

Міністерство освіти і науки України

ВІСНИК

*Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна*

Серія "Біологія"

Випуск 36

Започаткований у 1970 р.

THE JOURNAL

of V. N. Karazin Kharkiv

National University

Series "Biology"

Issue 36

Founded in 1970

Харків-2021

Вісник, серія «Біологія» є збірником наукових праць, який містить результати досліджень та оглядові статті з біології, зокрема з біохімії та генетики, зоології та ботаніки, фізіології тварин і рослин, мікології, мікробіології, ґрунтознавства, кріобіології та ін., а також матеріали про події наукового життя та описання оригінальних методів і приладів у галузі біології.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів, які спеціалізуються у відповідних або суміжних галузях науки.

Вісник включений до Переліку фахових видань України, категорія «Б», за спеціальністю 091 Біологія (Наказ МОН України №1643 від 28.12.2019 р.), індексується у Google Scholar, Ulrich's Periodicals Directory, WorldCat, BASE, DOAJ, Web of Science (Zoological Record) та включений до Clarivate Analytics Master Journal List.

Затверджено до друку рішенням

Вченої ради Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна
(протокол №7 від 29.06.2021).

Д. А. Шабанов – головний редактор, д.б.н., професор кафедри зоології та екології тварин, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

В. В. Жмурко – заступник головного редактора, д.б.н., професор кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

В. В. Навроцька – відповідальний секретар, к.б.н., доцент кафедри генетики і цитології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Члени редакційної колегії:

Л. О. Атраментова – д.б.н., професор кафедри генетики і цитології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

С. Ю. Утєвський – д.б.н., професор кафедри зоології та екології тварин, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

О. М. Утєвська – д.б.н., професор кафедри генетики і цитології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Є. Е. Перський – д.б.н., професор кафедри біохімії, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

В. Ю. Страшнюк – д.б.н., професор кафедри генетики і цитології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

О. Ю. Акулов – к.б.н., доцент кафедри мікології та фітоімунології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Н. Ю. Полчанінова – к.б.н., доцент кафедри зоології та екології тварин, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

О. О. Авксентьєва – к.б.н., доцент кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

В. П. Комариста – к.б.н., доцент кафедри ботаніки та екології рослин, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

С. О. Костерін – д.б.н., академік НАНУ, завідувач відділу біохімії м'язів, Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАНУ

Н. О. Сибірна – д.б.н., професор кафедри біохімії, Львівський національний університет імені Івана Франка

Л. О. Білявська – д.б.н., старший науковий співробітник відділу загальної і ґрунтової мікробіології, Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАНУ

О. О. Стасик – д.б.н., член-кореспондент НАНУ, завідувач відділу фізіології та екології фотосинтезу, Інститут фізіології рослин і генетики НАНУ

Gederts Ievinsh – Doctor of Science in Biology, Full Professor, University of Latvia (Латвія)

Gregory F. Oxenkrug – PhD, MD, Professor, Tufts University School of Medicine, Tufts Medical Center (США)

N. I. Ronkina – PhD in Biology, Scientific Researcher, Hannover Medical School (Німеччина)

Адреса редакції:

біологічний факультет,

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,

майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022

тел. +38 /057/ 707-55-71

<http://seriesbiology.univer.kharkov.ua>

e-mail: seriesbiology@karazin.ua

Статті пройшли рецензування.

Свідоцтво про державну реєстрацію КВ №21572–11472Р від 20.08.2015

© Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна, оформлення, 2021

... ЗМІСТ ...

... БІОХІМІЯ ...

Бараннік Т.В., Лебедєва М.Є. Пошук потенційних сайтів зв'язування гему в інтегральному білку мембрани еритроцитів людини SLC4A1 та протеїнкіназах SYK і LYN	4
Соколік В.В., Левічева Н.О., Гейко В.В., Берченко О.Г., Шульга С.М. Модулюючий вплив ліпосомальної miR-101 на процеси амілоїдогенезу, нюху, сну і нейрозапалення при експериментальній хворобі Альцгеймера	16

... БОТАНІКА ТА ЕКОЛОГІЯ РОСЛИН ...

Плескач Л.Я., Вірченко В.М. Дослідження флори епігейних мохоподібних дендропарку «Олександрія»	28
---	----

... ГЕНЕТИКА ...

Атраментова Л.О., Ехьяконандех Х. Молекулярно-генетичні дані з точки зору асоціативної та популяційної генетики	35
--	----

... ЗООЛОГІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ ...

Гаджиєва Н.А. Асоціація <i>Balantidium coli</i> і кишкових кокцидій (<i>Eimeria</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Isospora</i>) у свійських свиней в Азербайджані.....	41
Ібрагімов Ш.Р., Мамедова С.Н. Екологічний аналіз фауни цестод риб гирла річки Кури.....	48
Рзаєв Ф.Г., Насиров А.М., Гасимов Е.К. Систематичний огляд паразитів (Plathelminthes: Cestoda) свійської гуски (<i>Anser anser dom.</i>).....	58

... ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН ...

Василенко А.О., Вус Н.О., Безуглий І.М., Безугла О.М., Шевченко Л.М., Кучеренко Є.Ю., Глянцев А.В. Донори цінних селекційних ознак гороху посівного (<i>Pisum sativum L.</i>).....	74
Горлачова О.В., Горбачова С.Н., Єгоров Д.К., Анциферова О.В., Проданик А.М., Самборська О.В. Стійкість проростків проса (<i>Panicum miliaceum L.</i>) до посухи та сажки	83
Реліна Л.І., Супрун О.Г., Богуславський Р.Л., Вечерська Л.А., Леонов О.Ю., Анциферова О.В., Голік О.В. Порівняння м'якої пшениці та спельти за вмістом загальних ліпідів та рівнем жирних кислот	94

... ІНФОРМАЦІЯ ...

Правила для авторів	105
----------------------------------	-----

Cite this article: Barannik T.V., Lebedieva M.E. Search for putative heme binding sites in the integrated membrane protein of human erythrocytes SLC4A1 and protein kinases SYK and LYN. The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology", 2021, 36, 4–15.

... БІОХІМІЯ ... BIOCHEMISTRY ...

УДК: [577.112+576.314+577.127.3]:57.052

Пошук потенційних сайтів зв'язування гему в інтегральному білку мембрани еритроцитів людини SLC4A1 та протеїнкіназах SYK і LYN

Т.В. Бараннік, М.Є. Лебедєва

Білок SLC4A1, або білок смуги 3 (band 3) є одним з найбільш поширених мембранних білків еритроцитів. Поряд із функцією аніонного обмінника він бере участь у контролі форми і тривалості життя клітин через утворення різноманітних комплексів із компонентами цитоскелету та ферментами. За умов оксидативного стресу відбуваються окислювальні модифікації білка, в тому числі внаслідок зв'язування агрегатів гемоглобіну, але прямий ефект гему, як основного продукту розпаду гемоглобіну, на активність білку смуги 3 не описаний в літературі. Відомо, що гемолітичні стани супроводжуються фосфорилуванням білку SLC4A1 нерецепторними тирозинпротеїнкіназами LYN (по залишку Y359) і SYK (по залишках Y8 і Y21), а інгібітори кінази SYK мають стабілізуючий вплив на еритроцити. Показаний регуляторний вплив гему на Src-кінази, до яких належать кінази SYK і LIN, але сайти їх взаємодії з гемом не встановлені. У зв'язку з вищесказаним, метою цієї роботи став пошук потенційних сайтів зв'язування гему в інтегральному білку мембрани еритроцитів SLC4A1, а також у протеїнкіназах SYK і LYN та їх комплексах з SLC4A1, змодельованих *in silico*. Аналіз послідовностей білків інструментом HeMoQuest виявив декілька нонапептидів із потенційними гем-зв'язувальними сайтами в білку SLC4A1, в тому числі цитозольний His98 і залишки Tyr553 та Tyr555 в ділянці між трансмембранними сегментами TM5 і TM6. Ці залишки разом з амінокислотами Tyr216, His303 та His192 були також передбачені як сайти зв'язування гему програмою HemeBIND. Найбільша кількість потенційних сайтів зв'язування гему виявлена для протеїнкінази SYK, серед них два цитозольні залишки Tyr216 і His303. Молекулярний докінг білку SLC4A1 виявив сайт зв'язування гему у порожнині між His192 і ділянкою 173–176 у структурі цитозольного домену (PDBID4KY9 і 1HYN), в тому числі у складі змодельованого комплексу з кіназами SYK або LYN. Слід зазначити, що ділянка 175–185 відома як сайт зв'язування анкірину. Докінг гему до мембранного домену (PDBID4YZF) виявив потенційний сайт зв'язування гему біля Lys539 у TM5, що, за даними літератури, належить до одного з реактивних центрів, чутливих до інгібітору аніонного транспорту DIDS. Молекулярний докінг до протеїнкінази SYK з АТФ в активному сайті (PDBID 4FL2) виявив два вірогідних сайти зв'язування гему – біля Tyr64 і біля His243, але при використанні pdb-файлу з видаленим АТФ гем займав саме ділянку зв'язування нуклеотиду у порожнині біля Lys402 і His531. Протеїнкіназа LYN (PDBID 5XY1) мала сайт зв'язування гему біля Tyr321, якщо структура містила молекулу інгібітору (похідне піперазину). За умов видалення інгібітору гем займав його ділянку біля Glu290 і Ala371. У більшості моделей комплексів білок смуги 3 був більш вірогідним сайтом зв'язування гему, ніж протеїнкінази LYN і SYK, але вільні кінази із відкритими активними сайтами можуть зв'язувати гем замість субстрату, що буде заважати фосфорилуванню. Порушення функціонування білку смуги 3 за умов накопичення гему може інгібувати транспорт аніонів або ускладнювати утворення комплексів білку SLC4A1 з білками цитоскелету, що, поряд із впливом на фосфорилування, може бути одним з механізмів зниження стабільності еритроцитів.

Ключові слова: SLC4A1, білок смуги 3, фосфорилування, SYK, LYN, зв'язування гему, еритроцити, гемоліз, молекулярний докінг, HeMoQuest, HemeBind.

Про авторів:

Т.В. Бараннік – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, tbarannik@karazin.ua, <http://orcid.org/0000-0002-8123-3871>

М.Є. Лебедєва – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, lebedievamarharyta@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7314-0165>

Вступ

Білок SLC4A1, або білок смуги 3 (band 3) функціонує як аніонний обмінник і сайт взаємодії із елементами цитоскелету. В еритроцитах займає близько 25 % поверхні, що робить його основним

мембранним глікопротеїном. Через взаємодію із іншими білками SLC4A1 також виконує певні регуляторні функції, в тому числі впливає на енергетику клітин, бере участь у контролі форми і тривалості життя еритроцитів (Chu, Low, 2006; Reithmeier et al., 2016). Білок SLC4A1 людини містить 911 амінокислотних залишків, організованих у два домени. Мембранний домен організований у 14 трансмембранних сегментів (ТМ), які формують коровий (core) і воротний (gate) домени (Reithmeier et al., 2016). До воротного домену входять 5–7 та 12–14 ТМ сегменти, що з'єднані з коровим доменом (ТМ4–ТМ5, ТМ7–ТМ8, ТМ11–ТМ12). Glu681 у ТМ8 є центром аніон-протонного котранспорту. Взаємне положення корового та воротного доменів значно змінюється в ході аніонного транспорту (Reithmeier et al., 2016). N-кінцевий цитозольний гідрофільний домен (1–360) є ключовим сайтом прикріплення компонентів цитоскелету, насамперед анкірину в ділянках 63–73 та 175–185 (Grey et al., 2012), а також може взаємодіяти з гліколітичними ферментами через перші 23 залишки SLC4A1 (Chu, Low, 2006). Слід зазначити, що SLC4A1 у складі анкіринового та актинового комплексів забезпечує взаємодію мембрани і цитоскелету, необхідну для підтримання форми і функціональної активності еритроцитів (Kodippili et al., 2012; Welbourn et al., 2017). В умовах гіпоксії цитозольний домен може зв'язати дезоксигемоглобін, який після приєднання до мембрани набуває більшої спорідненості до кисню (Walder et al., 1984; Weber et al., 2004).

За умов окислювального стресу білок SLC4A1 стає мішенню нерецепторних тирозинових протеїнкіназ. Так, була показана ковалентна модифікація цитозольного домену білку смуги 3 по трьох залишках тирозину, відповідно Tyr359 – протеїнкіназою LYN, аTyr8 і Tyr21 – протеїнкіназою SYK (Brunati et al., 2000). Тирозинпротеїнкіназа LYN належить до родини Src, проявляє властивості протоонкогену і задіяна у регуляції диференціювання еритроцитів (Slavova-Azmanova et al., 2014). Протеїнкіназа SYK бере участь у сигналіngu в ході еритропоезу і координує дію ростових факторів (Chang et al., 2017). Фосфорилування SLC4A1 відбувається за умов окислювальних модифікацій білка, зв'язування агрегатів гемоглобіну і серед наслідків має посилення гемолізу. Показано, що гемолітичні захворювання та малярія супроводжуються гіперфосфорилуванням SLC4A1 (Roumenina et al., 2016), а інгібітори кінази SYK мають стабілізуючий вплив на еритроцити (Pantaleo et al., 2016; Brunati et al., 2000). Значний вплив фосфорилування на функціональний стан еритроцитів робить кінази, що модулюють активність білку SLC4A1, перспективними мішенями для терапії гемолітичних станів і обумовлює актуальність аналізу впливу гему на їх активність. Гем є основним продуктом розпаду гемоглобіну і за умов внутрішньосудинного гемолізу значно накопичується в плазмі крові та інших тканинах, де може мати пошкоджуючу дію як прооксидант з амфіпатичними властивостями (Belcher et al., 2010). Встановлено також регуляторну дію гему на низку білків, задіяних у відповіді на оксидативний стрес, але прямі ефекти гему на активність білку смуги 3 та його регуляторів в літературі не описані. У зв'язку з вищесказаним, **метою цієї роботи** став пошук потенційних сайтів зв'язування гему у цитоплазматичному і мембранному доменах інтегрального білку мембрани еритроцитів SLC4A1, а також у протеїнкіназах SYK і LYN та їх комплексах з SLC4A1, змодельованих *in silico*.

Об'єкти та методи дослідження

В роботі аналізували білки людини SLC4A1 (Gene ID 6521; UniProt ID P02730), SYK (Gene ID: 6850; UniProt ID P43405) і LYN (Gene ID: 4067; UniProt ID P07948). Об'єктами дослідження були канонічні амінокислотні послідовності (завантажені з UniProt) і моделі просторової структури, відібрані з відомих на цей час експериментально досліджених структур (за даними PDB). Характеристики структур, взятих для аналізу, наведені у табл. 1. Для аналізу мембранного домену білка смуги 3 була обрана модель 4YZF, що містить два димери з майже повною послідовністю (ланцюги A/B, C/D). У файлі 4yzf.pdb зі структури олігомеру були відокремлені ланцюги A і B для подальшого докінгу з гемом та цитозольними доменами. Для аналізу цитозольного домену використовували моделі 1HYN (379 залишків) та 4KY9 (306 залишків), які не містили лігандів. Для аналізу кінази SYK була обрана PDB модель 4FL2 (635 залишків), що містить в якості лігандів похідне АМФ та іон магнію. Для кінази LYN використана модель 5XY1, що охоплює кіназний домен і має інгібітор на основі хіназоліну в якості ліганду у сайті зв'язування АТФ. Всі обрані моделі не містили мутацій. Структурні файли у форматі *.pdb були завантажені з Protein Data Bank (PDB) (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>).

Таблиця 1. Дані про структуру білків людини, які були використані для аналізу (за даними PDB і UniProt, в ангстремах Å вказана роздільна здатність pdb-структур)**Table 1. Data on the structure of human proteins that were used for analysis** (according to PDB and UniProt, the angstroms Å indicate the resolution of the pdb-structures)

Назва білку	Символ гену	PDB ID	Å	Ділянка	Кількість ланцюгів, особливості складу
Band 3 anion transport protein	SLC4A1	1HYN	2,6	56–349 (цитозольний домен)	4 (2 димери: ланцюги P+Q; R+S)
		4KY9	2,23	51–356 (цитозольний домен)	2 (димер: ланцюги A і P)
		4YZF	3,50	381–887 (мембранний домен)	4 ланцюги належать SLC4A1 (2 димери: A+B; C+D)
Tyrosine protein kinase SYK	SYK	4FL2	2,19	1–635	1 (ланцюг A), ліганди: АТФ, Mg ²⁺
Tyrosine protein kinase LYN	LYN	5XY1	2,70	239–512 (кіназний домен)	1 (ланцюг A), ліганд – похідне піперазину

Візуалізація структури білків проводилася за допомогою програми UCSF CHIMERA (Pettersen et al., 2004). Аналіз контактних поверхонь субодиниць, відстаней між амінокислотними залишками та гемом проводили у програмі Swiss-PdbViewer 4.1.0 (Johansson et al., 2012).

Молекулярний докінг білків з моделюванням комплексів проводився за допомогою: ZDOCK (<http://zdock.umassmed.edu/>) (Pierce et al., 2014).

Молекулярний докінг білків з гемом проводився з використанням PatchDock (<http://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/index.html>) (Schneidman-Duhovny et al., 2005) та сервісу SwissDock (<http://www.swissdock.ch/>) (Grosdidier et al., 2011). Файл гему у форматі *.pdb був завантажений з PubChem (<https://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/pdbechem/>). Файл гему у форматі *.mol2, був завантажений з ZINC database (<https://zinc.docking.org/>).

Для аналізу послідовностей на наявність консервативних гем-зв'язувальних ділянок використовували спеціалізовані програми HemeBind (<http://mleg.cse.sc.edu/hemeBIND/>) (Liu, Hu, 2011) і HeMoQuest (<http://131.220.139.55/SeqDHBM/>) з двома різновидами розрахунків залежно від врахування доступності розчинника. Величина константи дисоціації менше 1 μM свідчила про високу афінність, 1–5 μM – середню силу зв'язування гему і більше 5 μM – про слабкі взаємодії (Paul George et al., 2020).

Результати і обговорення

Аналіз послідовностей білків SLC4A1, SYK і LYN. Згідно із сучасними уявленнями, існують декілька варіантів гем-регуляторних мотивів (heme-regulatory motif, HRM), в яких центром зв'язування гему може бути цистеїн, розташований поруч із проліном у Cys-Pro і Pro-Cys патернах (Zhang, Guarente, 1995), або залишки гістидину чи тирозину у складі патернів із зарядженими амінокислотами (Wißbrock et al., 2019). Для вказаних варіантів розроблені відповідні алгоритми передбачення гем-зв'язувальних залишків за амінокислотою послідовністю. Слід зазначити, що білок смуги 3 (911 амінокислот, АК) має в своєму складі всього 5 залишків цистеїну, жодний з яких не знаходиться поруч із проліном і не бере участь у дисульфідних містках. Білок SYK (635 АК) містить два CP-мотиви з Cys592 і Cys596 і один PC-мотив (Cys259). Кіназа LYN (512 АК) містить один CP-мотив з Cys467 і один PC-мотив з Cys203.

Аналіз послідовності SLC4A1 з використанням алгоритму HemeBIND передбачив близько 40 амінокислотних залишків в цитозольному і 60 залишків в мембранному доменах, як потенційних сайтів зв'язування гему. Серед всіх амінокислот переважали гідрофобні (79), в той час як заряджені були представлені Lys174, Arg180, Glu196 і Arg344 (цитозольний домен) та Glu755, Lys757 і Arg760, що локалізовані в цитозольній петлі між TM10 і TM11. Окрім того, була передбачена можливість взаємодії з гемом через His98, His192, Cys201 і Tyr347 цитозольного домену та амінокислоти,

локалізовані у зовнішніх петлях мембранного домену – Tyr553 і Tyr555 (між TM5 і TM6) і His651 (між TM7 і TM8).

Для протеїнкінази SYK передбачені сайти зв'язування гему у His170 і His280, а також у восьми залишках тирозину (203, 216, 244, 296, 323, 348, 352, 389). У протеїнкінази LYN був передбачений лише один сайт взаємодії на основі тирозину (Tyr306), жодних центрів з гістидином або цистеїном розрахунки HemeBind не виявили. Слід зазначити, що в основу алгоритму HemeBIND покладено порівняння послідовності-запиту із консервативними мотивами гемопротеїнів без врахування просторової структури.

Програма HeMoQuest (Paul George et al., 2020) виявляє в білкових послідовностях специфічні нонапептиди, що мають в якості потенційних центрів зв'язування гему залишки гістидину, тирозину або цистеїну. Аналіз послідовності SLC4A1 показав наявність декілька амінокислотних мотивів як у цитозольному, так і мембранному домені між трансмембранними сегментами, у складі яких є амінокислоти із підвищеною афінністю до гему (табл. 2).

