrovskiy V. I. [Meditsinskaia microbiologhiia: uchebnik dlia VUZ], Moskva: GEOTAR-MED, 786 p.

### **Статті, збірки**

1. Andrievskii A. M., Katanenko S. V., Totskii V. N. (1982) «*Developmental features peptidgidrolazy activity of extracts of tissues Drosophila melanogaster*» [«Ontoheneticheskie osobennosti peptidhidrolazonoi aktivnosti ekstraktov tkanei *Drosophila melanogaster*»], *Ukr. biochemistri J*, No 54, 5, pp 519–524.
2. Klechkovskaia E. A., Ihnatova C. A., Slepchenko A. I. (2010) «*Selection of in vitro wheat genotypes with complex resistance to fusarium cereals*», *Biology of plant cells in vitro, biotechnology and the preservation of the gene pool, VII International Symposium* [«Selektsiia in vitro henotipov pshenitsi s kompleksnoi ustoichivostiu k fuzariozu zlakov» Biologhiia kletok rastenii in vitro, biotekhnologhiia i sokhranenie henofonda], Moskow, p 372.
3. De Man J. C. (2004) «*Cell transfer and Interferon Studies*», Abstracts of the V International symposium of immunopharmacology, 17–21 May 2004: proc. of conf, Quebec, P. 31.

### **Дисертації, автореферати**

1. Oliarnyk O. O. (2007) The study of lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetes [Doslidzhennia protsessiv perekysnoho okyslennia lipidiv ta aktyvnosti fermentiv antyoksydantnoho zakhystu pry tsukrovomu diabeti. dis....kand. biol. nauk], Kiev, 117 p.

## 6. ЗРАЗОК ОФОРМЛЕННЯ ПУБЛІКАЦІЇ

**О. Л. Шестопад**<sup>1</sup>, к.б.н., провідний науковий співробітник

**І. С. Замбріборш**<sup>1</sup>, к.б.н., завідувачка лабораторією

**Д. В. Шпак**<sup>2</sup>, зав. відділом селекції

**Т. Г. Алексєєва**<sup>3</sup>, к.б.н., доцент

**О. А. Афіногенов**<sup>1</sup>, інженер

<sup>1</sup>Селекційно-генетичний інститут–Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення,

Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна,  
e-mail:izambriborsh@gmail.com

<sup>2</sup>Інститут рису Української академії аграрних наук,  
с. Антонівка, Скадовський р-н, Херсонська обл., 75705, Україна

<sup>3</sup>Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

## ОЦІНКА РЕГЕНЕРАЦІЙНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ГІБРИДНОГО МАТЕРІАЛУ РИСУ ПОСІВНОГО (*ORYZA SATIVA* L.)

Проведено тестування гаплопродукційного потенціалу у культурах пиляків п'яти гібридних популяцій F<sub>3</sub> рису *Oryza sativa* L. До культури *in vitro* було введено 30944 пиляків п'яти генотипів. Шляхом андрогенезу в культурі пиляків рису отримано 6542 новоутворень ( $21,14 \pm 0,23$  в середньому на 100 пиляків), які регенерували 539 зелених рослин ( $1,74 \pm 0,07$  в середньому на 100 пиляків). Найбільший регенераційний потенціал в культурі пиляків виявили у рослин гібридної популяції F<sub>3</sub> Labelle/Малиш ( $2,90 \pm 0,17$ ). На сучасний момент на етапі колосіння дорощуються 193 рослини-регенеранта (35,8 %).

**Ключові слова:** рис; андрогенез *in vitro*; калюс; регенерація.

... Текст вступу до статті

**Матеріали та методи досліджень**

**Текст матеріалів та методів роботи**

**Результати та їх обговорення**

**Висновки**

**Список використаної літератури**

## 7. ЗРАЗОК ОФОРМЛЕННЯ РЕЗЮМЕ

**O. L. Shestopal<sup>1</sup>, I. S. Zambriborshch<sup>1</sup>, D. V. Shpak<sup>2</sup>, T. G. Aliksieieva<sup>3</sup>,  
O. A. Afinogenov<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Plant Breeding & Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation

Ukraine, 65036, Odesa, Ovidiopolska road 3, e-mail: izambriborsh@gmail.com

<sup>2</sup>Rice Research Institute at Ukrainian Academy of Agrarian Sciences

Ukraine, 75705, Kherson region, Skadovsk district, Antonovka village,

<sup>3</sup>Odesa Mechnykov National University, Department of Genetics and Molecular Biology,

2 Dvoranska Street, Odesa, 65082, Ukraine

### **EVALUATION OF REGENERATION POTENTIAL OF RICE (*ORYZA SATIVA* L.) HYBRID MATERIAL**

#### **Abstract**

**Introduction.** *In vitro* anther culture is an important source of linear material propagation for efficient breeding of rice (*Oryza sativa* L.), in particular due to the reduction of reproduction cycles and the production of homozygous plants. Given the strong variation in the regenerative ability of microspores in different hybrid combinations, it is desirable to cover the maximum number of combinations of hybrids of different generations.

**Aim.** Evaluation of the haploproduction ability of microspores of promising breeding samples of rice.

**Methods.** The anthers of five promising hybrid F<sub>3</sub> populations obtained at the Rice Institute (Skadovsk) as a result of hybridization of carriers of various resistance genes to pyriculariosis were used. The inflorescences with microspores at the mid-late stage of development were cut and pretreated for sterilization; the isolated anthers were explanted in Petri dishes on a solid nutrient medium and cultured in the dark until neoplasms were obtained, after which they were transplanted (stage I – after 4-5 weeks). The next transplant event (II stage – after 7-8 weeks) and further cultivation was carried out under lighting to obtain green regenerants.