Таблиця 2. Потенційні сайти зв'язування гему (з константою дисоціації $K_d \leq 1 \mu\text{M}$) у білку смуги 3 та протеїнкіназах SYK і LYN – за результатами аналізу послідовностей в програмі HeMoQuest

Table 2. Putative heme binding sites (with a dissociation constant $K_d \leq 1 \mu\text{M}$) in the protein band 3 and protein kinases SYK and LYN – according to the results of sequence analysis in HeMoQuest program

Сайт зв'язування	Нонапептид	Заряд	K_d	Ділянка білку	
SLC4A1	His47	ATDYHTTSH	+1	0,56	Цитозольний домен
	Tyr58	THKVYVELQ	+1	0,1	
	His161	LLLKHSAG	+3	0,06	
	Tyr818	KPPKYHPDV	+2	0,26	Мембранний домен, цитозольна петля між TM12 і TM13
	His819	PPKYHPDVP	+1	0,28	
SYK	His62	GRKANHHTI	+4	0,42	SH2 домен 1
	His170	MPWFHGGKIS	+2	0,98	SH2 домен 2
	Tyr216	KVLHYRIDK	+3	0,19	Інтердомен В
	Cys259	LTVPCQKIG	+1	0,71	
	His303	PKPGHRKSS	+4	0,44	
	Tyr364	PKEVYLDRK	+1	0,79	
	Tyr459	PLNKYLQQN	+1	0,53	Протеїнкіназний домен
	His465	QQNRHVKDK	+3	0,49	
	Cys593	ERMGCAPAGC	0	0,96	
LYN	His299	KTLQHDKLV	+2	0,88	Протеїнкіназний домен
	Tyr306	LVRLYAVVT	+1	0,17	
	Cys419	INFGCFTIK	+1	0,47	
	Tyr444	GKIPYPGRT	+2	0,25	

Окрім того, були виявлені декілька нонапептидів із середньою потенційною афінністю до гему ($1 \mu\text{M} < K_d < 5 \mu\text{M}$) із центрами у His98 (WGRPHLSHL, $K_d = 3,64$) і Tyr392 (RRYPYYLSD, $K_d = 1,25$) цитозольного домену, а також сайти мембранного домену – у зовнішній петлі між TM5 і TM6 – His547 (IFQDHPLQK, $K_d = 1,86$), Tyr553 (LQKTYNYNV, $K_d = 1,34$) і Tyr555 (KTYNYNVLM, $K_d = 2,94$), у цитозольній петлі між TM6 і TM7 – Tyr596 (KNSSYFPGK, $K_d = 1,48$) і сайт у TM13 – His834 (TWRMHLFTG, +2, $K_d = 1,68$). Слід зазначити, що залишки His98, Tyr553 і Tyr555 також були передбачені як сайти зв'язування гему і за даними HemeBind.

Найбільша кількість потенційних гем-зв'язувальних мотивів була передбачена для кінази SYK. Слід зазначити, що протеїнкінази SYK і LYN належать до родини Src-кіназ, для яких експериментально встановлено регуляторний вплив гему (Yao et al., 2010), але участь цистеїнових або інших специфічних мотивів у зв'язуванні гему кіназами Src не виявлена.

Аналіз олігомерних комплексів з білком SLC4A1. Оскільки доступність амінокислотних залишків у просторовій структурі має першорядне значення для взаємодії з лігандами, був проведений аналіз структур білків, в тому числі моделювання олігомерних комплексів білку смуги 3 з кіназами. При аналізі димеру білку SLC4A1 (модель 4YZF) за допомогою програми SwissPDB Viewer виявлені залишки амінокислот на контактній поверхні двох мембранних доменів (відстані 5Å від другого ланцюга), серед яких залишки 548–551, 568–576, 595–602, 624–627 та 810–818. Більшість цих залишків входить до ділянки 559–630, яка, за даними UniProt, задіяна у транспорті аніонів. Отже функціонування білка як аніонного переносника, вочевидь, можливо лише за умов формування димеру. Слід зазначити, що за даними UniProt мембранний домен також містить короткі ділянки, які контактують з цитозолем і позаклітинним простором, що враховувалось далі для визначення взаємного розташування мембранного та цитозольного доменів.

Для аналізу ділянок взаємодії SLC4A1 та кіназ був проведений молекулярний докінг білків у програми ZDOCK. Далі були відібрані моделі, в яких протеїнкіназа була розташована своїм каталітичним сайтом найближче до ділянок фосфорилювання білку смуги 3. Так, у варіанті комплексу цитозольного домену білку смуги 3 та кінази SYK контактними ділянками з боку SLC4A1 були амінокислотні залишки з N-кінця (4KY9, ланцюг A), а з боку SYK (4FL2) контактна поверхня містила залишки в районі активного центра ферменту – Asp494 (протонний акцептор). Ділянки контакту, передбачені для комплексу білка смуги 3 і кінази LYN, з боку ланцюга A (білок смуги 3) містили залишки на C-кінці (345–350), а з боку LYN – поруч з активним центром фермента Asp238 (протонний акцептор).

Молекулярний докінг з гемом SLC4A1, SYK і LYN. Молекулярний докінг проводився за допомогою двох сервісів, PatchDock і SwissDock, які використовують різні алгоритми. При аналізі результатів віддавали перевагу моделям, в яких гем був приєднаний до амінокислотних залишків з найбільшою спорідненістю до гему і які можуть входити до гем-регуляторних мотивів.

Розрахунки у PatchDock виявили в цитозольному домені SLC4A1 ділянки потенційного зв'язування гему в обох ланцюгах біля гістидину 192, який локалізований близько до поверхні білка. При використанні структури 4KY9 His192 виявився на найкоротшій відстані (3,37 Å) від атому заліза гему (табл. 3).

У моделі 1HYN залишками поруч із гемом виявилися Pro190, Gln191, His192, Ser193, Ser194, Ile276, Asp277, Tyr278, Thr279, Gln280 та Arg345. Найближчим до Fe²⁺ (на відстані 2,14 Å) у моделі 1HYN аналогічно виявився His192. Зазначимо, що гістидин 192 також був передбачений для зв'язування гему програмою HemeBind, але цей залишок не входить до жодного потенційного гем-зв'язувального мотиву з 9-ти амінокислот (нонапептиду) за даними HeMoQuest (табл. 2). У моделі 4YZF гем потрапив у центральну частину ланцюга A мембранного домену білка смуги 3, де поруч з ним виявилися залишки заряджених (Lys251, Lys324, Glu377) і гідрофобних амінокислот (Leu253, Met322, Ala323), але лише тирозин (Tyr321) міг би забезпечити достатньо стабільний зв'язок з гемом. Спорідненість гістидину, тирозину, цистеїну до молекули гему було встановлено на основі досліджень багатьох природних гем-зв'язувальних білків та гемопротеїнів (Wißbrock et al., 2019).

Отже, молекулярний докінг білку SLC4A1 з гемом виявив сайт зв'язування у порожнині між His192 (також передбачений HemeBind) і ділянкою 173–176 у структурі цитозольного домену (4KY9 і 1HYN), в тому числі у складі змодельованого комплексу з кіназами SYK або LYN. Слід зазначити, що ділянка 175–185 відома як сайт зв'язування анкірину. Докінг гему до мембранного домену (4YZF) виявив потенційний сайт зв'язування біля Lys539 у TM5, що, за даними літератури, належить до одного з реактивних центрів, чутливих до інгібітору аніонного транспорту DIDS.

При проведенні докінгу білка SYK з гемом за допомогою програми PatchDock при аналізі 20 найбільш вірогідних моделей зв'язування було виявлено 3 варіанти приєднання гему до 4FL2 (табл. 3). Слід відзначити два потенційні сайти зв'язування в ділянках 62–64 та 243–246, які містять амінокислоти з високою афінністю до гему (His62, His63, Tyr64, His243 і Tyr246) і просторово розташовані біля інтердомену A на певній відстані від активного центру ферменту. За даними

UniProt (<https://www.uniprot.org/uniprot/P43405#function>) інтердомени кінази SYK функціонують як аутоінгібітори через зв'язування із ділянками каталітичного домену для підтримання його неактивної конформації. Активація відбувається за умов фосфорилування, в тому числі іншими кіназами родини Src, такими як LYN. При проведенні докінгу з використанням файлу, де була видалена молекула АТФ, гем займав саме ділянку зв'язування нуклеотиду у порожнині біля Lys402 і His531, причому показники енергії зв'язування збільшувались (табл. 3, рис. 1).

Таблиця 3. Характеристики потенційних сайтів зв'язування гему білку смуги 3 та протеїнкіназ SYK і LYN за даними PatchDock (розрахунок для 10 моделей з найвищими балами)
Table 3. Characteristics of putative heme binding sites in band 3 protein and protein kinases SYK and LYN according to PatchDock (calculations for 10 models with the highest scores)

Білок	PDB ID	Показник енергії зв'язування	Показник площі контакту	Потенційні сайти зв'язування гему
SLC4A1 (цитозольний домен)	4KY9 (димер)	6770–6260	928–807	Glu63, Leu64, Val65, Val173, Lys174, Pro175, His192, Ser193, Ser194
	1HYN (тетрамер)	6788–6156	828–766	Pro190, Gln191, His192, Ser193, Ser194, Ile276, Asp277, Tyr278, Thr279, Gln280, Arg345
SLC4A1 (мембранний домен)	4YZF	6316–5968	870–726	Ділянка в ТМ1 (Thr422, Phe423, Leu426), Ser465 і ділянка в ТМ3 (Gly466, Pro467, Leu469), ділянка в ТМ5 (Ile531, Glu535, Lys539)
SYK	4FL2 (з АТФ)	6126–5892	863–765	His62, His63, Tyr64, Thr65, Ile76, Gly98, Leu99, Val100, His243, Cys597, Arg625
	4FL2 (без АТФ)	6542–5996	821–772	Leu377, Ser379, Asn381, Val385, Lys402 (сайт зв'язування АТФ), Pro455, Asn457, Lys458, Leu501, His531
LYN (протеїнкіназний домен)	5XY1 (з інгібітором)	5604–5366	746–683	Lys251, Leu253, Tyr321, Met322, Ala323, Lys324, Gly325, Glu377
	5XY1 (без інгібітора)	6306–5622	778–763	Leu253, Gly254, Val261, Lys275 (сайт зв'язування АТФ), Asp372, Val373, Leu374, Gly325, Ser326, Asp329, Ala384, Asp385

При проведенні докінгу з гемом білка LYN з використанням вихідної структури 5XY1, що містила молекулу інгібітору (похідне піперазину), у 20 найбільш вірогідних моделях було виявлено 2 варіанти приєднання гему. Із усіх можливих варіантів зв'язування поруч з гемом виявилися залишки: Lys251, Leu253, Tyr321, Met322, Ala323, Lys324, Gly325, Glu377. Аналогічно докінгу з іншою протеїнкіназою, за умов видалення інгібітору з файлу pdb гем займав його ділянку (для LYN – біля Glu290 і Ala371), що значно збільшувало енергію зв'язування та площу контакту (табл. 3, рис. 2).

Порівняння результатів докінгу дозволяє зробити висновок, що за рівнем енергії зв'язування та площею контактних поверхонь, в умовах накопичення гему краще і скоріше зв'язувати гем буде білок смуги 3, але активні центри кіназ можуть конкурувати за гем, особливо за умов дефіциту АТФ. Найменша сила взаємодії передбачається для кінази LYN за умов зайнятого інгібітором активного центру.

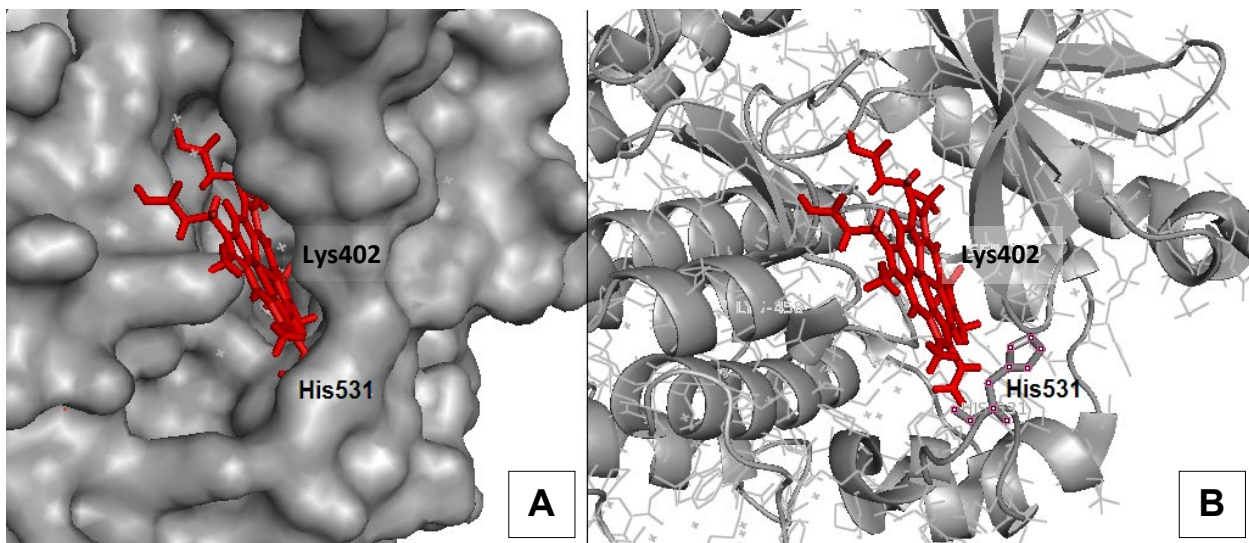


Рис. 1. Сайт зв'язування гему у моделі кінази SYK (4FL2) біля His531 і сайту зв'язування АТФ Lys402: А – показана поверхня білку SYK, В – модель з елементами вторинної структури (із збереженням проєкції)

Fig. 1. The heme binding site in SYK kinase model (4FL2), located near His531 and ATP-binding site Lys402: A – SYK protein is shown with the surface, B – with elements of the secondary structure (in the same projection)

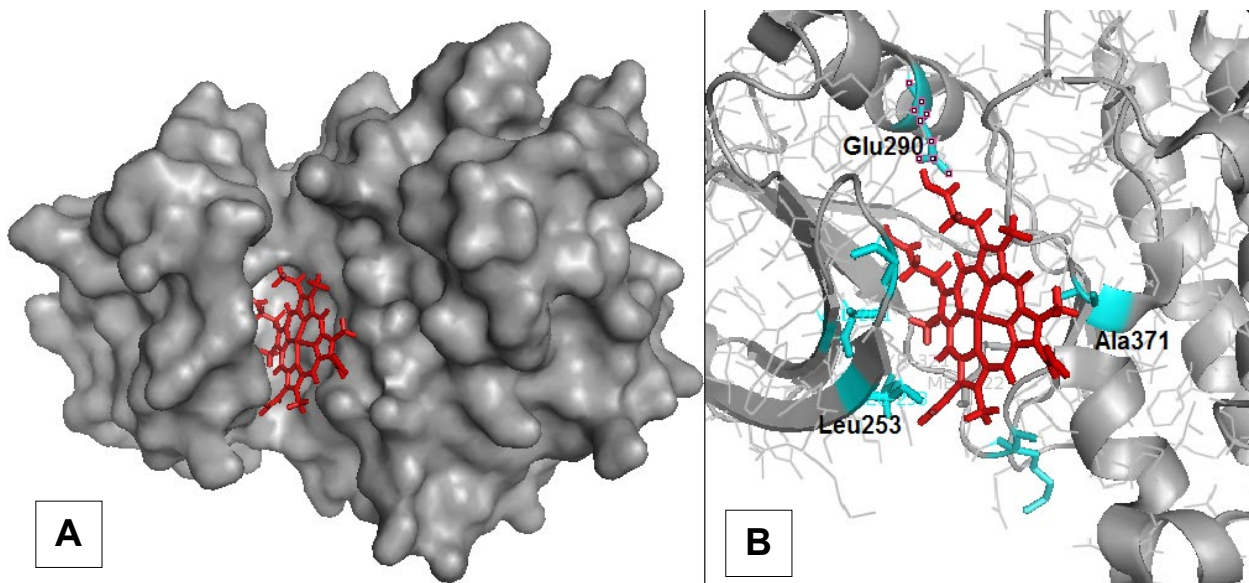


Рис. 2. Сайт зв'язування гему у моделі кінази LYN (5XY1) у ділянці зв'язування інгібітору біля Glu290, Ala371, Leu253: А – показана поверхня білку LYN, В – модель з елементами вторинної структури (зі збереженням проєкції)

Fig. 2. Heme binding site in the LYN kinase model (5XY1) in the site of inhibitor binding – near Glu290, Ala371, Leu253: A – LYN protein is shown with the surface, B – with elements of the secondary structure (in the same projection)

Для додаткового аналізу можливих сайтів зв'язування в якості другого інструменту докінгу був використаний сервер SwissDock. Цей сервіс має обмеження на завантаження білків за

кількістю атомів в молекулі рецептора, тому для SwissDock не використовували моделі 1HYN та 4YZF, які є тетрамерами та мають значні розміри. Для білка SLC4A1 (4KY9) алгоритмами SwissDock було передбачено значно більше, ніж за розрахунками PatchDock, потенційних варіантів зв'язування геміну, але серед них найбільше були представлені саме ділянки біля His192.

При проведенні докінгу SYK з геміном окрім гістидинів 62 і 63 було передбачено додаткову ділянку зв'язування біля Tyr546 і Tyr547, які, за даними SwissDock, розташовані на відстанях відповідно 6,02 Å та 4,04 Å від атому заліза гема, що достатньо для утворення стабільного зв'язку. При проведенні докінгу білка LYN з геміном за допомогою SwissDock було передбачено взаємодію білків у тій же ділянці, що розрахована PatchDock, – в оточенні Phe258, Glu320, Tyr321, Met322, хоча тирозин виявився на відстані більше 6 Å, що не може забезпечити стабільну взаємодію. Слід зазначити, що для докінгу сервери використовували різні файли лігандів – гем у форматі pdb для PatchDock і геміну у форматі mol2 для SwissDock.

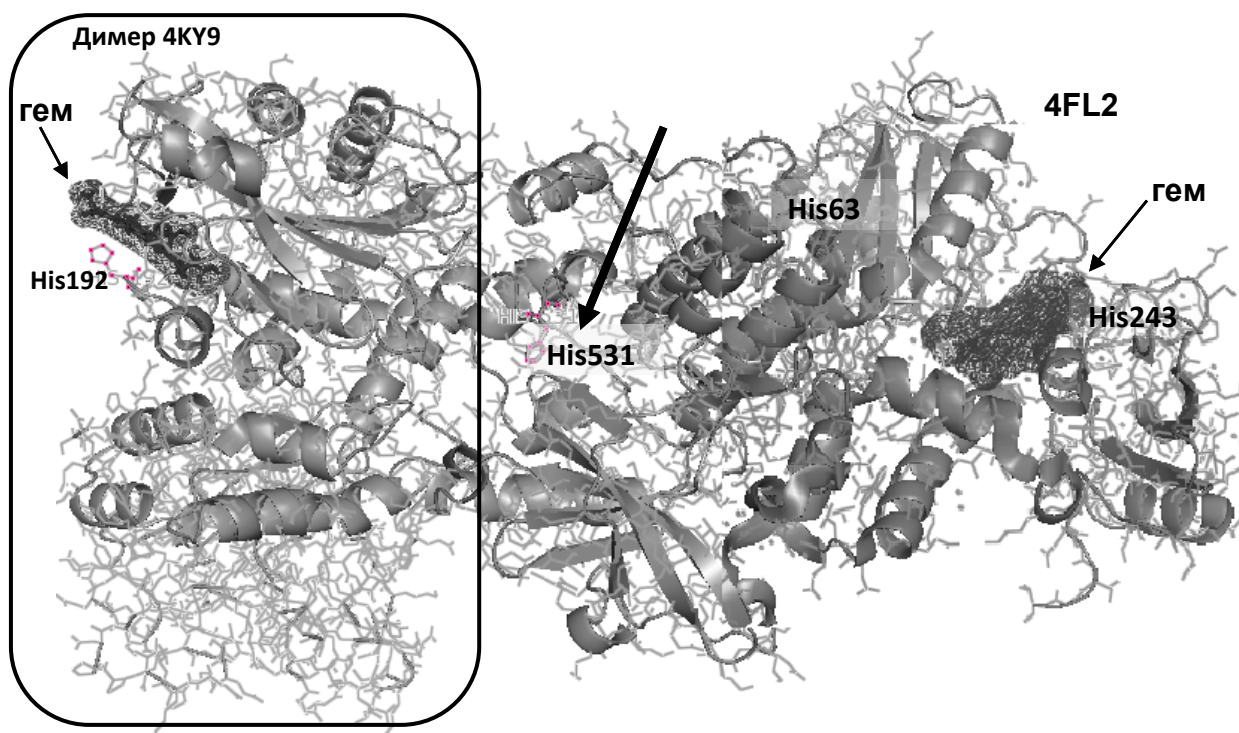


Рис. 3. Найбільш вірогідні сайти зв'язування гему у комплексі цитозольного домену SLC4A1 з протеїнкіназою SYK. Ліворуч – модель 4KY9 із вказаним His192 в субодиниці ASLC4A1, як сайт зв'язування гему. Праворуч – модель 4FL2 із вказаним His243 у сайті зв'язування гему та His531 біля активного центру ферменту SYK

Fig. 3. The most probable sites of heme binding in the complex of the cytosolic domain SLC4A1 with the protein kinase SYK. On the left – model 4KY9 with heme near His192 in A subunit of SLC4A1. On the right – the 4FL2 model with heme near His243 and His531 in proximity to the active site of the SYK enzyme

Докінг гема з комплексами білка SLC4A1 з SYK або LYN. Якщо комплекс білків вже утворився на момент початку гемолізу, сайти зв'язування гему можуть відрізнятися від ділянок для мономерних білків або окремих компонентів комплексів, окрім того може спостерігатись пряма конкуренція сайтів за зв'язування гему (рис. 3). Тому представляло інтерес моделювання взаємодії гему з комплексами білків, які були змодельовані на першому етапі дослідження. Для докінгу відбирались моделі, які мають мінімальні відстані між активним сайтом кіназ і сайтом

фосфорилування у ланцюгу білку смуги 3, також враховували взаємну орієнтацію цитозольного і мембранного домену. Були проаналізовані комплекси білку SLC4A1 на основі PDB ID 4ky9, кіназа SYK була представлена структурою 4fl2, а кіназа LYN – PDB ID 5xy1.

Лише для кінази LYN показана взаємодія гему поруч з місцем контакту з білком смуги 3. В інших моделях гем приєднується лише до одного ланцюга – або білку смуги 3, або до протеїнкінази. Сайти зв'язування частіше передбачаються на SLC4A1 поруч з His192. У більшості моделей комплексів білок смуги 3 був більш вірогідним сайтом зв'язування гему, ніж протеїнкінази LYN і SYK. Але вільні кінази із відкритими активними центрами можуть зв'язувати гем замість субстрату, що буде заважати утворенню комплексу і фосфорилуванню. Якщо узагальнити результати докінгу гему з білковими комплексами, то цитозольний домен білку смуги 3 виявився більш привабливою мішенню для гему, ніж протеїнкінази. Якщо кінази не зв'язують гем в активному центрі, то залишається можливість нормальної взаємодії з білком смуги 3 і його фосфорилування.

Згідно з результатами проведеного аналізу, сайти зв'язування гему можуть бути розташовані переважно у цитозольному та мембранному доменах білку смуги 3, що буде інгібувати його активність та порушувати мембрано-цитоскелетні взаємодії. Гем може зв'язатись безпосередньо з активним сайтом аніонного транспорту у мембранному домені. Зв'язування гему з протеїнкіназами більш вірогідно за умов дефіциту АТФ і наявності вільного активного центру або внаслідок ускладнення формування комплексів кіназ із SLC4A1.

Отже, функціонування білку смуги 3 в умовах гемолізу може бути під прямим впливом молекули гему, який з боку цитоплазми може порушувати регуляторні функції цитозольного домену, в тому числі ускладнювати утворення комплексів з білками цитоскелету. Якщо гем надходить до клітини із боку плазми крові, він може потрапляти до мембранного домену білку смуги 3 та інгібувати транспорт аніонів. Додатковим механізмом зниження стабільності еритроцитів за умов накопичення гему може явитись модуляція активності протеїнкіназ SYK і LYN, що задіяні у регуляції аніонного обмінника SLC4A1.

Висновки

1. За умов внутрішньосудинного гемолізу і надходження вільного гему з кров'яного русла транспортна функція білку смуги 3 може порушуватись під впливом прямого зв'язування гему із мембранним доменом.
2. При надходженні з боку цитоплазми за умов деградації гемоглобіну гем може взаємодіяти із цитозольним доменом і заважати утворенню комплексів SLC4A1 із цитоскелетними білками, насамперед анкірином.
3. У складі комплексу із протеїнкіназами SYK і LYN, якщо вони мають АТФ в активному центрі, білок смуги 3 є більш вірогідною мішенню для гему. Відсутність АТФ значно збільшує ймовірність зв'язування гему протеїнкіназами та інгібування їхньої каталітичної активності.

Список літератури / References

- Belcher J.D., Beckman J.D., Balla G. et al. (2010). Heme degradation and vascular injury. *Antioxid. Redox Signal*, 12(2), 233–248. <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2822>
- Brunati A.M., Bordin L., Clari G. et al. (2000). Sequential phosphorylation of protein band 3 by SYK and LYN tyrosine kinases in intact human erythrocytes: identification of primary and secondary phosphorylation sites. *Blood*, 96(4), 1550–1557. <https://doi.org/10.1182/blood.V96.4.1550>
- Chang H.C., Huang D.Y., Wu M.S. et al. (2017). Spleen tyrosine kinase mediates the actions of EPO and GM-CSF and coordinates with TGF- β in erythropoiesis. *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res.*, 1864(4), 687–696. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.01.014>
- Chu H., Low P.S. (2006). Mapping of glycolytic enzyme-binding sites on human erythrocyte band 3. *Biochem J.*, 400(1), 143–151. <https://doi.org/10.1042/BJ20060792>
- Grey J.L., Kodippili G.C., Simon K., Low P.S. (2012). Identification of contact sites between ankyrin and band 3 in the human erythrocyte membrane. *Biochemistry*, 51(34), 6838–6846. <https://doi.org/10.1021/bi300693k>

- Grosdidier A., Zoete V., Michielin O. (2011). SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS. *Nucleic Acids Res.*, 39 (Web Server issue), W270–277. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr366>
- Johansson M.U., Zoete V., Michielin O., Guex N. (2012). Defining and searching for structural motifs using DeepView/Swiss-PdbViewer. *BMC Bioinformatics*, 13:173. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-173>
- Kodippili G.C., Spector J., Hale J. et al. (2012). Analysis of the mobilities of band 3 populations associated with ankyrin protein and junctional complexes in intact murine erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, 287(6), 4129–4138. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.294439>
- Liu R., Hu J. (2011). HemeBIND: a novel method for heme binding residue prediction by combining structural and sequence information. *BMC Bioinformatics*, 12(207), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-207>
- Pantaleo A., Ferru E., Pau M.C. et al. (2016). Band 3 erythrocyte membrane protein acts as redox stress sensor leading to its phosphorylation by p(72)Syk. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2016, 6051093. <https://doi.org/10.1155/2016/6051093>
- Paul George A.A., Lacerda M., Syllwasschy B.F. et al. (2020). HeMoQuest: A webserver for qualitative prediction of transient heme binding to protein motifs. *BMC Bioinformatics*, 21, 124. <https://doi.org/10.1186/s12859-020-3420-2>
- Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C. et al. (2004). UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *J. Comput. Chem.*, 25(13), 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- Pierce B.G., Wiehe K., Hwang H. et al. (2014). ZDOCK server: interactive docking prediction of protein-protein complexes and symmetric multimers. *Bioinformatics*, 30(12), 1771–1773. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu097>
- Reithmeier R.A., Casey J.R., Kalli A.C. et al. (2016). Band 3, the human red cell chloride/bicarbonate anion exchanger (AE1, SLC4A1), in a structural context. *Biochim. Biophys. Acta*, 1858(7 Pt A), 1507–1532. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.03.030>
- Roumenina L.T., Rayes J., Lacroix-Desmazes S., Dimitrov J.D. (2016). Heme: modulator of plasma systems in hemolytic diseases. *Trends Mol. Med.*, 22(3), 200–213. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.01.004>
- Schneidman-Duhovny D., Inbar Y., Nussinov R., Wolfson H.J. (2005). PatchDock and SymmDock: servers for rigid and symmetric docking. *Nucleic Acids Res.*, 33 (Web Server issue), W363–367. <https://doi.org/10.1093/nar/gki481>
- Slavova-Azmanova N.S., Kucera N., Louw A. et al. (2014). LYN kinase plays important roles in erythroid expansion, maturation and erythropoietin receptor signalling by regulating inhibitory signalling pathways that control survival. *Biochem J.*, 459(3), 455–466. <https://doi.org/10.1042/BJ20130903>
- Walder J.A., Chatterjee R., Steck T.L. et al. (1984). The interaction of hemoglobin with the cytoplasmic domain of band 3 of the human erythrocyte membrane. *J. Biol. Chem.*, 259(16), 10238–10346.
- Weber R.E., Voelter W., Fago A. et al. (2004). Modulation of red cell glycolysis: interactions between vertebrate hemoglobins and cytoplasmic domains of band 3 red cell membrane proteins. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 287(2), R454–464. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00060.2004>
- Welbourn E.M., Wilson M.T., Yusof A. et al. (2017). The mechanism of formation, structure and physiological relevance of covalent hemoglobin attachment to the erythrocyte membrane. *Free Radic. Biol. Med.*, 103, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.024>
- Wißbrock A., Paul George A.A., Brewitz H.H. et al. (2019). The molecular basis of transient heme-protein interactions: analysis, concept and implementation. *Biosci. Rep.*, 39(1), BSR20181940. <https://doi.org/10.1042/BSR20181940>
- Yao X., Balamurugan P., Arvey A. et al. (2010). Heme controls the regulation of protein tyrosine kinases Jak2 and Src. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 403(1), 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.10.101>
- Zhang L., Guarente L. (1995). Heme binds to a short sequence that serves a regulatory function in diverse proteins. *EMBO J.*, 14, 313–320. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb07005.x>

Search for putative heme binding sites in the integrated membrane protein of human erythrocytes SLC4A1 and protein kinases SYK and LYN

T.V. Barannik, M.E. Lebedieva

SLC4A1 protein or band 3 protein (band 3) is one of the most common erythrocyte membrane proteins. Along with the function of the anion exchanger, it contributes to the control of cell shape and lifespan through the formation of various complexes with cytoskeletal components and enzymes. Under oxidative stress, the protein oxidative modifications occur, in particular, due to the binding of hemoglobin aggregates, but the direct effect of heme as the major product of hemoglobin degradation on the band 3 protein activity has not been described in the literature. It is known that hemolytic conditions are accompanied by phosphorylation of the SLC4A1 protein, non-receptor tyrosine protein kinases LYN (by residue Y359), and SYK (by residues Y8 and Y21), while SYK kinase inhibitors have a stabilizing effect on erythrocytes. The regulatory effect of heme on Src kinases, which include SYK and LYN kinases, has been clarified, but the sites of their interaction with heme have not been investigated. Therefore, the aim of this study was to predict putative heme binding sites in the integral protein of the erythrocyte membrane SLC4A1, as well as in the protein kinases SYK and LYN and their complexes with SLC4A1, modeled *in silico*. Sequence analysis of proteins with HeMoQuest revealed several nonapeptides with potential heme binding sites in the SLC4A1 protein, including the cytosolic His98 and Tyr553 and Tyr555 residues in the region between the TM5 and TM6 transmembrane segments. These residues, as well as the amino acids Tyr216, His303, and His192, were also predicted as heme-binding sites by HemeBind tool. The largest number of putative heme binding sites was found for SYK protein kinase, including the two cytosolic residues Tyr216 and His303. Molecular docking of the SLC4A1 protein revealed a heme binding site in the cavity between His192 and region 173–176 in the cytosolic domain structure (PDB ID 4KY9 and 1HYN), also as part of a simulated complex with SYK or LYN kinases. It should be noted that site 175–185 is known as the ankyrin binding site. Docking heme to the membrane domain (PDB ID 4YZF) revealed a putative heme binding site near Lys539 in TM5, which, according to the literature, belongs to one of the reactive centers sensitive to the anionic transport inhibitor DIDS. Molecular docking to SYK protein kinase with ATP in the active site (PDB ID 4FL2) revealed two putative heme binding sites – near Tyr64 and near His243, but when ATP was removed from pdb-file, the heme occupied a nucleotide binding site in the cavity near Lys402 and His531. LYN protein kinase (PDB ID 5XY1) had a heme binding site near Tyr321 in the structure with inhibitor molecule (piperazine derivative). After removing the inhibitor, the heme occupied its area near Glu290 and Ala371. In most model complexes, the band 3 protein was revealed to be a more likely heme binding site than LYN and SYK protein kinases, but kinases with free active sites can apparently bind a heme instead of substrate, which will interfere phosphorylation. Disruption of band 3 protein under heme accumulation can inhibit an anion transport or complicate the formation of SLC4A1 complexes with cytoskeletal proteins that together with the effects on phosphorylation could be a mechanism for reducing erythrocyte stability.

Key words: SLC4A1, band 3 protein, phosphorylation, SYK, LYN, heme binding, erythrocytes, hemolysis, molecular docking, HeMoQuest, HemeBind.

About the authors:

T.V. Barannik – V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, tbarannik@karazin.ua, <http://orcid.org/0000-0002-8123-3871>

M.E. Lebedieva – V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, lebedievarharya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7314-0165>

Поиск потенциальных сайтов связывания гема в интегральном белке мембраны эритроцитов человека SLC4A1 и протеинкиназах SYK и LYN

Т.В. Баранник, М.Е. Лебедева

Белок SLC4A1, или белок полосы 3 (band 3) является одним из наиболее распространенных мембранных белков эритроцитов. Наряду с функцией анионного обменника он участвует в контроле формы и продолжительности жизни клеток, образуя различные комплексы с компонентами цитоскелета и ферментами. В условиях оксидативного стресса происходят окислительные модификации белка, в том числе вследствие связывания агрегатов гемоглобина. Однако прямой эффект гема как основного продукта распада гемоглобина на активность белка полосы 3 в литературе не описан. Известно, что гемолитические состояния сопровождаются фосфорилированием SLC4A1 нерецепторными тирозинпротеинкиназами LYN (по остатку Y359) и SYK (по остаткам Y8 и Y21), а ингибиторы киназы SYK оказывают стабилизирующее влияние на эритроциты. Показано регуляторное влияние гема на Src-киназы, к которым относятся киназы SYK и LYN, но

сайты их взаимодействия с гемом не установлены. В связи с вышесказанным, целью данной работы стал поиск потенциальных сайтов связывания гема в интегральном белке мембраны эритроцитов SLC4A1, а также в протеинкиназах SYK и LYN и их комплексах с SLC4A1, смоделированных *in silico*. Анализ последовательностей белков инструментом HeMoQuest выявил несколько нонапептидов с потенциальными гем-связывающими сайтами в белке SLC4A1, в том числе цитозольный His98 и остатки Tyr553 и Tyr555 в области между трансмембранными сегментами TM5 и TM6. Данные остатки наряду с аминокислотами Tyr216, His303 и His192, были также предсказаны как гем-связывающие сайты программой HemeBind. Наибольшее количество потенциальных сайтов связывания гема обнаружено у протеинкиназы SYK, среди них два цитозольных остатка Tyr216 и His303. Молекулярный докинг белка SLC4A1 выявил сайт связывания гема в полости между His192 и участком 173–176 в структуре цитозольного домена (PDB ID 4KY9 и 1HYN), в том числе в составе смоделированного комплекса с киназами SYK или LYN. Следует отметить, что участок 175–185 известен как сайт связывания с анкирином. Докинг гема к мембранному домену (PDB ID 4YZF) выявил потенциальный сайт связывания гема возле Lys539 в TM5, который, по литературным данным, относится к одному из реактивных центров, чувствительных к ингибитору анионного транспорта DIDS. Молекулярный докинг к протеинкиназе SYK с АТФ в активном сайте (PDB ID 4FL2) выявил два возможных сайта связывания гема – с Tyr64 и с His243, но при использовании pdb-файла после удаления АТФ гем занимал непосредственно участок связывания нуклеотида в полости возле Lys402 и His531. У протеинкиназы LYN (PDB ID 5XY1) показан сайт связывания гема у Tyr321 в случае, если структура содержала молекулу ингибитора (производное пиперазина). В условиях удаления ингибитора гем занимал его участок возле Glu290 и Ala371. В большинстве моделей комплексов белок полосы 3 был более вероятным сайтом связывания гема, чем протеинкиназы LYN и SYK, но свободные киназы с открытыми активными сайтами очевидно могут связывать гем вместо субстрата, что будет мешать фосфорилированию. Нарушение функционирования белка полосы 3 в условиях накопления гема может ингибировать транспорт анионов или затруднять образование комплексов белка SLC4A1 с белками цитоскелета, что наряду с влиянием на фосфорилирование может быть одним из механизмов снижения стабильности эритроцитов.

Ключевые слова: SLC4A1, белок полосы 3, фосфорилирование, SYK, LYN, гем, эритроциты, гемолиз, молекулярный докинг, HeMoQuest, HemeBind.

Об авторах:

Т.В. Баранник – Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, tbarannik@karazin.ua, <http://orcid.org/0000-0002-8123-3871>

М.Е. Лебедєва – Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, lebedievamarharyta@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7314-0165>

Подано до редакції / Received: 15.04.2021

Прорецензовано / Revised: 07.06.2021

Прийнято до друку / Accepted: 14.06.2021

Cite this article: Sokolik V.V., Levicheva N.O., Geiko V.V., Berchenko O.G., Shulga S.M. Modulating effect of liposomal miR-101 on the processes of amyloidogenesis, smell, sleep and neuroinflammation in experimental Alzheimer's disease. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology"*, 2021, 36, 16–27.

УДК: 577.2:616

Модулюючий вплив ліпосомальної miR-101 на процеси амілоїдогенезу, нюху, сну і нейрозапалення при експериментальній хворобі Альцгеймера В.В. Соколік, Н.О. Левічева, В.В. Гейко, О.Г. Берченко, С.М. Шульга

Існуюча терапія хвороби Альцгеймера не дає шансів пацієнтам на одужання. Тому актуальним є вивчення новітніх факторів впливу, зокрема мікроРНК, на патогенетичні механізми амілоїдозу. Метою роботи було визначення ефекту miR-101 на ранні предиктори амілоїдозу при експериментальній хворобі Альцгеймера у тварин. Дослідження було виконано на 25 щурах-самцях віком 14 міс. Модель хвороби Альцгеймера створювали шляхом інтрагіпокампального введення тваринам агрегатів A β ₄₀. Через 10 діб починали 10-добовий курс назального введення щурам miR-101 в ліпосомах. У супернатантах нервових тканин цільових структур головного мозку (гіпокамп, нюхові цибулини, нюхові бугри) визначали рівень ендogenous A β ₄₂ і цитокінів (TNF α , IL-6 і IL-10). Для оцінки функціонального стану нюхової системи була задіяна нейроетологічна методика пред'явлення запахів ізовалеріанової кислоти і арахісової пасти. В ході поліграфічної реєстрації циклу неспання-сон визначали представленість неспання і окремих фаз сну, а також частку завершених і завершених циклів сну у тварин. Показано, що введення агрегатів A β ₄₀ в гіпокамп моделює у щурів амілоїдогенний стан у гіпокампі і нюхових буграх, але не в нюхових цибулинах. Також був встановлений прозапальний стан у гіпокампі головного мозку тварин (збільшення концентрації прозапальних цитокінів TNF α і IL-6), тоді як у нюхових цибулинах і нюхових буграх їх рівень не змінювався. При дослідженні функціонального стану нюхового аналізатору у щурів з хворобою Альцгеймера були виявлені негативні зміни нюхової поведінки на запахи ізовалеріанової кислоти і арахісового масла. Щодо сомнограм, токсичність A β ₄₀ обумовлювала скорочення стадії глибокого повільного сну у поєднанні з дефіцитом фази парадоксального сну, а також переважання незавершених циклів сну. Назальна терапія miR-101 в ліпосомах нормалізувала рівень A β ₄₂ у гіпокампі і нюхових буграх та знизила у гіпокампі рівень прозапальних цитокінів. MiR-101 запобігала порушенню нюхової функції оцінювання запахів ізовалеріанової кислоти і арахісового масла та сприяла збільшенню представленості фаз глибокого повільного сну і парадоксального сну у структурі циклу, а також відновленню частки завершених циклів сну у тварин. Таким чином, ліпосомальна miR-101 має антиамілоїдогенний і протизапальний ефект у щурів з моделлю хвороби Альцгеймера, а також сприяє відновленню у них функціонального стану нюхового аналізатору та оптимізації структурної організації циклу неспання-сон.

Ключові слова: miR-101, β -амілоїдний пептид, цитокіни, хвороба Альцгеймера, нюх, сон, ліпосоми.

Про авторів:

В.В. Соколік – ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», вул. Академіка Павлова, 46, Харків, Україна, 61068, V.sokolik67@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-6829-2300>

Н.О. Левічева – ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», вул. Академіка Павлова, 46, Харків, Україна, 61068, nati-ki-le@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0003-2963-0762>

В.В. Гейко – ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», вул. Академіка Павлова, 46, Харків, Україна, 61068, vvgeiko@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-5891-1104>

О.Г. Берченко – ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», вул. Академіка Павлова, 46, Харків, Україна, 61068, berchenko.olga@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0003-4201-4542>

С.М. Шульга – ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», вул. Академіка Павлова, 46, Харків, Україна, 61068, Shulga5@i.ua, <http://orcid.org/0000-0003-1080-8583>

Вступ

Процеси регулювання на основі молекул мікроРНК визначають новий підхід до контролю впливу транскриптому на розвиток окремих патологій. МікроРНК (miRNA) – це невеликі некодуючі РНК, які складають 40 % всього транскриптому та забезпечують механізм посттранскрипційного регулювання експресії третини всіх генів (He, Hannon, 2004; Hatfield, Ruohola-Baker, 2008). У ссавців понад 90 % miRNA кодуються нуклеотидними послідовностями, які містяться в інтронах генів (Hammond, 2015). Після вирізання інтрону (400 пар нуклеотидів) з первинного транскрипту він утворює первинну мікроРНК (pri-miRNA). На наступному етапі pri-miRNA у ході Drosha-процесингу перетворюється на «шпильку» – послідовність pre-miRNA довжиною в 70 нуклеотидів. За допомогою експортину-5 pre-miRNA потрапляє до цитоплазми, де під час Dicer-процесингу розщеплюється на менші фрагменти, які трансформуються в зрілі miRNA (Kutter, Svoboda, 2008).