**Results.** The high sensitivity to *in vitro* cultivation conditions was shown for five combinations of F<sub>3</sub> rice hybrids. The rate of neoplasm formation varied from 6.4 % (Sirio / YiP4970) to 35 % (Sirio / Marshal). The ability to regenerate in the obtained neoplasms also varied greatly, since most of them were only capable of rhizogenesis, without forming shoots and leaves. Nevertheless, the regenerant plants were obtained for each hybrid combination and the proportion of albinos among the total number of regenerants was relatively small. On average about 40 % of the regenerants obtained in the culture die at the critical stage of adaptation of regenerated plants to *ex vitro* conditions; approximately the same number of plants die during the growing process, being unable to give seed generation.

**Conclusions.** The most productive from the point of view of plant formation adapted to *ex vitro* conditions was the hybrid population F<sub>3</sub> Labelle / Malish (101 adult plants),

and the least productive was Sirio / YiP4970 (5 adult plants) among the studied combinations. Thus, by androgenesis in anther culture, 336 plants adapted to *ex vitro* conditions were obtained. At the moment, 193 plants are at the earing stage, which is 35.81 % of the total number of green regenerants obtained in the culture.

**Key words:** rice, androgenesis *in vitro*, callus, regeneration

**О. Л. Шестопад<sup>1</sup>, І. С. Замбріборщ<sup>1</sup>, Д. В. Шпак<sup>2</sup>, Т. Г. Алексєєва<sup>3</sup>,  
О. А. Афіногенов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Селекційно-генетичний інститут–Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення,

Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна,  
e-mail: izambriborsh@gmail.com

<sup>2</sup>Інститут рису Української академії аграрних наук,  
с. Антонівка, Скадовський р-н, Херсонська обл., 75705, Україна

<sup>3</sup>Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

## **ОЦІНКА РЕГЕНЕРАЦІЙНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ГІБРИДНОГО МАТЕРІАЛУ РИСУ ПОСІВНОГО (*ORYZA SATIVA* L.)**

### **Резюме**

**Проблема.** Культура пиляків *in vitro* є найважливішим джерелом лінійного матеріалу для проведення ефективних селекційних робіт зі створення поліпшених сортів рослин, зокрема рису (*Oryza sativa* L.), завдяки скороченню циклів розмноження і отриманню повноцінних гомозиготних рослин. З урахуванням сильного варіювання показників регенераційної здатності мікроспор в різних гібридних комбінаціях бажано охоплювати максимальну кількість комбінацій гібридів різних поколінь.

**Мета.** Оцінка гаплопродукційної здатності мікроспор перспективних селекційних зразків рису посівного.

**Методика.** Використовували пиляки п'яти перспективних гібридних популяцій F<sub>3</sub>, отриманих в Інституті рису (м. Скадовськ) в результаті гібридизації носіїв різних генів стійкості до збудника пірікуляріоза. Зрізані суцвіття з мікроспорами на середньо-пізній стадії розвитку піддавали передобробці, стерилізували; виділені пиляки експлантували у чашки Петрі на тверде живильне середовище і культивували у темряві до отримання новоутворень, після чого пересаджували (І етап – через 4–5 тижнів). Наступну пересадку (II етап – через 7–8 тижнів) і подальше культивування проводили при освітленні для отримання зелених регенерантів.

**Основні результати.** Для п'яти використаних комбінацій гібридів F<sub>3</sub> рису показана висока чутливість до умов культивування *in vitro*. Так, показник формуван-

ня новоутворень варіював від 6,4 % (Sirio / УіР4970) до 35 % (Sirio / Маршал). Здатність до регенерації у отриманих новоутворень також сильно варіювала, так як більша частина їх була здатна лише до ризогенезу, не утворюючи пагони і листя. Проте, для кожної гібридної комбінації були отримані рослини-регенеранти, причому частка альбіносів серед загального числа регенерантів була порівняно невелика. На критичному етапі адаптації рослин-регенерантів до умов *ex vitro* в середньому гине близько 40% отриманих в культурі регенерантів; приблизно така ж кількість рослин гине в процесі дорощування, виявляючись нездатними до продукції насіннєвого покоління.

**Висновки.** Серед вивчених комбінацій найбільш продуктивною з погляду формування рослин, адаптованих до умов *ex vitro* виявилася гібридна популяція  $F_3$  Labelle / Малиш (101 доросла рослина), а найменш продуктивною Sirio / УіР4970 (5 дорослих рослин). Таким чином шляхом андрогенеза в культурі пиляків було отримано 336 рослин, адаптованих до умов *ex vitro*; на даний момент на етапі колосіння знаходиться 193 рослини, що становить 35,81 % від загальної кількості отриманих в культурі зелених регенерантів.

**Ключові слова:** рис; андрогенез *in vitro*; калюс; регенерація.

Верстка С. О. Остапенко

Підписано до друку 29.06.2020 р. Формат 70х108/16.  
Ум.-друк. арк. 14,52. Тираж 100 пр.  
Зам. № 2100.

Видавець та виготовлювач  
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011.  
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна  
Тел.: +38 (048) 723 28 39  
e-mail: druk@onu.edu.ua