Посттранскрипційне інгібування експресії генів починається зі зв'язування miRNA з протеїновим комплексом RISC (RNA-induced silencing complex). Провідний ланцюг дуплексу miRNA вбудовується в цей комплекс протеїнів, які сприяють зв'язку miRNA з 3'-кінцем мРНК-мішені. MiRNA призводять до руйнування таргетної мРНК або пригнічення її трансляції. Спосіб припинення трансляції залежить від ступеня комплементарності областей miRNA і мРНК, які взаємодіють. Виокремлюють miRNA з проліферативною, фібробластичною, проангіогенною і антиангіогенною активністю, з прозапальним і проапоптотичним потенціалом, та miRNA, які модулюють процеси старіння, диференціювання, міжклітинної кооперації (Huang et al., 2011). Та якщо роль внутрішньоклітинних мікроРНК більш-менш зрозуміла, то фізіологічне значення циркулюючих форм цих молекул наразі залишається маловивченим. Перехід miRNA у кровообіг відбувається завдяки двом механізмам: «горизонтальному транспорту» – вивільнення miRNA з клітин за допомогою РНК-ліпопротеїнового комплексу або в складі мікровезикул та «пасивного транспорту» – у складі екзотом (Manna et al., 2020). Основна біологічна роль циркулюючих miRNA полягає в міжклітинній кооперації.

Приблизно 70 % відомих miRNA експресуються в мозку, і все більше доказів демонструють можливу участь miRNA у хворобі Альцгеймера (ХА) (Wu et al., 2016; Iranifar et al., 2019; Brito et al., 2020). Характерними симптомами ХА є прогресуюча втрата пам'яті та когнітивних функцій через відкладення депозитів β-амілоїдного пептиду (Аβ) у вигляді сенільних бляшок, внутрішньоклітинну агрегацію гіперфосфорильованого τ-протеїну, втрату синапсів, нейрозапалення та нейродегенерацію (Silva et al., 2019). Показано, що деякі специфічні miRNA, наприклад, miR-9, miR-29, miR-101, miR-107, miR-124, miR-298 та miR-328, сприяють зменшенню виробництва Аβ у разі активованої експресії відповідних генів у пацієнтів або у тварин з ХА, регулюючи у такий спосіб експресію BACE1 та/або протеїну попередника β-амілоїдного пептиду (АβPP) (Hebert et al., 2009; Long, Lahiri, 2011). Дані клінічних досліджень продемонстрували, що рівень miR-29/101 у периферичній крові хворих на амілоїдоз помітно знижений (Patel et al., 2008; Ma et al., 2016). Загалом відбувається узагальнення і систематизація різноспрямованих впливів miRNA на патогенез ХА (Silvestro et al., 2019; Kou et al., 2020) та дослідження їх впливів на ранні предиктори цієї патології.

Окремим питанням постає доставка екзогенної miRNA до нейронів головного мозку як регуляторної терапії ХА. Наночосії на основі ліпідів є найбільш широко використовуваними методами невірусної доставки (Zhang et al., 2013). Катіонні ліпіди з гідрофільними головками та гідрофобними хвостами формують комплекс з аніонною нуклеїновою кислотою, в результаті чого утворюється ліпоплекс (Pedroso de Lima et al., 2001). Ці катіонні ліпоплекси мають високу спорідненість із клітинною мембраною, вони не імуногенні та прості у виробництві (Dasgupta, Chatterjee, 2021). Більшість методів терапії *in vivo* на основі miRNA залежать від системних ін'єкцій, які є дорогими, мають низьку ефективність та можуть призвести до несприятливих побічних ефектів. Тому у нашому дослідженні було задіяне інтраназальне введення ліпосомальної форми miRNA, зокрема miR-101, для попередження її руйнації нуклеазами та успішного подолання гематоенцефалічного бар'єру.

Мета дослідження полягала у визначенні ефекту ліпосомальної miR-101 на ранні предиктори хвороби Альцгеймера у експериментальних тварин, а саме амілоїдогенез, цитокінову ланку нейрозапалення, функціональний стан нюхової сенсорної системи та структурно-функціональну організацію сну.

Матеріали і методи

Дизайн дослідження. Дослідження було виконано на 25 нелінійних білих щурах-самцях 14-місячного віку, масою від 450 до 520 г з віварію ДУ «Інститут неврології, психіатрії і наркології НАМН України». Тварини перебували при контрольованому 12-годинному циклі світло–темрява, стандартному кормі для гризунів і водопровідній воді. Щурів було розподілено до чотирьох груп: контрольна група – інтактні тварини ($n = 6$); група Аβ₄₀ (модель ХА) – щури через 20 діб після введення суспензії агрегатів Аβ₄₀ в гіпокамп ($n = 6$); група Аβ₄₀+L(miR-101) – щури, яким через 10 діб після введення Аβ₄₀ в гіпокамп наступні 10 діб інтраназально вводили miR-101 у ліпосомах ($n = 7$); група Аβ₄₀+L(0) – щури, яким через 10 діб після введення Аβ₄₀ в гіпокамп вводили інтраназально пусті ліпосоми протягом 10 діб ($n = 6$). Експериментальні протоколи для щурів були проведені відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів з тваринами» (Київ, 2011) та «Порядку проведення науковими установами дослідів та експериментів на тваринах» (№ 249 від 01.03.2012).

Модель хвороби Альцгеймера у тварин створювали шляхом інтрагіпокамपालного мікроін'єкційного введення 15 нмоль агрегатів Human beta Amyloid 1-40 protein (China Peptides Co., Ltd, China) у 10 мкл водної суспензії, як детально наведено у попередній публікації (Sokolik et al., 2017). Стереотаксичні операції у тварин проводили під загальним наркозом, використовуючи тіопентал натрію внутрішньочеревно у дозі 50 мг/кг маси тіла. Наразі в підґрунті експериментального моделювання хвороби Альцгеймера лежать три підходи: трансгенні тварини з додатковою експресією гену *AβPP* людини (Drummond, Wisniewski, 2017); доставка екзогенних токсичних олігомерів Аβ до цільових відділів головного мозку: шлуночки мозку, базальні ядра Мейнерта, гіпокамп, нюхові цибулини, передні відділи неокортексу (Степаничев и др., 2016; Колобов, Сторожева, 2014; Lobzin et al., 2017); а також руйнування ділянок неокортексу або гіпокампу фізичними (електрокоагуляція) або хімічними (вплив алюмінію, органічних сполук ртуті та ін.) способами. Відомо, що у пацієнтів з ХА саме нейрони гіпокампу більш за все потерпають від токсичності олігомерів Аβ, які згодом утворюють сенільні бляшки, характерні для амілоїдогенної патології (Mukhin, 2013). Тому інтрагіпокамपालне введення агрегатів Аβ у тварин є адекватною і верифікованою моделлю ХА.

Через 10 діб після створення моделі ХА починали назальне введення miR-101-3p (ООО «НПФ «Синтол», РФ) у ліпосомах тваринам з групи Аβ₄₀+L(miR-101) та пустих ліпосом щурам з групи Аβ₄₀+L(0). Нуклеотидна послідовність miR-101 була наступною: 5'UACAGUACUGUGUAACUGAA3'. Концентрація miR-101 у суспензії ліпосом становила $12,5 \times 10^{18}$ молекул на літр. Ліпосоми створювали методом ліпідних плівок (Shulga, 2014) із лецитину соняшнику "BIOLER" (Дніпро, Україна). Діаметр ліпосом (100 нм) калібрували в екструдері "LiposoFast-Basic LF-1" (Avestin, Канада) з полікарбонатними мембранами, розмір отворів у яких складав 0,1 мкм. За 10 сеансів терапії кожна тварина з групи Аβ₄₀+L(miR-101) отримала $2,5 \times 10^{14}$ молекул miR-101, об'єм разової порції ліпосомальної суспензії складав 20 мкл. Дослідження впливу саме miR-101 було обрано тому, що вона є ключовим оператором функції матричної РНК (мРНК) для протеїну попередника β-амілоїдних пептидів (AβPP) внаслідок формування комплексу [miR-101·мРНК^{AβPP}] з подальшою його деактивацією і тому здатна пригнічувати синтез АβPP та його амілоїдогенний процесинг.

Через 10 діб назальної терапії ліпосомальною miR-101 або пустими ліпосомами (20-а доба експерименту) тварин декапітували і в супернатантах нервових тканин окремих структур головного мозку (гіпокамп, нюхові цибулини, нюхові бугри) визначали рівень ендogenous токсичного β-амілоїдного пептида 42 (Aβ₄₂) та цитокінів (TNFα, IL-6 і IL-10).

Тестування нюхової сенсорної системи. Для оцінки функціонального стану нюхової системи була задіяна нейроетологічна методика пред'явлення позитивних нюхових одорантів: запах ізовалеріанової кислоти та запах арахісової пасти (Мельник и др., 2012; Witt et al., 2009; Brai, Alberi, 2015). Молярні концентрації розчинів ізовалеріанової кислоти для визначення нюхової чутливості щурів перебували в інтервалі від 10^{-2} моль/л до 10^{-7} моль/л з кроком 10^{-1} моль/л. Тестовані концентрації арахісової пасти в соняшниковій олії складали 50 % і 20 %. Проведенню дослідження передувало період адаптації тварин до експериментальної камери протягом 5 хв. Розчин ізовалеріанової кислоти або суспензію арахісового масла в об'ємі 0,1 мл наносили на клаптик фільтрувального паперу, який розташовували на відстані 45 см від місця знаходження тварини. Оцінку дистантної хеморецептивної чутливості до одорантів проводили протягом 5 хв. Визначали латентний період виявлення запаху, час дослідницької реакції запаху, кількість підходів до одоранту.

Вивчення структурно-функціональної організації сну. Електроенцефалографії сну щурів передувало імплантації довгострокових ніхромових електродів у скляній ізоляції з діаметром неізольованого кінчика 0,1 мм у структури головного мозку щурів (нюхові цибулини, мезенцефалічна ретикулярна формація середнього мозку, гіпокамп (поле CA1)) відповідно до їх координат (Буреш и др., 1962). Кіркові ніхромові електроди розташовували епідурально в лобно-скроневій зоні мозку, індіферентний електрод – у кістці носової пазухи. Сталеві міографічні електроди вводили в зону верхнього косоного м'яза шиї. Стереотаксичні операції здійснювали в стерильних умовах під тіопенталовим наркозом.

Поліграфічну реєстрацію сну проводили у період помірної емоційної активності щурів (з 10.00 до 15.00) за умов природного освітлення (Берченко, 1982, 1990). Електроенцефалограми (ЕЕГ) та міографи у біполярних відведеннях записували з використанням діагностичного комплексу «Нейрон-Спектр». За електроенцефалографічними, електроміографічними та поведінковими характеристиками ідентифікували неспанья та окремі фази сну: парадоксальний сон (ПС),

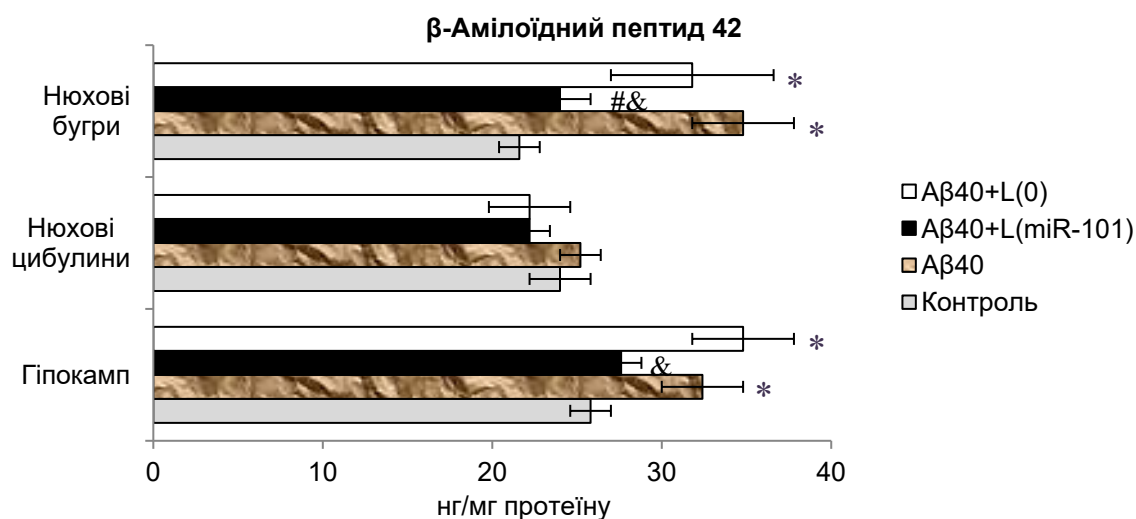
поверхневий повільний сон (ППС) і глибокий повільний сон (ГПС) та визначали їх відсотковий вміст (Кассиль, 1993). На основі циклограм сну встановлювали долю незавершених (редукованих, позбавлених фази парадоксального сну) та завершених циклів від загальної кількості циклів сну у відсотках.

Імуноферментний аналіз біохімічних показників. Рівень $A\beta_{42}$ і цитокінів (TNF α , IL-6 і IL-10) вимірювали за допомогою наборів реагентів Rat Amyloid beta peptide 1-42 ELISA Kit (Bioassay Technology Laboratory, China) і Rat ELISA Kits (Invitrogen BCM Diagnostics, USA) для цитокінів та виражали у нанограмах на міліграм протеїну (нг/мг для $A\beta_{42}$) і у пікограмах на міліграм протеїну (пг/мг для цитокінів). Абсорбцію зразків зчитували мікропланшетним аналізатором GBG Stat FAX 2100 (USA) при $\lambda = 450$ нм з корекцією довжини хвилі при $\lambda = 630$ нм. Вміст загального протеїну визначали методом Lowry (Lowry et al., 1951).

Статистичний аналіз. Проведено статистичний аналіз отриманих результатів, обчислено середні значення і стандартні відхилення. Статистичний аналіз відмінностей проводили з використанням *t*-тесту Стьюдента за умов з'ясування нормальності розподілу даних у вибірці. За умов множинного порівняння середніх значень груп *P* було скориговане за допомогою поправки Бонферроні. При обмеженні лише п'ятьма порівняннями: між групами Контроль і $A\beta_{40}$, Контроль і $A\beta_{40}+L(miR-101)$, Контроль і $A\beta_{40}+L(0)$, $A\beta_{40}$ і $A\beta_{40}+L(miR-101)$ та $A\beta_{40}+L(miR-101)$ і $A\beta_{40}+L(0)$ статистичний рівень значущості становив $P \leq 0,01$.

Результати і обговорення

Антиамілоїдогенна дія ліпосомальної miR-101. Показано, що введення агрегатів $A\beta_{40}$ в гіпокамп моделює у щурів амілоїдогенний стан через 20 діб у гіпокампі і нюхових буграх (вірогідне збільшення концентрації $A\beta_{42}$ на 26 % у гіпокампі та на 61 % у нюхових буграх), тоді як у нюхових цибулинах рівень $A\beta_{42}$ вірогідно не змінювався (рис. 1).



* $P \leq 0,01$ порівняно до Контролю;

$P \leq 0,01$ при зіставленні груп $A\beta_{40}$ і $A\beta_{40}+L(miR-101)$;

& $P \leq 0,01$ при зіставленні груп $A\beta_{40}+L(miR-101)$ і $A\beta_{40}+L(0)$

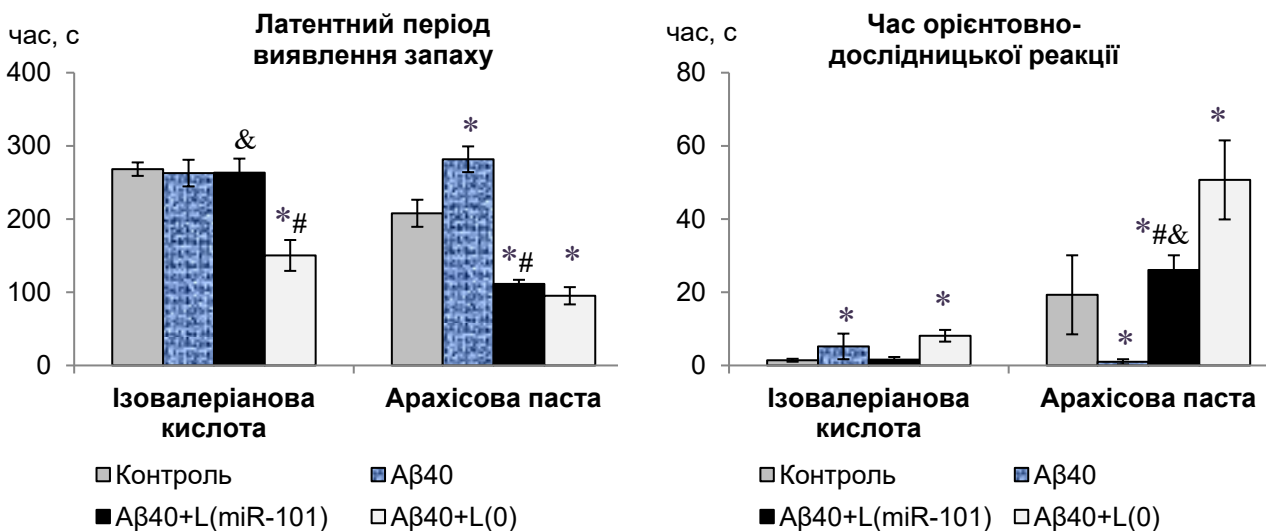
Рис. 1. Антиамілоїдогенний вплив назальної терапії miR-101 в ліпосомальній формі у щурів з експериментальною моделлю хвороби Альцгеймера. Контроль – інтактні тварини ($n = 6$); $A\beta_{40}$ – модель хвороби Альцгеймера ($n = 6$); $A\beta_{40}+L(miR-101)$ – щури з моделлю хвороби Альцгеймера та подальшою терапією miR-101 у ліпосомах ($n = 7$); група $A\beta_{40}+L(0)$ – щури з моделлю хвороби Альцгеймера та подальшою терапією пустими ліпосомами ($n = 6$)

Fig. 1. Anti-amyloidogenic effect of nasal therapy with miR-101 in liposomal form in rats with an experimental model of Alzheimer's disease. Control – intact animals ($n = 6$); $A\beta_{40}$ – model of Alzheimer's disease ($n = 6$); $A\beta_{40} + L (miR-101)$ – rats with a model of Alzheimer's disease and subsequent miR-101 therapy in liposomes ($n = 7$); group $A\beta_{40} + L(0)$ – rats with a model of Alzheimer's disease and subsequent therapy with empty liposomes ($n = 6$)

Десятиденний курс назальної терапії miR-101 в ліпосомальній формі, який починали через 10 діб після створення експериментальної моделі ХА, специфічно, тобто вірогідно порівняно з пустими ліпосомами, нормалізував рівень A β ₄₂ у цих структурах. У нюхових цибулинах вміст A β ₄₂ не змінювався (рис. 1). Враховуючи те, що A β PP і A β є основними учасниками патогенезу хвороби Альцгеймера, зниження надлишкової експресії A β PP повинно пом'якшити патологічні процеси, що лежать в основі амілоїдозу. Отже, miR-101 може стати новою мішенню для терапевтичної модуляції рівнів A β PP. Можна припустити, що або пряма доставка екзогенної miR-101 у ЦНС, або регуляція її ендогенної експресії повинні зменшити рівні A β PP у мозку хворих. В роботі (Long, Lahiri, 2011) було показано, що miR-101 експресується з двох незалежних геномних локусів, які містяться в міжгенних областях на хромосомі 1 і хромосомі 9. Промоторні елементи, які регулюють транскрипцію miR-101, детально не досліджено. Тому назальна терапія екзогенною miR-101 в ліпосомальній формі може бути перспективною у терапії ХА пацієнтів.

Отже, виявлена антиамілоїдогенна дія miR-101 може мати вторинні впливи на процеси навчання, нюху і нейрозапалення (ранні предиктори розвитку амілоїдозу) у щурів з експериментальною моделлю хвороби Альцгеймера.

Нормалізуючий вплив ліпосомальної miR-101 на чутливість щурів з моделлю хвороби Альцгеймера до позитивних одорантів. Нюх відіграє ключову роль у запуску і формуванні різних форм поведінки тварин: статевої, харчової, агресивної, дослідницької. В процесі хемокомунікації важливе значення мають запахи, які сигналізують про гормональний статус тварини, її ієрархічне положення та інше, що є важливим для видів, які утворюють складні соціальні спільноти. До таких одорантів належить запах ізовалеріанової кислоти (Мельник, 2007). Запах арахісового масла для тварин також є емоційно-позитивним одорантом, бо виступає стимулом харчової поведінки. Нюхова чутливість і сприйняття запахів протягом життя ссавців змінюються. Прикладом слугує вікове зниження нюхової чутливості, що супроводжується дегенеративними змінами в нюховому епітелії.



* $P \leq 0,01$ порівняно до Контролю;

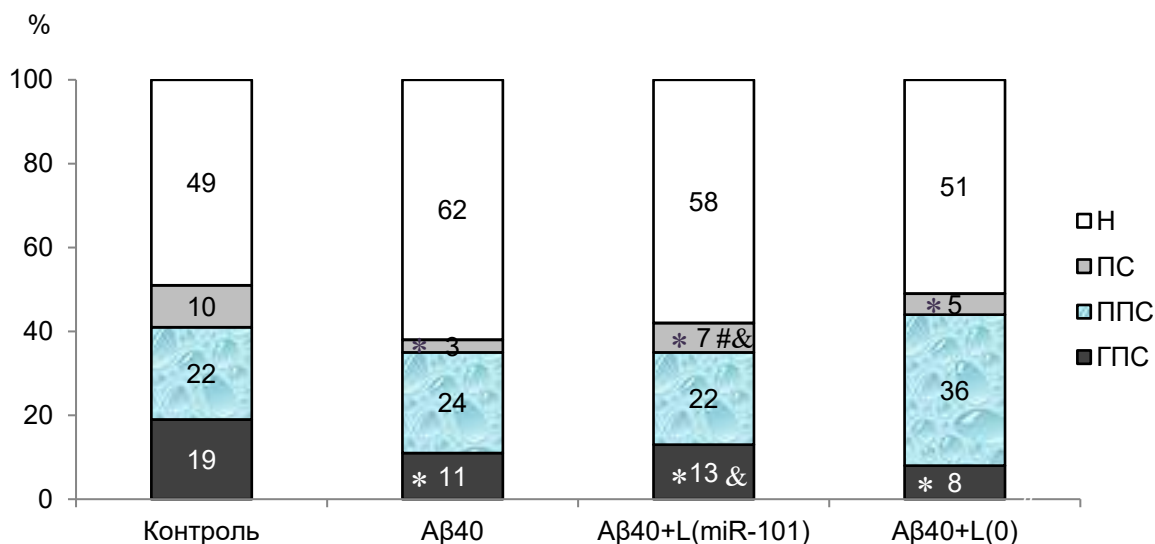
$P \leq 0,01$ при зіставленні груп A β ₄₀ і A β ₄₀+L(miR-101);

& $P \leq 0,01$ при зіставленні груп A β ₄₀+L(miR-101) і A β ₄₀+L(0)

Рис. 2. Нормалізуючий вплив ліпосомальної miR-101 на кількісно-часові характеристики сприйняття запахів (латентний період виявлення запаху і час орієнтовно-дослідницької реакції) ізовалеріанової кислоти і арахісового масла у щурів з моделлю хвороби Альцгеймера. Характеристика груп див. рис. 1

Fig. 2. Normalizing effect of liposomal miR-101 on the quantitative and temporal characteristics of odor perception (latency period of odor detection and time of approximate research reaction) of isovaleric acid and peanut oil in rats with a model of Alzheimer's disease. Characteristics of groups see Fig. 1

При дослідженні функціонального стану нюхового аналізатору у щурів з експериментальною хворобою Альцгеймера було виявлено зміни нюхової поведінки на пред'явлення запаху ізовалеріанової кислоти, а саме збільшувався час орієнтовно-дослідницької реакції (ОДР) у 3,7 разів. Для арахісового масла встановили вірогідне збільшення латентного періоду виявлення запаху в 1,4 рази та зменшення часу ОДР в 19 разів у тварин з групи Аβ₄₀ (рис. 2).



* $P \leq 0,01$ порівняно до Контролю;

$P \leq 0,01$ при зіставленні груп Аβ₄₀ і Аβ₄₀+L(miR-101);

& $P \leq 0,01$ при зіставленні груп Аβ₄₀+L(miR-101) і Аβ₄₀+L(0)

Рис. 3. Вплив ліпосомальної miR-101 на структурну організацію циклу неспання-сон у щурів за умов моделювання хвороби Альцгеймера. Н – неспання, ПС – парадоксальний сон, ППС – поверхневий повільний сон, ГПС – глибокий повільний сон. Характеристика груп див. рис. 1

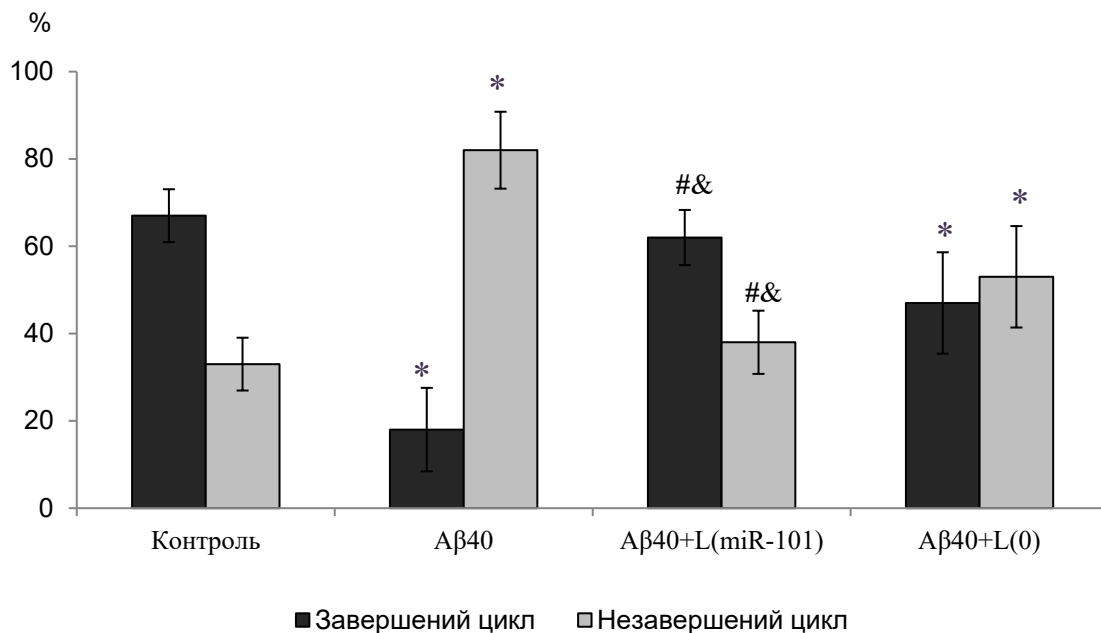
Fig. 3. The effect of liposomal miR-101 on the structural organization of the wake-sleep cycle in rats under the conditions of modeling Alzheimer's disease. H – wakefulness, PS – paradoxical sleep, SSWS – superficial slow-wave sleep, DSWS – deep slow-wave sleep. Characteristics of groups see Fig. 1

Порівняльний аналіз кількісно-часових показників дослідження нюхового аналізатора після курсового введення ліпосомальної miR-101 або пустих ліпосом показав, що введення miR-101 запобігає порушенню нюхової функції оцінювання запахів ізовалеріанової кислоти та арахісового масла, що проявлялося у скороченні часу ОДР для ізовалеріанової кислоти та вірогідного зменшення латентного періоду виявлення запаху у 2,6 разів і збільшення у 32,6 разів часу ОДР для арахісового масла за зіставлення з групою Аβ₄₀. Отримані дані свідчили про те, що miR-101 сприяла відновленню оцінки запахів ізовалеріанової кислоти і арахісового масла та орієнтовно-дослідницьких реакцій у щурів з експериментальною ХА (рис. 2). 10-добовий курс пустих ліпосом щурам з інтрагіпокампальним введенням Аβ₄₀ обумовив зниження латентного періоду та збільшення часу ОДР у випадку обох одорантів. Поведінкова реакція на новизну подразника у тварин групи Аβ₄₀+L(0) мала незгасимий характер за відсутності габітуації. Ці дані ми пояснюємо розгальмовуванням багатокомпонентної орієнтовно-дослідницької реакції в умовах амілоїдогенезу, яке не спроможні компенсувати пусті ліпосоми, на відміну від нормалізуючої дії ліпосомальної miR-101 на функціональну активність нейронів гіпокампу.

Одним з ранніх проявів ХА є послаблення ідентифікації запахів, що проявляється мало не за 10 років до появи симптомів втрати пам'яті (Kovacs, 2013). Порушення нюхової функції за умов ХА виникає внаслідок змін центральних, а не периферійних механізмів оцінки запаху (Larson et al., 1999; Manckoundia et al., 2016). На даний час з'ясовано, що порушення ідентифікації якості запаху зумовлено зниженням кількості нейронів – мітральних клітин у нюховій цибулині та

функціональними змінами у периформній корі, що є важливою діагностичною ознакою для виявлення ранніх стадій даного захворювання (Hoogland et al., 2003). Існує взаємозв'язок між об'ємом лівого гіпокампу та здатністю до нюхової ідентифікації. Тому вищенаведені результати доводять позитивний вплив miR-101 на центральні механізми обробки нюхової інформації у щурів з моделлю хвороби Альцгеймера.

Оптимізація циклу неспання-сон за умов курсової дії ліпосомальної miR-101 при експериментальній хворобі Альцгеймера. Експериментальна ХА у тварин характеризувалася скороченням стадії глибокого повільного сну (ГПС) на 44 % у поєднанні з 74 % дефіцитом фази парадоксального сну (ПС), що призводило до зниження не лише якості, але і тривалості сну у циклі неспання-сон порівняно з інтактними тваринами контрольної групи (рис. 3).



* $P \leq 0,01$ порівняно до Контролю;

$P \leq 0,01$ при зіставленні груп Aβ₄₀ і Aβ₄₀+L(miR-101);

& $P \leq 0,01$ при зіставленні груп Aβ₄₀+L(miR-101) і Aβ₄₀+L(0)

Рис. 4. Ритмічна організація сну у щурів з експериментальною хворобою Альцгеймера і курсовим введенням ліпосомальної miR-101. Характеристика груп див. рис. 1

Fig. 4. Rhythmic organization of sleep in rats with experimental Alzheimer's disease and course administration of liposomal miR-101. Characteristics of groups see Fig. 1

Інтраназальне введення ліпосомальної miR-101 спричинило збільшення представленості цих ключових стадій у структурі циклу: передусім фази парадоксального сну (на 133 %), порівняно з показниками групи Aβ₄₀, але не призвело до остаточної нормалізації за порівняння з групою Контролю. У щурів з групи Aβ₄₀+L(0) спостерігалися різноспрямовані зміни частки ГПС і ПС в циклі неспання-сон: подальше зменшення частки глибокого повільного сну та деяке зростання частки парадоксального сну, які склали лише 58 % і 50 %, відповідно, від контрольних значень, та відрізнялись від відповідних показників групи Aβ₄₀+L(miR-101) (рис. 3). Беручи до уваги сучасні уявлення стосовно елімінаторної функції глибокого повільного сну (Nag et al., 2001), отримані результати засвідчують терапевтичну ефективність miR-101.

Враховуючи літературні відомості щодо суттєвої ролі фази парадоксального сну у забезпеченні ризику розвитку деменцій (Madaeva, Verdina, 2017; Pase et al., 2017), а також його системоутворюючої функції в організації циклу неспання-сон, доцільним було дослідження ритмічної організації сну у вигляді наявності завершених і незавершених циклів. Показано, що агрегати β-амілоїдного пептиду 40 у щурів обумовлювали збільшення незавершених (редукованих) циклів (рис. 4). MiR-101 в ліпосомах спричинила скорочення кількості редукованих циклів сну у щурів з

моделлю хвороби Альцгеймера майже до нормалізації показників цієї базальної характеристики сну, що відповідало показникам інтактних тварин. Пусті ліпосоми у дослідних тварин не мали такого ефекту.

Отже, результати порівняльного аналізу структурно-функціональної і ритмічної організації циклу неспання-сон за умови моделювання ХА та дії ліпосомальної miR-101 уможливають висновок щодо оптимізуючого специфічного характеру впливу цієї мікроРНК.

Протизапальний вплив ліпосомальної miR-101 при амілоїдозі. На моделі хвороби Альцгеймера було встановлено, що агрегати A β ₄₀ обумовлюють прозапальне становище у гіпокампі головного мозку тварин (вірогідне збільшення концентрації прозапальних цитокінів TNF α і IL-6), тоді як у нюхових цибулинах і нюхових буграх рівень цих цитокінів не зазнав істотних змін (табл. 1).

Назальне введення miR-101 в ліпосомальній формі протягом 10 діб знизило у гіпокампі рівень IL-6 та TNF α , що виявилось вірогідним порівняно з моделлю хвороби Альцгеймера та показниками терапії пустими ліпосомами (табл. 1). У нюхових цибулинах з'ясувалось несподівано вірогідне, але неспецифічне, зменшення концентрації TNF α у щурів з моделлю ХА після назальної терапії як пустими ліпосомами, так і ліпосомами з miR-101. У нюхових буграх виявлено зменшення вмісту IL-10 під впливом miR-101, яке відрізняло цих тварин від інших груп (табл. 1).

Таблиця 1. Протизапальний вплив назальної терапії miR-101 в ліпосомальній формі (модель хвороби Альцгеймера у щурів)

Table 1. Anti-inflammatory effects of nasal therapy miR-101 in liposomal form (model of Alzheimer's disease in rats)

Цитокін	Група	пг/мг протеїну			
		Контроль (n = 6)	A β ₄₀ (n = 6)	A β ₄₀ +L(miR-101) (n = 7)	A β ₄₀ +L(0) (n = 6)
Гіпокамп					
TNF α		64,78 \pm 2,01	68,64 \pm 1,82*	61,32 \pm 2,00 #&	65,95 \pm 2,27
IL-6		53,40 \pm 5,10	60,6 \pm 1,65*	48,75 \pm 4,20#&	61,35 \pm 2,70*
IL-10		183,30 \pm 7,23	188,25 \pm 11,97	166,50 \pm 9,88	176,20 \pm 9,10
Нюхові цибулини					
TNF α		65,76 \pm 4,42	63,77 \pm 3,94	57,32 \pm 3,69#	55,59 \pm 3,41*
IL-6		60,00 \pm 5,40	62,85 \pm 8,70	51,60 \pm 6,15	52,65 \pm 4,50
IL-10		156,55 \pm 5,42	160,94 \pm 11,45	143,90 \pm 6,38	141,80 \pm 8,30
Нюхові бугри					
TNF α		61,14 \pm 1,45	66,51 \pm 3,99	62,37 \pm 2,80	61,66 \pm 2,66
IL-6		53,25 \pm 4,05	58,05 \pm 5,55	50,85 \pm 4,05	52,95 \pm 3,45
IL-10		170,75 \pm 6,13	178,90 \pm 9,60	157,05 \pm 6,68 **&	173,10 \pm 6,02

* $P \leq 0,01$ порівняно до Контролю;

$P \leq 0,01$ при зіставленні груп A β ₄₀ і A β ₄₀+L(miR-101);

& $P \leq 0,01$ при зіставленні груп A β ₄₀+L(miR-101) і A β ₄₀+L(0)

Порівнюючи отримані дані з результатами дослідження антизапального впливу куркуміну в ліпосомальній формі за аналогічної експериментальної постановки (Sokolik et al., 2015), необхідно зауважити, що поліфенол мав більший антицитокіновий потенціал, порівняно з miR-101. Антицитокіновий потенціал куркуміну можна пояснити його безпосередньою пригнічуючою дією на рівні індукції генів досліджених цитокінів та лише опосередкованим ефектом на рівень A β у ЦНС тварин. Безпосередньою мішенню для miR-101 слугує саме мРНК^{A β PP}, з якої транскрибується A β PP.

Нормалізація концентрації окремих цитокінів під дією miR-101 у щурів з моделлю хвороби Альцгеймера, на нашу думку, має вторинний характер, оскільки пов'язане зі зменшенням рівня ендogenous токсичного A β ₄₂ у гіпокампі та нюхових буграх (рис. 1). Проте ряд авторів припускають можливість як прямого антизапального впливу miR-101 шляхом зниження індукованих рівнів прозапальних цитокінів (Wang et al., 2016), так і збільшення продукції IL-6 у відповідь на трансфекцію клітин miR-101 (Saika et al., 2017) або у разі її надмірної експресії у LPS-активованих макрофагах (Gao et al., 2014).

Висновок

Назальна терапія miR-101 у ліпосомальній формі обумовила вірогідний антиамілоїдогенний та протизапальний ефект у щурів з моделлю хвороби Альцгеймера, а також специфічно сприяла відновленню у них функціонального стану нюхового аналізатору та оптимізації циклу неспанння-сон.

Список літератури / References

- Буреш Я., Петрань М., Захар І. (1962). Электрофизиологические методы исследования. Москва: Изд-во иностранной литературы. 466 с. [Buresh J., Petran M., Zakhar I. (1962). *Electrophysiological research methods*. Moscow: Foreign Literature Publishing House. 466 p.]
- Берченко О.Г. (1982). Экспериментальное исследование суточной периодики эмоциональных реакций и ее изменения в условиях нарушения процессов бодрствование-сон. Дисс. канд. биол. наук. Харьков. 203 с. [Berchenko O.G. (1982). *Experimental study of the daily periodicity of emotional reactions and its changes in conditions of disturbed wakefulness-sleep processes*. Thesis for the Degree of the Candidate of Biol. Sciences. Kharkov. 203 p.]
- Берченко О.Г. (1990). Нейрофизиологическая организация цикла бодрствование-сон при алкоголизме крыс, сформированном в различные фазы эмоциональной активности. *Физиологический журнал СССР*, 76(6), 713–719. [Berchenko O.G. (1990). Neurophysiological organization of the wakefulness-sleep cycle in alcoholism of rats formed in different phases of emotional activity. *Physiological Journal of the USSR*, 76(6), 713–719.]
- Кассиль В.Г. (1993). Онтогенез становления различных форм высшей нервной деятельности. *Физиол. ж. им. И.М. Сеченова*, 79(3), 1–26. [Kassil V.G. (1993). Ontogenesis of the formation of various forms of higher nervous activity. *Russian Journal of Physiology*, 79(3), 1–26.]
- Колобов В.В., Сторожева З.И. (2014). Современные фармакологические модели болезни Альцгеймера. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*, 8(3), 38–44. [Kolobov V.V., Storozheva Z.I. (2014). Modern pharmacological models of Alzheimer's disease. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*, 8(3), 38–44.]
- Мельник С.А. (2007). Эндокринная модификация обонятельной чувствительности самцов мышей. Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Нижний Новгород: ННГУ. 23 с. [Melnik S.A. (2007). *Endocrine modification of the olfactory sensitivity of male mice*. Abstract of the thesis for the Degree of the Candidate of Biol. Sciences. Nizhny Novgorod: UNN. 23 p.]
- Мельник С.А., Гладышева О.С., Крылов В.Н. (2012). Влияние предварительного воздействия паров изовалериановой кислоты на обонятельную чувствительность самцов домово́й мыши. *Сенсорные системы*, 26(1), 52–56. [Melnik S.A., Gladysheva O.S., Krylov V.N. (2012). Effect of preliminary exposure to isovaleric acid vapors on the olfactory sensitivity of male house mice. *Sensory systems*, 26(1), 52–56.]
- Степаничев М.Ю., Иванов А.Д., Лазарева Н.А. (2016). Нейродегенеративные изменения, вызванные введением фрагмента (25-35) β-амилоидного пептида в гиппокамп, связаны с активацией NGF-сигналинга. *Вестник РГМУ*, 1, 13–18. [Stepanichev M.Yu., Ivanov A.D., Lazareva N.A. (2016). Neurodegenerative changes caused by the introduction of a fragment (25-35) of β-amyloid peptide into the hippocampus are associated with the activation of NGF signaling. *Bulletin of the Russian State Medical University*, 1, 13–18. <https://doi.org/10.24075/brsmu.2016-01-02>.]
- Brai E., Alberi L. (2015). Simple and computer-assisted olfactory testing for mice. *J. Vis. Exp.*, 100, e52944. <https://doi.org/10.3791/52944>
- Brito L.M., Ribeiro-Dos-Santos A., Vidal A.F. et al. (2020). Differential expression and miRNA-gene interactions in early and late mild cognitive impairment. *Biology (Basel)*, 9(9), 251. <https://doi.org/10.3390/biology9090251>
- Dasgupta I., Chatterjee A. (2021). Recent advances in miRNA delivery systems. *Methods Protoc.*, 4(1), 10. <https://doi.org/10.3390/mps4010010>
- Drummond E., Wisniewski T. (2017). Alzheimer's disease: experimental models and reality. *Acta Neuropathol.*, 133(2), 155-175. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1662-x>
- Gao Y., Liu F., Fang L. et al. (2014). Genkwanin inhibits proinflammatory mediators mainly through the regulation of miR-101/MKP-1/MAPK pathway in LPS-activated macrophages. *PLoS One*, 9(5), e96741. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096741>
- Hammond S.M. (2015). An overview of microRNAs. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 87, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.05.001>

- Hatfield S., Ruohola-Baker H. (2008). MicroRNA and stem cell function. *Cell Tissue Res.*, 331(1), 57–66. <https://doi.org/10.1007/s00441-007-0530-3>
- He L., Hannon G.J. (2004). MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat. Rev. Genet.*, 5, 522–531. <https://doi.org/10.1038/nrg1379>
- Hebert S.S., Horre K., Nicolai L. et al. (2009). MicroRNA regulation of Alzheimer's Amyloid precursor protein expression. *Neurobiol Dis.*, 33(3), 422–428. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.11.009>
- Hoogland P., Van Den Berg R., Huisman E. (2003). Misrouted olfactory fibres and ectopic olfactory glomeruli in normal humans and in Parkinson and Alzheimer patients. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 29(3), 303–311. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2990.2003.00459.x>
- Huang Y., Shen X.J., Zou Q. et al. (2011). Biological functions of microRNAs: a review. *J. Physiol. Biochem.*, 67(1), 129–139. <https://doi.org/10.1007/s13105-010-0050-6>
- Iranifar E., Seresht B.M., Momeni F. et al. (2019). Exosomes and microRNAs: new potential therapeutic candidates in Alzheimer disease therapy. *J. Cell Physiol.*, 234(3), 2296–2305. <https://doi.org/10.1002/jcp.27214>
- Kou X., Chen D., Chen N. (2020). The regulation of microRNAs in Alzheimer's disease. *Front Neurol.*, 11, 288. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00288>
- Kovacs T. (2013). The olfactory system in Alzheimer's disease: pathology, pathophysiology and pathway for therapy. *Translational Neuroscience*, 4(1), 34–45. <https://doi.org/10.2478/s13380-013-0108-3>
- Kutter C., Svoboda P. (2008). Meeting report: miRNA, siRNA, piRNA. Knowns of the unknown. *RNA Biology*, 5(4), 181–188. <https://doi.org/10.4161/rna.7227>
- Larson M., Semb H., Winblad B. et al. (1999). Odor identification in normal aging and early Alzheimer's disease: effects of retrieval support. *Neuropsychology*, 13(1), 47–53. <https://doi.org/10.1037//0894-4105.13.1.47>
- Lobzin S.V., Sokolova M.G., Nalkin S.A. (2017). Influence of brain basal cholinergic system dysfunction on the condition of cognitive functions (literature rev.). *North-Western State Med. University*, 9(4), 53–58. <https://doi.org/10.17816/mechnikov20179453-58>
- Long J.M., Lahiri D.K. (2011). MicroRNA-101 downregulates Alzheimer's amyloid-beta precursor protein levels in human cell cultures and is differentially expressed. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 404(4), 889–895. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.12.053>
- Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193(1), 265–275.
- Ma T., Sun X., Sun S. et al. (2016). The study of peripheral blood miR-29a/101 in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Chin. J. Behav. Med. Brain Sci.*, 11, 1010–1014. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2016.11.011>
- Madaeva I.M., Berdina O.N. (2017). Modern ideas of «slow sleep» and «ram sleep» and their role in pathogenesis of Alzheimer's disease (review of literature). *Acta Biomed. Sci.*, 2(4), 48–52. https://doi.org/10.12737/article_59fad513a63772.41901536
- Manckoundia P., Putot A., Mahmoudi R. et al. (2016). Alterations in olfaction during Alzheimer disease, Parkinson disease and Lewy body disease. *Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism*, 6(5), 274. <https://doi.org/10.4172/2161-0460.1000274>
- Manna I., De Benedittis S., Quattrone A. et al. (2020). Exosomal miRNAs as potential diagnostic biomarkers in Alzheimer's disease. *Pharmaceuticals (Basel)*, 13(9), 243. <https://doi.org/10.3390/ph13090243>
- Mukhin V. (2013). Pathogenesis of the basalforebrain cholinergic dysfunction in Alzheimer's disease. *Sechenov Russian Physiological Journal*, 99(7), 793–804.
- Nag S., Tang F., Yee B.K. (2001). Chronic intracerebroventricular exposure to β -amyloid (1-40) impairs object recognition but does not affect spontaneous locomotor activity or sensorimotor gating in the rat. *Exp. Brain Res.*, 136(1), 93–100. <https://doi.org/10.1007/s002210000561>
- Pase P., Himali J.J., Grima N.A. et al. (2017). Sleep architecture and the risk of incident dementia in the community. *Neurology*, 89(12), 1244–1250. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004373>
- Patel N., Hoang D., Miller N. et al. (2008). MicroRNAs can regulate human APP levels. *Mol. Neurodegener.*, 3, 10. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-3-10>
- Pedroso de Lima M.C., Simões S., Pires P. et al. (2001). Cationic lipid-DNA complexes in gene delivery: From biophysics to biological applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 47(2–3), 277–294. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00110-7](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00110-7)

- Saika R., Sakuma H., Noto D. et al. (2017). MicroRNA-101a regulates microglial morphology and inflammation. *J. Neuroinflammation*, 14, 109. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0884-8>
- Silva M.V.F., Loures C.M.G., Alves L.C.V. et al. (2019). Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. *J. Biomed. Sci.*, 26(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>
- Shulga S.M. (2014). Obtaining and characteristic of curcumin liposomal form. *Biotechnol. Acta*, 7(5), 55–61. <https://doi.org/10.15407/biotech7.05.055>
- Silvestro S., Bramanti P., Mazzone E. (2019). Role of miRNAs in Alzheimer's disease and possible fields of application. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(16), 3979. <https://doi.org/10.3390/ijms20163979>
- Sokolik V.V., Berchenko O.G., Shulga S.M. (2017). Comparative analysis of nasal therapy with soluble and liposomal forms of curcumin on rats with Alzheimer's disease model. *Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism*, 7, 357. <https://doi.org/10.4172/2161-0460.1000357>
- Sokolik V.V., Shulga S.M. (2015). Effect of curcumin liposomal form on angiotensin converting activity, cytokines and cognitive characteristics of the rats with Alzheimer's disease model. *Biotechnol. Acta*, 8(6), 48–55. <https://doi.org/10.15407/biotech8.06.048>
- Wang C.C., Yuan J.R., Wang C.F. et al. (2016). Anti-inflammatory effects of *Phyllanthus emblica* L. on benzopyrene-induced precancerous lung lesion by regulating the IL-1 β /miR-101/Lin28B signaling pathway. *Integr. Cancer Ther.*, 16(4), 505–515. <https://doi.org/10.1177/1534735416659358>
- Witt M., Galligan R.M., Despinoy J., Segal R. (2009). Olfactory behavioral testing in the adult mouse. *J. Vis. Exp.*, 23, e949. <https://doi.org/10.3791/949>
- Wu H.Z., Ong K.L., Seeher K. et al. (2016). Circulating microRNAs as biomarkers of Alzheimer's disease: A systematic review. *J. Alzheimers Dis.*, 49(3), 755–766. <https://doi.org/10.3233/JAD-150619>
- Zhang Y., Wang Z., Gemeinhart R.A. (2013). Progress in microRNA delivery. *J. Control. Release*, 172(3), 962–974. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.09.015>

Modulating effect of liposomal miR-101 on the processes of amyloidogenesis, smell, sleep and neuroinflammation in experimental Alzheimer's disease

V.V. Sokolik, N.O. Levicheva, V.V. Geiko, O.G. Berchenko, S.M. Shulga

The current therapy for Alzheimer's disease does not give patients a chance of recovery. Therefore, it is relevant to study the novel factors of influence, in particular microRNA, on the pathogenic mechanisms of amyloidosis. The aim of this work was to determine the effect of miR-101 on early predictors of amyloidosis in experimental Alzheimer's disease in animals. The study was carried out on 25 male rats of 14 months of age. A model of Alzheimer's disease was created by intrahippocampal administration of A β ₄₀ aggregates to animals. Ten days later, a 10-day course of nasal administration of miR-101 in liposomes was launched. The level of endogenous A β ₄₂ and cytokines (TNF α , IL-6 and IL-10) was determined in the supernatants of the nerve tissues of the target brain structures (hippocampus, olfactory bulbs, and olfactory tubercles). A neuroethological method of presenting smells of isovaleric acid and peanut butter was used to assess the olfactory system functional state in the experimental rats. In the course of polygraphic registration of the sleep-wakefulness cycle, the representation of wakefulness and individual sleep phases, as well as proportion of incomplete and complete sleep cycles were determined. It was shown that injection of A β ₄₀ aggregates into the hippocampus simulates an amyloidogenic state in the rat's hippocampus and olfactory tubercles, but not in the olfactory bulbs. Moreover, a pro-inflammatory state was registered in the hippocampus of the animal brain (an increase in the concentration of pro-inflammatory cytokines TNF α and IL-6), while the cytokine level in the olfactory bulbs and tubercles did not change. When studying the functional state of olfactory analyzers in the rats with Alzheimer's disease, we revealed negative changes in behavioral response to the smell of isovaleric acid and peanut butter. In terms of somnograms, the A β ₄₀ toxicity caused reduction in the deep slow-wave sleep stage combined with deficiency of the paradoxical sleep phase, and predominance of incomplete sleep cycles. Nasal therapy with miR-101 in liposomes normalized the level of A β ₄₂ in the hippocampus and olfactory tubercles and decreased the level of proinflammatory cytokines in the hippocampus. MiR-101 prevented olfactory dysfunctions in assessing smells of isovaleric acid and peanut butter, increased the ratio of deep slow-wave sleep and paradoxical sleep in the cycle structure and restored proportion of complete sleep cycles in animals. Thus, liposomal miR-101 has an anti-amyloidogenic and anti-inflammatory effect in rats with a model of Alzheimer's disease. It helps to restore the functional state of olfactory analyzer and optimize structural organization of the sleep-wakefulness cycle in sick animals.

Key words: miR-101, β -amyloid peptide, cytokines, Alzheimer's disease, sense of smell, sleep, liposomes.

About the authors:

V.V. Sokolik – SI "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the NAMS of Ukraine", Akademika Pavlova Str., 46, Kharkiv, Ukraine, 61068, V.sokolik67@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-6829-2300>

N.O. Levicheva – SI "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the NAMS of Ukraine", Akademika Pavlova Str., 46, Kharkiv, Ukraine, 61068, nati-ki-le@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0003-2963-0762>
V.V. Geiko – SI "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the NAMS of Ukraine", Akademika Pavlova Str., 46, Kharkiv, Ukraine, 61068, vvgеiko@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-5891-1104>
O.G. Berchenko – SI "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the NAMS of Ukraine", Akademika Pavlova Str., 46, Kharkiv, Ukraine, 61068, berchenko.olga@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0003-4201-4542>
S.M. Shulga – SI "Institute of Food Biotechnology and Genomics of the NAS of Ukraine", Osipovskogo Str., 2A, Kyiv, Ukraine, 04123, Shulga5@i.ua, <http://orcid.org/0000-0003-1080-8583>

Модулирующее влияние липосомальной miR-101 на процессы амилоидогенеза, обоняния, сна и нейровоспаления при экспериментальной болезни Альцгеймера

В.В. Соколик, Н.А. Левичева, В.В. Гейко, О.Г. Берченко, С.М. Шульга

Существующая терапия болезни Альцгеймера не дает шансов пациентам на выздоровление. Поэтому актуальным является изучение новейших факторов влияния, в частности микроРНК, на патогенетические механизмы амилоидоза. Целью работы было определение эффекта miR-101 на ранние предикторы амилоидоза при экспериментальной болезни Альцгеймера у животных. Исследование было выполнено на 25 крысах-самцах 14-мес. возраста. Модель болезни Альцгеймера создавали путем интрагиппокампального введения животным агрегатов A β ₄₀. Через 10 суток начинали 10-дневный курс назального введения крысам miR-101 в липосомах. В супернатантах нервных тканей целевых структур головного мозга (гиппокамп, обонятельные луковицы, обонятельные бугры) определяли уровень эндогенного A β ₄₂ и цитокинов (TNF α , IL-6 и IL-10). Для оценки функционального состояния обонятельной системы была задействована нейротоологическая методика предъявления запахов изовалериановой кислоты и арахисовой пасты. В ходе полиграфической регистрации цикла бодрствование-сон определяли представленность бодрствования и отдельных фаз сна, а также долю незавершенных и завершенных циклов сна у животных. Показано, что введение агрегатов A β ₄₀ в гиппокамп моделирует у крыс амилоидогенное состояние в гиппокампе и обонятельных буграх, но не в обонятельных луковицах. Также было отмечено провоспалительное состояние в гиппокампе головного мозга животных (увеличение концентрации провоспалительных цитокинов TNF α и IL-6), тогда как в обонятельных луковицах и обонятельных буграх их уровень не менялся. При исследовании функционального состояния обонятельного анализатора у крыс с болезнью Альцгеймера были выявлены негативные изменения обонятельного поведения на запахи изовалериановой кислоты и арахисового масла. В отношении сомнограмм, токсичность A β ₄₀ у животных обуславливала сокращение стадии глубокого медленного сна в сочетании с дефицитом фазы парадоксального сна, а также преобладание незавершенных циклов сна. Назальная терапия miR-101 в липосомах нормализовала уровень A β ₄₂ в гиппокампе и обонятельных буграх и снизила в гиппокампе уровень провоспалительных цитокинов. MiR-101 предотвращала нарушение обонятельной функции оценки запахов изовалериановой кислоты и арахисового масла и вызвала увеличение представленности фаз глубокого медленного сна и парадоксального сна в структуре цикла, а также восстановление доли завершенных циклов сна у животных. Таким образом, липосомальная miR-101 имеет антиамилоидогенный и противовоспалительный эффект у крыс с моделью болезни Альцгеймера, а также способствует восстановлению у них функционального состояния обонятельного анализатора и оптимизации структурной организации цикла бодрствование-сон.

Ключевые слова: miR-101, β -амилоидный пептид, цитокины, болезнь Альцгеймера, обоняние, сон, липосомы.

Об авторах:

В.В. Соколик – ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», ул. Академика Павлова, 46, Харьков, Украина, 61068, v.sokolik67@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-6829-2300>
Н.А. Левичева – ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», ул. Академика Павлова, 46, Харьков, Украина, 61068, nati-ki-le@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0003-2963-0762>
В.В. Гейко – ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», ул. Академика Павлова, 46, Харьков, Украина, 61068, vvgеiko@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-5891-1104>
О.Г. Берченко – ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», ул. Академика Павлова, 46, Харьков, Украина, 61068, berchenko.olga@ukr.net, <http://orcid.org/0000-0003-4201-4542>
С.М. Шульга – ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины», ул. Осиповского, 2А, Киев, Украина, 04123, Shulga5@i.ua, <http://orcid.org/0000-0003-1080-8583>

Подано до редакції / Received: 15.04.2021

Прорецензовано / Revised: 11.05.2021

Прийнято до друку / Accepted: 18.05.2021

Cite this article: Pleskach L.Ya., Virchenko V.M. Investigation of the flora of epigeal bryobionta of the Olexandria Dendrological Park. The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology", 2021, 36, 28–34.

••• БОТАНІКА ТА ЕКОЛОГІЯ РОСЛИН •••
••• BOTANY AND PLANT ECOLOGY •••

УДК: 582.32 (477)

Дослідження флори епігейних мохоподібних дендропарку «Олександрія»
Л.Я. Плєскач, В.М. Вірченко

Упродовж 2017–2019 років проведені дослідження видового складу епігейних мохоподібних дендрологічного парку «Олександрія», розташованого у північно-східній частині Правобережного лісостепу. За результатами досліджень, епігейна бріофлора історичної частини дендропарку нараховує 40 видів. Вона представлена 25 родами, 14 родинами, 7 порядками, 2 класами й 1 відділом. Таксономічний аналіз епігейних мохів дендропарку показав, що у флорі епігеїв найкраще представлені порядки Hypnales (14 видів), Pottiales (9 видів) та Bryales (9 видів). Провідними родинами є *Pottiaceae* (9 видів), *Brachytheciaceae* (7 видів), *Bryaceae* (5 видів), *Amblystegiaceae* та *Mniaceae* (кожна по 4 види). Провідними родами виявилися *Bryum* (5 видів), *Brachythecium* (4 види), *Tortula* (4 види) та *Plagiomnium* (3 види). Серед виявлених таксонів два види (*Barbula convoluta* та *Bryum rubens*) є регіонально рідкісними в лісостеповій зоні України. Найбільш поширеними епігейними видами, що зростали в історичній частині дендропарку, виявилися *Ceratodon purpureus*, *Oxyrrhynchium hians*, *Hypnum cupressiforme*, *Atrichum undulatum* та *Bryum moravicum*. При цьому відмічено, що в західній частині парку найбільш поширеними є *Atrichum undulatum*, *Bryum moravicum*, *Oxyrrhynchium hians*, *Hypnum cupressiforme*, *Brachytheciastrum velutinum*, *Hygroamblystegium varium*, у центральній – *Bryum moravicum*, *Hypnum cupressiforme*, *Ceratodon purpureus*, у східній частині – *Oxyrrhynchium hians*, *Fissidens taxifolius*, *Fissidens viridulus* та *Brachythecium rutabulum*. Серед виявлених таксонів 50 % (20 видів) були факультативними та 50 % – облигатними епігеями. У 2018 р. у діброві дендропарку (локалітет 14) нами виявлений новий для парку вид *Ephemerum minutissimum*. Він зростає разом з *Dicranella heteromalla*, *Bryum rubens*, *Barbula convoluta*, *Ceratodon purpureus*, *Tortula acaulon* і *Weissia brachycarpa*. Це друга знахідка *E. minutissimum* в Україні. Найбільше видове багатство епігейних мохоподібних притаманне локалітетам центральної частини дендропарку «Олександрія» (29 таксонів). Епігейна бріофлора історичної частини дендропарку на теперішній час складає 44 % усієї бріофлори дендропарку, яка налічує 90 видів.

Ключові слова: епігейна бріофлора, регіонально рідкісні види, дендропарк «Олександрія».

Про авторів:

Л.Я. Плєскач – Державний дендропарк «Олександрія» НАНУ, Біла Церква, Україна, 09113, l.pleskach@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-5235-4340>

В.М. Вірченко – Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАНУ, вул. Терещенківська, 2, Київ, Україна, 01004, vir_chen_ko@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8205-5122>

Вступ

Дендропарк «Олександрія» був створений наприкінці 18 століття на базі природної діброви та на сьогодні є одним із найбільших дендропарків України (загальна площа понад 400 га). Рослинність парку дуже різноманітна і налічує понад 3100 деревних видів та понад 1500 видів трав'янистих рослин. Видове багатство мохоподібних, які є невід'ємною складовою частиною структури фітоценозів дендропарку «Олександрія», наразі вивчене недостатньо.

В бріологічному гербарії Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного (KW-B) зберігаються збори мохоподібних 1925–1926 років Д.К. Зерова та інших колекторів з дендропарку «Олександрія». Для історичної частини парку тоді було встановлено зростання всього 6 видів: *Marchantia polymorpha*, *Conocepalum conicum* s.l., *Radula complanata*, *Porella platyphylla*, *Frullania dilatata* і *Hedwigia ciliata* (Зеров, 1939, 1964).

На початку 80-х років минулого століття було проведено бріофлористичне обстеження лісостепової частини Придніпровської височини (Вірченко, 1986). На території дендропарку особлива увага приділялась мохоподібним гранітних відслонень у різних умовах освітлення та зволоження. Усього було виявлено 34 види, з яких 30 виявились новими для історичної частини

парку. Загалом, за два періоди бріологічних досліджень для історичної частини дендропарку було встановлено зростання 36 видів.

Сучасні комплексні дослідження видового різноманіття мохоподібних дендропарку проводяться з 2017 р. Дослідженнями охоплені мохи, що зростають на різних субстратах: стовбурах дерев (епіфітні), пеньках, повалених деревах (епіксильні), фундаментах архітектурних споруд, на валунах, малих архітектурних формах (вазах, фонтанах), підірних кам'яних стінках (епілітні) та на поверхні ґрунту (епігейні мохи).

Об'єкти та методи дослідження

Упродовж 2017–2019 років авторами були проведені дослідження видового складу епігейних мохоподібних дендрологічного парку «Олександрія», який розташований в північно-східній частині Правобережного лісостепу з географічними координатами: 49°48'43" північної широти та 30°04'01" східної довготи. Обстеження здійснювали в локалітетах історичної частини дендропарку (рис. 1). В роботі використовували загальноприйняті методи флористичних польових досліджень. Назви мохоподібних наведено за Чеклістом мохоподібних України (Бойко, 2008а, 2014). Короткий таксономічний аналіз проведено за Бойко (Бойко, 2008б).

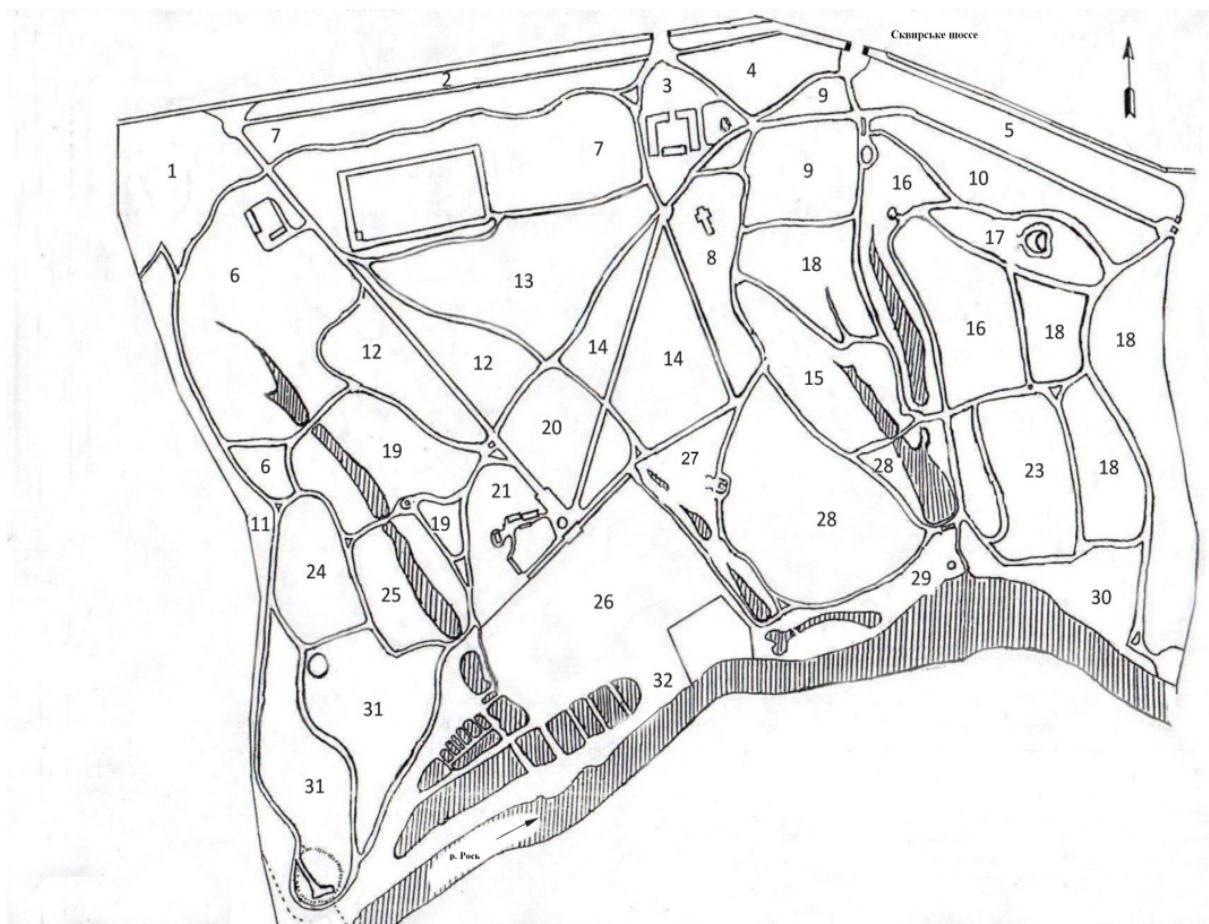


Рис. 1. Схема території історичної частини дендропарку «Олександрія» (локалітети 1–32)

Fig. 1. Scheme of the territory of the historical part of the arboretum "Olexandria" (localities 1–32)

Результати та обговорення

Результати проведених досліджень показали, що епігейна бріофлора дендропарку «Олександрія» на теперішній час налічує 40 видів. Вона представлена 25 родами, 14 родинами, 7 порядками, 2 класами і 1 відділом (табл.).

Таблиця. Таксономічний склад епігейних мохоподібних історичної частини дендропарку «Олександрія»
Table. Taxonomic composition of epigeal mosses of the historical part of the arboretum "Alexandria"

Родина	Рід	Вид
Відділ Bryophyta		
Клас Polytrichopsida		
Порядок Polytrichales		
<i>Polytrichaceae</i>	<i>Atrichum</i>	<i>A. undulatum</i> (Hedw.) P. Beauv.
Клас Bryopsida		
Порядок Funariales		
<i>Funariaceae</i>	<i>Funaria</i>	<i>F. hygrometrica</i> Hedw.
	<i>Physcomitrium</i>	<i>P. pyriforme</i> (Hedw.) Bruch et Schimp.
Порядок Dicranales		
<i>Fissidentaceae</i>	<i>Fissidens</i>	<i>F. taxifolius</i> Hedw. <i>F. viridulus</i> (Sw.) Wahlenb.
<i>Ditrichaceae</i>	<i>Ceratodon</i>	<i>C. purpureus</i> (Hedw.) Brid.
<i>Dicranaceae</i>	<i>Dicranella</i>	<i>D. heteromalla</i> (Hedw.) Schimp.
Порядок Pottiales		
<i>Pottiaceae</i>	<i>Barbula</i>	<i>B. convoluta</i> Hedw. <i>B. unguiculata</i> Hedw.
	<i>Ephemerum</i>	<i>E. minutissimum</i> Lindb.
	<i>Tortula</i>	<i>T. acaulon</i> (With.) R. H. Zander
		<i>T. muralis</i> Hedw.
<i>T. subulata</i> Hedw. <i>T. truncata</i> (Hedw.) Mitt.		
<i>Weissia</i>	<i>W. brachycarpa</i> (Nees et Hornsch.) Jur. <i>W. longifolia</i> Mitt. (<i>Astomum crispum</i> (Hedw.) Hampe)	
Порядок Splachnales		
<i>Meesiaceae</i>	<i>Leptobryum</i>	<i>L. pyriforme</i> (Hedw.) Wilson
Порядок Bryales		
<i>Bryaceae</i>	<i>Bryum</i>	<i>B. argenteum</i> Hedw. <i>B. caespiticium</i> Hedw. <i>B. capillare</i> Hedw. <i>B. moravicum</i> Podp. <i>B. rubens</i> Mitt.
<i>Mniaceae</i>	<i>Plagiomnium</i>	<i>P. cuspidatum</i> (Hedw.) T. J. Kop. <i>P. rostratum</i> (Schrad.) T. Kop. <i>P. undulatum</i> (Hedw.) T. J. Kop.
	<i>Pohlia</i>	<i>P. nutans</i> (Hedw.) Lindb.
Порядок Hypnales		
<i>Amblystegiaceae</i>	<i>Amblystegium</i>	<i>A. serpens</i> (Hedw.) Schimp.
	<i>Cratoneuron</i>	<i>C. filicium</i> (Hedw.) Spruce
	<i>Hygroamblystegium</i>	<i>H. varium</i> (Hedw.) Monk.
	<i>Leptodictyum</i>	<i>L. riparium</i> (Hedw.) Warnst.
<i>Leskeaceae</i>	<i>Leskea</i>	<i>L. polycarpa</i> Hedw.
<i>Brachytheciaceae</i>	<i>Brachytheciastrum</i>	<i>B. velutinum</i> (Hedw.) Ignatov et Huttunen
	<i>Brachythecium</i>	<i>B. campestre</i> (H. Müll.) Schimp.
		<i>B. rivulare</i> Schimp.
		<i>B. rutabulum</i> (Hedw.) Schimp. <i>B. salebrosum</i> (Hoffm. ex F. Weber et D. Mohr) Schimp.
<i>Cirriphyllum</i>	<i>C. piliferum</i> (Hedw.) Grout	
<i>Oxyrrhynchium</i>	<i>O. hians</i> (Hedw.) Loeske	
<i>Hypnaceae</i>	<i>Hypnum</i>	<i>H. cupressiforme</i> Hedw.
<i>Thuidiaceae</i>	<i>Thuidium</i>	<i>T. assimile</i> (Mitt.) A. Jaeger

Переважають представники класу Bryopsida відділу Bryophyta, їх нараховується 39 видів, що складає 97,5 % усієї епігейної бріофлори. Флора епігейних мохів дендропарку найбільш представлена видами з порядків Нурнаles (14 видів), Pottiales (9 видів) та Bryales (9 видів).

Провідними родинами є *Pottiaceae* (9 видів), *Brachytheciaceae* (7 видів), *Bryaceae* (5 видів), *Amblystegiaceae* та *Mniaceae* (кожна по 4 види). Дані родини налічують 29 видів і становлять 70,7 % від загальної кількості епігеїв. Провідними родами виявилися: *Bryum* (5 видів), *Brachythecium* (4), *Tortula* (4) та *Plagiomnium* (3). Слід зазначити, що в зв'язку зі зміною кліматичних умов види роду *Tortula* будуть мати більш сприятливі умови для зростання на ґрунтах парку, оскільки вони поширені в областях із засушливим кліматом.

На теперішній час бріофлора дендропарку «Олександрія» налічує 98 видів, з них 40 таксонів представлений епігейними мохоподібними, що становить 40,8 %.

Дослідженнями виявлено наявність двох регіонально рідкісних видів в межах Лісостепової зони України: *Barbula convoluta* та *Bryum rubens* (Бойко, 2010). Ці види були нами знайдені в центральній частині парку в локалітеті 14, де вони зростали разом з *Tortula acaulon*, *Ceratodon purpureus*, *Dicranella heteromalla*, *Ephemerum minutissimum* та *Weissia brachycarpa*.



Рис. 2. Одні із найбільш поширених облигатних епігейних мохів: праворуч – *Atrichum undulatum*, ліворуч – *Plagiomnium undulatum*

Fig. 2. *Atrichum undulatum* (in the right) and *Atrichum undulatum* (in the left) – representatives of the most common obligate epigeal mosses

Слід зазначити, що в 2018 році в діброві дендропарку «Олександрія» (в локалітеті 14) нами знайдений *Ephemerum minutissimum*, де він зростав разом з *Dicranella heteromalla*, *Bryum rubens*, *Barbula convoluta*, *Ceratodon purpureus*, *Tortula acaulon* і *Weissia brachycarpa* (Ellis et al., 2019). В Україні цей вид був виявлений лише на околиці Брацлава у Вінницькій області в 1939 році (Балковський, Савостьянов, 1939).

Дослідженнями встановлено, що серед виявлених таксонів 50 % (20 видів) були факультативними та 20 видів (50 %) облигатними епігеями.

Результати досліджень епігейних мохоподібних показали, що загалом найбільш поширеними видами, що зростали на ґрунтах історичної частини дендропарку, виявилися *Ceratodon purpureus*,

Oxyrrhynchium hians, *Hypnum cupressiforme*, *Atrichum undulatum* та *Bryum moravicum*. Дещо рідше зустрічалися *Brachytheciastrum velutinum*, *Brachythecium rutabulum*, *Fissidens taxifolius*, *Hygroamblystegium varium*, *Plagiomnium cuspidatum* та *Plagiomnium undulatum*. В той же час слід зауважити, що в західній частині парку найбільш поширеними видами виявилися *Atrichum undulatum*, *Bryum moravicum*, *Oxyrrhynchium hians*, *Hypnum cupressiforme*, *Brachytheciastrum velutinum*, *Hygroamblystegium varium*, в центральній – *Bryum moravicum*, *Hypnum cupressiforme*, *Ceratodon purpureus*, в східній частині – *Oxyrrhynchium hians*, *Fissidens taxifolius*, *Fissidens viridulus* та *Brachythecium rutabulum* (рис. 2). Одинокі (які були виявлені в 1–5 описах) траплялися такі види мохів, як *Bryum capillare*, *Bryum caespitium*, *Cirriphyllum piliferum*, *Dicranella heteromalla*, *Ephemerum minutissimum*, *Funaria hygrometrica*, *Thuidium assimile* та деякі інші.

Результати досліджень показали, що найбільше видове багатство епігейних мохоподібних виявлено в локалітетах центральної частини дендропарку «Олександрія» (29 таксонів). Дещо менше число видів було в локалітетах західної (24 види) та східної (20 видів) частин парку. Дещо більше видове багатство епігейних мохоподібних в локалітетах центральної частини парку пояснюється тим, що вони зростають в кращих умовах освітлення, зволоження, меншій забур'яненості ґрунтів, оскільки тут проводиться регулярне викошування трав'янистого покриву тощо.

Слід зазначити, що такі види, як *Bryum capillare*, *Funaria hygrometrica*, *Physcomitrium pyriforme* та *Tortula truncata*, були нами виявлені тільки в західній частині, *Bryum rubens*, *Brachythecium campestre*, *Ephemerum minutissimum*, *Fissidens viridulus*, *Leptobryum pyriforme*, *Plagiomnium rostratum*, *Thuidium assimile*, *Tortula acaulon* – в центральній та *Brachythecium rivulare* – в східній частині парку.

Висновки

За результатами проведених досліджень встановлено, що на теперішній час епігейна бріофлора історичної частини дендропарку «Олександрія» нараховує 40 видів, що становить 40,8 % від загального числа виявлених бріофітів. Вона представлена 25 родами, 14 родинами, 7 порядками, 2 класами і 1 відділом. Провідними родинами є: *Pottiaceae* (9 видів), *Brachytheciaceae* (7 видів), *Bryaceae* (5 видів), *Amblystegiaceae* та *Mniaceae* (кожна по 4 види). Провідними родами виявилися: *Bryum* (5 видів), *Brachythecium* (4 види), *Tortula* (4 види) та *Plagiomnium* (3 види). Серед виявлених таксонів 2 види: *Barbula convoluta* та *Bryum rubens* є регіонально рідкісними в межах лісостепової зони України. Найбільш поширеними видами, що зростали на ґрунтах історичної частини дендропарку, виявилися наступні: *Ceratodon purpureus*, *Oxyrrhynchium hians*, *Hypnum cupressiforme*, *Atrichum undulatum* та *Bryum moravicum*. Найбільше видове багатство епігейних мохоподібних виявлено в локалітетах центральної частини дендропарку «Олександрія» (29 таксонів).

Список літератури / References

- Балковський Б.Є., Савостьянов О.О. (1939). Матеріали до бріофлори Вінницької і Кам'янецької областей. III. *Український ботанічний журнал*, 21–22, 299–305. [Balkovski B.Ye., Savostianov O.O. (1939). Materials for the bryoflora of Vinnitsa and Kamenets regions. III. *Ukrainian Botanical Journal*, 21–22, 299–305.]
- Бойко М.Ф. (2008а). Чекліст мохоподібних України. Херсон: Айлант. 232 с. [Boiko M.F. (2008a). *A Checklist of the Bryobionta of Ukraine*. Kherson: Ailant. 232 p.]
- Бойко М.Ф. (2008б). Чекліст мохоподібних України (таксономічний огляд, надвидові таксони). *Чорноморський ботанічний журнал*, 4(2), 151–160. [Boiko M.F. (2008b). A Checklist of the Bryobionta of Ukraine (taxonomic review, superspecies taxa). *Chornomorski Botanical Journal*, 4(2), 151–160.]
- Бойко М.Ф. (2010). Червоний список мохоподібних України. Рідкісні та зникаючі види мохоподібних України. Херсон: Айлант. 112 с. [Boiko M.F. (2010). *Red List of Bryobionta of Ukraine. Rare and endangered species of the Bryobionta of Ukraine*. Kherson: Ailant. 112 p.]
- Бойко М.Ф. (2014). Другий чекліст мохоподібних України. *Чорноморський ботанічний журнал*, 10(4), 42–487. [Boiko M.F. (2014). The Second Checklist of Bryobionta of Ukraine. *Chornomorski Botanical Journal*, 10(4), 42–487.]
- Вирченко В.М. (1986). Мохообразные лесостепной части Приднепровской возвышенности. Киев. 24 с. [Virchenko V.M. (1986). *Bryophytes of the forest-steppe part of the Dnieper Upland*. Kiev. 24 p.]

Зеров Д.К. (1939). Визначник печінокових мохів УРСР. Київ. 152 с. [Zerov D.K. (1939). *A key of liverworts of the USSR*. Kyiv, 1939. 152 p.]

Зеров Д.К. (1964). Флора печіночних і сфагнових мохів України. Київ. 356 с. [Zerov D.K. (1964). *The flora of liverworts and sphagnum mosses of Ukraine*. Kyiv. 356 p.]

Ellis L.T., Aleffi M., Baczkiewicz A. et al. (2019). New national and regional bryophyte records, 60. *Journal of Bryology*, 41(3), 285–299. <https://doi.org/10.1080/03736687.2019.1643117>

Investigation of the flora of epigean bryobionta of the Olexandria Dendrological Park

L.Ya. Pleskach, V.M. Virchenko

Species composition of epigeic bryophytes of the Olexandria Dendrological Park, located in the northeast of the Right-Bank forest-steppe of Ukraine, was studied. The research was conducted in 2017–2019. As a result, 40 species of 25 genera, 14 families, 7 orders, 2 classes, and 1 division were registered. A taxonomic analysis showed that the orders Hypnales (14 species), Pottiales (9 species) and Bryales (9 species) are represented best. The main families were as follows: *Pottiaceae* (9 species), *Brachytheciaceae* (7 species), *Bryaceae* (5 species), *Amblystegiaceae* and *Mniaceae* (4 species each). The most speciose were the genera *Bryum* (5 species), *Brachythecium* (4 species), *Tortula* (4 species) and *Plagiomnium* (3 species). Among the identified taxa, two species, (*Barbula convoluta* and *Bryum rubens*) are regionally rare in the Forest-Steppe zone of Ukraine. In the historical part of Olexandria, five species *Ceratodon purpureus*, *Oxyrrhynchium hians*, *Hypnum cupressiforme*, *Atrichum undulatum*, and *Bryum moravicum* were the most common epigean bryophytes. In the western part of the Dendropark, the prevalent species were *Atrichum undulatum*, *Bryum moravicum*, *Oxyrrhynchium hians*, *Hypnum cupressiforme*, *Brachytheciastrum velutinum*, and *Hygroamblystegium varium*, in the central part – *Bryum moravicum*, *Hypnum cupressiforme*, *Ceratodon purpureus*, and in the eastern part – *Fissidens taxifolius*, *Fissidens viridulus*, and *Brachythecium rutabulum*. Twenty species (50 % of the identified taxa) were obligate epigees while the other 20 species belonged to the facultative epigees. In 2018, a new species to the Dendropark's bryoflora, *Ephemerum minutissimum*, was found in an oakery (locality 14). It grew there together with *Dicranella heteromalla*, *Bryum rubens*, *Barbula convoluta*, *Ceratodon purpureus*, *Tortula acaulon*, and *Weissia brachycarpa*. This is the second record of *E. minutissimum* from Ukraine. The highest number of epigeic moss species was registered in the central part of Olexandria (29 taxa). At present, the epigeic bryoflora of the Dendropark's historical part comprises 44 % of its whole bryoflora (90 species).

Key words: epigeic bryoflora, regionally rare species, Olexandria Dendrological Park.

About the authors:

L.Ya. Pleskach – “Olexandria” State Dendrological Park, National Academy of Sciences of Ukraine, Bila Tserkva, Ukraine, 09113, l.pleskach@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-5235-4340>

V.M. Virchenko – M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Tereshchenkivska Str., 2, Kyiv, Ukraine, 01601, vir_chen_ko@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8205-5122>

Исследование флоры эпигейных мохообразных дендропарка «Александрия»

Л.А. Плескач, В.М. Вирченко

В течение 2017–2019 гг. проведены исследования видового состава эпигейных мохообразных дендрологического парка «Александрия», расположенного в северо-восточной части Правобережной лесостепи. Результаты проведенных исследований показали, что эпигейная бриофлора исторической части дендропарка «Александрия» насчитывает 40 видов. Она представлена 25 родами, 14 семействами, 7 порядками, 2 классами и 1 отделом. Таксономический анализ эпигейных мхов дендропарка показал, что в флоре эпигеев наиболее представлены порядки Hypnales (14 видов), Pottiales (9 видов) и Bryales (9 видов). Ведущими семействами являются *Pottiaceae* (9 видов), *Brachytheciaceae* (7), *Bryaceae* (5), *Amblystegiaceae* и *Mniaceae* (каждое по 4 вида). Ведущими родами оказались: *Bryum* (5 видов), *Brachythecium* (4 вида), *Tortula* (4 вида) и *Plagiomnium* (3 вида). Среди выявленных таксонов два вида (*Barbula convoluta* и *Bryum rubens*) являются регионально редкими в пределах лесостепной зоны Украины. Наиболее распространенными эпигейными видами, растущими в исторической части дендропарка, оказались *Ceratodon purpureus*, *Oxyrrhynchium hians*, *Hypnum cupressiforme*, *Atrichum undulatum* и *Bryum moravicum*. При этом отмечено, что в западной части парка наиболее распространенными видами оказались: *Atrichum undulatum*, *Bryum moravicum*, *Oxyrrhynchium hians*, *Hypnum cupressiforme*, *Brachytheciastrum velutinum*, *Hygroamblystegium varium*, в центральной – *Bryum moravicum*, *Hypnum cupressiforme*, *Ceratodon purpureus*, в восточной части –

Oxyrrhynchium hians, *Fissidens taxifolius*, *Fissidens viridulus* и *Brachythecium rutabulum*. Среди выявленных таксонов 50 % (20 видов) были факультативными и 50 % – облигатными эпигеями. В 2018 г. в дубраве дендропарка (локалитет 14) нами выявлен новый для парка вид *Ephemerum minutissimum*, где он рос вместе с *Dicranella heteromalla*, *Bryum rubens*, *Barbula convoluta*, *Ceratodon purpureus*, *Tortula acaulon* и *Weissia brachycarpa*. Это вторая находка *E. minutissimum* в Украине. Наибольшее видовое богатство эпигейных мохообразных обнаружено в локалитетах центральной части дендропарка «Александрія» (29 таксонов). Эпигейная бриофлора исторической части дендропарка в настоящее время составляет 44 % всей бриофлоры (90 видов).

Ключевые слова: эпигейная бриофлора, регионально редкие виды, дендропарк «Александрія».

Об авторах:

Л.А. Плєскач – Государственный дендропарк «Александрія» НАН Украины, Белая Церковь, Украина, 09113, l.pleskach@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-5235-4340>

В.М. Вирченко – Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, Киев, 01004, Украина, vir_chen_ko@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8205-5122>

Подано до редакції / Received: 06.11.2020

Прорецензовано / Revised: 28.12.2020

Прийнято до друку / Accepted: 11.01.2021

Cite this article: Atramentova L., Ehyakonandeh H. Molecular genetic data in terms of associative and population genetics. The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology", 2021, 36, 35–40.

••• ГЕХЕТИКА ••• GENETICS •••

UDC: 575.17+61

Molecular genetic data in terms of associative and population genetics L. Atramentova, H. Ehyakonandeh

In studies on associative genetics of various multifactorial diseases, it is most often found that the minor allele's frequency in the group of patients is higher than in the group of healthy people. Due to reduced adaptation, the minor allele manifests itself as a disease. In the group of patients, the number of homozygotes by major allele is reduced, the number of heterozygous carriers of the provocative allele is increased, and the frequency of homozygotes by the provocative allele is significantly increased. The aim of this article was to analyze the unusual result for SNP 1298A/C of the *MTHFR* gene in multiple sclerosis, previously obtained by one of the authors. The allele frequencies in the control group and in the group of multiple sclerosis do not differ, but the distribution of genotypes in the patients does not correspond to the Hardy–Weinberg ratio in compare to healthy people. Among patients, the number of heterozygotes is increased and the number of each homozygote is decreased. The increase in the proportion of heterozygotes can be explained by the presence of one provocative allele, but the large shortage of homozygotes for the minor allele is unclear. To explain this fact, the composition of the group of patients was analysed. The patients are of different ages, this group is heterogeneous in sex and form of multiple sclerosis, but none of these indicators has not be taken into account in the analysis of the distribution of genotypes. The age of the disease is a diagnostic sign and may depend on the genotype. The manifestation of multifactorial diseases depends on gender as well. Clinical forms of the disease usually have a different genetic basis. Due to the neglect of these conditions, a genetically heterogeneous group is formed, and any result, difficult for explanation, can be obtained. The lack of CC genotypes may be due to increased mortality, which reduces the probability of patients to be investigated in the sample. These facts once again indicate the need to form homogeneous groups for research on associative genetics.

Key words: multiple sclerosis, SNP 1298A/C *MTHFR*, associative genetics, science methodology, research design, sample formation, natural selection, Hardy–Weinberg equilibrium.

About the authors:

L. Atramentova – V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, lubov.atramentova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7143-9411>

H. Ehyakonandeh – V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, hesam.ehyakonandeh@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-2964-901X>

Introduction

Associative genetics typically uses a case/control pattern. The most important condition for a reliable conclusion from such is an investigation of representative samples. When forming a group of patients and a control group, their comparability by sex, age, ethnic origin, and lifestyle must be ensured. When it comes to multifactorial pathological signs with varying age of manifestation, the formation of comparable groups becomes especially difficult. In such research works, the most frequent errors are generated as a result of incorrect methodology which distort the result. A frequent drawback of many works on associative genetics is the use of biased samples. Usually they are heterogeneous by gender, age, origin of group members, and the variance of these indicators in the compared groups does not coincide. When characterizing the groups being compared, authors often only state their comparability, without giving any numerical characteristics, or giving only fragmentary information from which it is impossible to make an idea of the true state of affairs. It is known from practice that a group of patients is usually more heterogeneous in age and the statement about the equality of middle age and/or other biologically important indicators is not a serious argument for the methodological correctness of the study. The distribution of subjects by gender is also a big problem. Usually in the main group, the proportion of men and women reflects this ratio in the population. In the control group, this ratio is determined by the unequal willingness of healthy men and women to participate in the study.

It is not difficult to perform a formal genetic analysis according to molecular genotyping data, but it can be difficult to explain the result obtained in such samples. This also raises the question of the reliability of the source data. The analysis of the questions that arise when reading articles devoted to the description of the results of molecular genetic analysis was the aim of this article.

Materials and methods

For the analysis, we used the results of genotyping by SNP 1298A/C of the *MTHFR* gene obtained by one of the authors of this article (Naghibalhossaini et al., 2015). 180 patients with multiple sclerosis and 186 healthy residents of southern Iran were examined. The algorithm of genetic-statistical analysis was described in our previous work (Ehyakonandeh, Atramentova, 2020). The prevalence index of multiple sclerosis obtained from (Izadi et al., 2015) was used in calculations of some statistical indicators (Atramentova, 2015).

Results

The frequency distribution of genotypes in the group of patients with multiple sclerosis differs significantly from the distribution of genotypes in the control group (table 1). The number of AC heterozygotes in this group is almost one and a half times higher than the control value (68 % vs 46 %), and the proportion of homozygotes is reduced: AA is almost one and a half times (29 % vs 42 %), CC is more than four times (3 % vs 12 %). The frequency distribution of genotypes in the control group ideally corresponds to the Hardy–Weinberg proportion ($p^2_{AA} : 2pq_{AC} : q^2_{CC}$).

Table 1. The distribution of genotypes in healthy people and patients

Group	Index	Genotypes 1298A/C			Total
		AA	AC	CC	
Control	<i>n</i> *	79	85	22	186
	%	42.5	45.7	11.8	100
	95% CI	35.6 – 49.7	38.7 – 52.9	7.9 – 17.3	
Patients	<i>n</i> *	53	122	5	180
	%	29.4	67.8	2.8	100
	95% CI	23.3 – 36.5	60.6 – 74.2	1.0 – 6.5	
	Δ	↓1.44	↑1.48	↓4.21	
	RR	0.69	1.48	0.24	

* – Naghibalhossaini et al., 2015, CI – confidence interval, RR – relative risk, Δ – change from control, ↓ – decrease, ↑ – increase.

Allele A is the major one in the population of southern Iran. Allele frequency ratio ($p_A = 0.653$, $q_C = 0.347$) significantly differs from the 1 : 1 ratio ($p < 0.05$), that may indicate the adaptive disambiguity of these alleles with a selective advantage of one of them, although the drift of genes cannot be ruled out. Though the allele frequencies in patients were almost the same as in the control group, the distribution of genotypes did not correspond to the Hardy–Weinberg proportion.

Table 2. The allele frequencies

Group	Allele	Frequency	95 % CI
Control	A	0.653	0.604 – 0.700
	C	0.347	0.300 – 0.397
Patients	A	0.633	0.582 – 0.682
	C	0.347	0.319 – 0.418

CI – confidence interval.

Confidence intervals indicate the significance of all calculated odds ratio (OR) (table 3).

Table 3. Odds ratio for different genotypes

Testing genotype	a	b	c	d	OR	lnOR	S _{lnOR}	95% CI lnOR	95% CI OR
AA	53	79	127	107	0.565	-0.571	0.22	-1.011...-0.131	0.36 – 0.88
AC	122	85	58	101	2.500	0.916	0.22	0.476 – 1.356	1.61 – 3.88
CC	5	22	175	164	0,213	-1.532	0.51	-2.552...-0.512	0.08 – 0.60
AA+CC	58	101	122	85	0,400	-0.916	0.22	-1.356...-0.476	0.26 – 0.48

a – the number of patients with the testing genotype, b – the number of healthy people with the testing genotype, c – the number of patients without the testing genotype, d – the number of healthy people without the testing genotype, OR – the odds ratio, S_{lnOR} – the standard error of lnOR, CI – the confidence interval.

The RR value shows how much the risk of the disease is changing for the given genotype in comparison to the empirical risk (π) calculated as πRR . So, if we assume that the empirical probability for a resident of southern Iran to get multiple sclerosis is approximately 0.072 %, then the risk for AA and CC genotypes is reduced, and for the genotype AC is increased. The feasibility of using this method for screening programs can be estimated based on the statistical characteristics of the test (table 4).

Table 4. Statistic characteristics of the tests

Characteristics	Genotype		
	AA	CC	AC
Prevalence, $\pi = 0.000721^*$			
Index of sensitivity, %	40.2	18.5	58.9
Index of specificity, %	59.8	81.5	41.1
Prognostic value of positive result, %	0.05	0.03	1.2
Prognostic value of negative result, %	99.91	99.92	99.95

* Izadi et al., 2015

As can be seen, the prognostic significance of the results of testing the genotype for polymorphism 1298A/C of the *MTHFR* gene is very low, and this method is not advisable to include in screening programs. Nevertheless, it can be useful for consulting patients when choosing a treatment method taking into account the characteristics of the genotype, if any are found in special studies.

Discussion

In studies on associative genetics of various multifactorial diseases, it is most often found that the minor allele's frequency in the group of patients is higher than in the group of healthy people. This is not surprising, since it logically follows from the fact of the minority of the allele, due to its reduced adaptability, which manifests itself as a disease. In such cases, the minor allele is designated as provocative, and the major one as preventive in relation to the studied disease. The change in allele frequencies in the group of patients is caused by a shift in the ratio of genotypes compared to the control group. In the group of patients, the frequency of heterozygotes with one dose of a provocative allele is usually increased, and the frequency of homozygotes in the minor allele with two doses of a provocative allele is even more increased. The frequency of homozygotes for the major preventive allele is lower than in the control. This ratio of genotypes in the main and control groups is observed with the same viability of all genotypes. The similar result was found for the SNP 677T/C genotype of the same gene (Naghbalhossaini et al., 2015).

With regard to the *MTHFR* gene described by SNP 1298A/C, an unusual result was obtained. The allele frequencies in the control group and in patients with multiple sclerosis practically do not differ, but the distribution of genotypes in the group of patients is unusual. Among patients, the frequency of heterozygotes is increased and the frequency of both homozygotes is reduced. The formal phrase that

the observed distribution of genotypes corresponds to a certain genetic model gives little to understand this unusual result. It can be explained in different ways, for example by selection against heterozygotes. In this case, heterozygotes are characterized by reduced fitness compared to both homozygotes. The most famous example of the selection against heterozygotes is the hemolytic disease of newborns due to the incompatibility of Rh-positive fetus and Rh-negative mother. The physiological mechanism of hemolytic disease is well known, but how the reduced fitness of patients with the 1298AC genotype of the *MTHFR* gene is formed is not yet clear. Another reason for the unusual distribution of genotypes in the group of patients may be the uneven survival of patients with different genotypes (Fig. 1).

AA	AC	CC
Healthy	Healthy	Healthy
	Multiple sclerosis	Deaths due to multiple sclerosis
		Multiple sclerosis

Fig. 1. Scheme of population distribution and inclusion of patients in the sample

Following the logic described above, we assume that the major allele *A* of polymorphism 1298A/C *MTHFR* is protective, and the minor *C* is provocative. Then in the group of patients we naturally expect the percentage of *AA* homozygotes to be lower, and the percentage of *AC* heterozygotes and *CC* homozygotes to be higher than in the control. Nevertheless, the result coincides with the expected only partially and the patient sample seems to be truncated due to the lack of *CC* genotypes. It can be assumed that the lack of *CC* genotypes is due to more severe manifestation of the disease with increased mortality rate, which reduces the likelihood of patients with the *CC* genotype falling into the researcher's field of vision. This explanation seems reasonable, since the increased mortality rate of patients with multiple sclerosis is the well-known fact (Lunde et al., 2017).

The methodological problem of this study is probably non-comparable sex ratio in studied groups. In the group of multiple sclerosis, women account for 74 %, and the sex ratio in the control group is not indicated at all. Exposure to multifactorial diseases is known to be modified by sex. This means that the genetic and statistical characteristics obtained in such samples are subject to a statistical artifact similar to the long-known Simpson's paradox (Armitage, Berry, 1994). Multiple sclerosis is an age-related disease. Although the groups are heterogeneous by age, statistical indicators of the age distribution of patients and healthy people are not indicated, namely age can be the cause of a shift in genotypes due to differential survival of patients. It is important in terms of genetics that the studied group of patients is phenotypically heterogeneous, it presents patients with three forms of multiple sclerosis: relapsing–remitting multiple sclerosis (MS) – 128 (71 %), secondary progressive MS – 43 (24 %), primary progressive MS – 9 (5 %). These forms of multiple sclerosis can be associated with various genetic variants, therefore it is always important to ensure their maximum possible uniformity when forming groups for genetic analysis.

When reviewing scientific publications, authors usually indicate that the results do not coincide. The reason for this, as we see, may be in a different way of sampling, in particular, differentiation of the clinical forms of the disease. As for the polymorphism 1298A/C, for a definitive answer to its role in the disease of multiple sclerosis, it is necessary to conduct research on a well-organized sample.

References

- Armitage P., Berry G. (1994). *Statistical methods in medical research*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 620 p.
- Atramentova L.A. (2015). *Design and statistics of biological research*. Kharkiv: NTMT. 269 p. (in Russian)
- Ehyakonandeh H., Atramentova L.A. (2020). Prognostic value of markers in associative genetics. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 34, 63–68. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2020-34-7>

Izadi S., Nikseresht A.R., Poursadeghfard M. et al. (2015). Prevalence and incidence of multiple sclerosis in Fars Province, Southern Iran. *Iran J. Med. Sci.*, 40(5), 390–395.

Lunde H., Assmus J., Myhr K.M. et al. (2017). Survival and cause of death in multiple sclerosis: a 60-year longitudinal population study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 88(8), 621–625. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-315238>

Naghibalhossaini F., Ehyakonandeh H., Nikseresht A., Kamali E. (2015). Association between *MTHFR* genetic variants and multiple sclerosis in a Southern Iranian Population. *Int. J. Mol. Cell Med.*, 4(2), 87–93.

Молекулярно-генетичні дані з точки зору асоціативної та популяційної генетики

Л.О. Атраментова, Х. Ехьяконандех

У дослідженнях з асоціативної генетики мультифакторних захворювань зазвичай виявляється, що частота рідкісного в популяції алеля в групі пацієнтів вища, ніж у групі здорових людей. Через знижену пристосованість мінорний алель проявляється як хвороба. У таких випадках рідкісний алель функціонує як провокативний, а частий як протективний. В групі пацієнтів кількість гомозигот за частим алелем знижена, кількість гетерозиготних носіїв провокативного алеля збільшена, а частота гомозигот за провокативним алелем суттєво підвищена. Метою статті було проаналізувати незвичний результат щодо SNP 1298A/C гену *MTHFR* при розсіяному склерозі, отриманий раніше одним з авторів. Частота алелів у контрольній групі та у хворих на розсіяний склероз не відрізняється, але розподіл генотипів у пацієнтів порівняно із здоровими людьми не відповідає співвідношенню Харді–Вайнберга. Серед пацієнтів кількість гетерозигот збільшена, а кількість кожної з гомозигот зменшена. Збільшення частки гетерозигот можна пояснити наявністю одного провокативного алеля, але велика нестача гомозигот за мінорним алелем є незрозумілою. Для пояснення цього факту проаналізовано склад групи пацієнтів. Хоча пацієнти мають різний вік, група неоднорідна за статтю і за формою розсіяного склерозу, жоден з показників не врахований при аналізі розподілу генотипів. Вік маніфестації захворювання є діагностичною ознакою і може залежати від генотипу. Прояв мультифакторних захворювань залежить від статі. Клінічні форми захворювання зазвичай мають різну генетичну основу. Внаслідок нехтування переліченими умовами формується генетично неоднорідна група, на якій може бути одержано будь-який результат, що важко пояснити. Нестача генотипів CC може бути обумовлена підвищеною смертністю, що зменшує ймовірність потрапляння пацієнтів у вибірку. Проведений аналіз ще раз свідчить про необхідність для генетичного дослідження формувати однорідні групи пацієнтів.

Ключові слова: розсіяний склероз, SNP 1298A/C *MTHFR*, асоціативна генетика, методологія науки, дизайн дослідження, формування вибірки, природний добір, рівновага Харді–Вайнберга.

Про авторів:

Л.О. Атраментова – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, lubov.atramentova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7143-9411>

Х. Ехьяконандех – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, hesam.ehyakonandeh@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-2964-901X>

Молекулярно-генетические данные с точки зрения ассоциативной и популяционной генетики

Л.А. Атраментова, Х. Ехьяконандех

В исследованиях по ассоциативной генетике мультифакторных заболеваний обычно оказывается, что частота редкого в популяции аллеля в группе пациентов выше, чем в группе здоровых людей. Из-за пониженной приспособленности мінорный аллель проявляется как болезнь. В таких случаях редкий аллель функционирует как провокативный, а частый как протективный. В группе пациентов количество гомозигот по частому аллелю снижено, количество гетерозиготных носителей провокативного аллеля увеличено, а частота гомозигот по провокативному аллелю существенно повышена. Целью статьи было проанализировать необычный результат по SNP 1298A/C гена *MTHFR* при рассеянном склерозе, полученный ранее одним из авторов. Частота аллелей в контрольной группе и у больных рассеянным склерозом не отличается, но распределение генотипов у пациентов по сравнению со здоровыми людьми не соответствует соотношению Харди-Вайнберга. Среди пациентов количество гетерозигот увеличено, а количество каждой из гомозигот

уменьшено. Увеличение доли гетерозигот можно объяснить наличием одного провокативного аллеля, но большая нехватка гомозигот по минорному аллелю непонятна. Для объяснения этого факта проанализирован состав группы пациентов. Хотя пациенты имеют разный возраст, группа неоднородна по полу и по форме рассеянного склероза, ни один из показателей не учтен при анализе распределения генотипов. Возраст манифестации заболевания является диагностическим признаком и может зависеть от генотипа. Проявление мультифакторных заболеваний зависит от пола. Клинические формы заболевания обычно имеют разную генетическую основу. Вследствие пренебрежения перечисленными условиями формируется генетически неоднородная группа, на которой может быть получен любой результат, который трудно объяснить. Нехватка генотипов *CC* может быть обусловлена повышенной смертностью, что уменьшает вероятность попадания пациентов в выборку. Проведенный анализ еще раз свидетельствует о необходимости для генетического исследования формировать однородные группы пациентов.

Ключевые слова: *рассеянный склероз, SNP 1298A/C MTHFR, ассоциативная генетика, методология науки, дизайн исследования, формирование выборки, естественный отбор, равновесие Харди-Вайнберга.*

Об авторах:

Л.А. Атраментова – Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, lubov.atramentova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7143-9411>

Х. Эхьяконандех – Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, hesam.ehyakonandeh@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-2964-901X>

Подано до редакції / Received: 16.10.2020

Прорецензовано / Revised: 12.11.2020

Прийнято до друку / Accepted: 14.05.2021

Cite this article: Hajiyeva N.A. Association of *Balantidium coli* and intestinal coccidia (*Eimeria*, *Cryptosporidium*, *Isospora*) in domestic pigs in Azerbaijan. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology"*, 2021, 36, 41–47.

••• ЗООЛОГІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ ••• ZOOLOGY AND ECOLOGY •••

UDC: 586.893.16

Association of *Balantidium coli* and intestinal coccidia (*Eimeria*, *Cryptosporidium*, *Isospora*) in domestic pigs in Azerbaijan N.A. Hajiyeva

The purpose of our work is to determine the prevalence of associative infections of domestic pigs in the farms of Azerbaijan. The research was conducted in 2009–2015. The faeces samples were taken from 2272 domestic pigs of different ages kept in private farms in the districts of Balaken, Zagatala, Shamakhi, Ismayilli, Guba, Khachmaz, Khudat, Salyan and Absheron peninsula in Azerbaijan, in the region of the Great Caucasus. Species composition, infection intensity, and ecological features of the pig parasitic protozoans had not been studied prior to our research. In the course of our study, the associative invasions in domestic pigs were as follows: *Eimeria* and *Isospora* oocysts were found in 582 pigs (25.6 % out of the total animals examined), *Eimeria* and *Cryptosporidium* oocysts in 622 pigs (27.4 %), *Eimeria* oocysts with *Balantidium* cysts in 273 pigs (12.0 %), *Isospora* and *Balantidium* oocysts in 18 pigs (0.8 %), *Eimeria*, *Isospora* and *Cryptosporidium* oocysts were detected in mixed form from one pig only (0.04 %). None of the analysed faecal samples contained a four-component mixed parasitic invasion. The two-component mixed infestations, viz. Eimeriosis + Cryptosporidiosis and Eimeriosis + Isosporiasis, were recorded during the whole year, while the prevalence of Eimeriosis + Balantidiosis and Isosporiasis + Balantidiosis mixed infestations decreased in summer. Keeping pigs of different ages in one pen at the farms increases the risk of associative invasion. In the pig farms equipped with various technological devices, the epizootic situation is different. If the animals kept traditionally, the infestation with associative invasions is much higher. Among the animals that live in unventilated pens with a wooden floor, the intensity of mixed infestation is the highest that results in the extremely high economic loss in such farms. In the animals kept in warm pens with high humidity, the invasion intensity is high even in winter. The primary reasons of this phenomenon are heat and humidity that create favourable conditions for the exogenous development of coccidian oocysts.

Key words: *Eimeria*, *Isospora*, *Cryptosporidium*, *Balantidium*, domestic pigs, monoinvasion, associative invasion.

About the author:

N.A. Hajiyeva – Institute of Zoology, Azerbaijan NAS, A. Abbaszadeh Str., passage 1128, block 504, Baku, Azerbaijan, AZ1073, nuruhaciyeva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2500-5073>

Introduction

One of the factors hindering the increase in livestock and productivity is the association of various parasitic diseases. Thousands of specimens of a number of parasitic species can invade simultaneously the host animal and then reside in its organs and tissues, which results in severe degenerative changes, development delay, and, finally, death (Anisimova, 2013; Kulikova, 2010; Ponomarev et al., 2011). Parasitoses rarely act as monoinvasions. Mostly, they are caused by a combination of various species, which form an associative invasion. The course of associative invasions is more severe than that of monoinvasions (Gavrilova, Petrova, 2015; Maikai et al., 2009; Safiullin, Basyunin, 2008; Ponomarev et al., 2011). Investigation of associative invasions has scientific and practical significance for animal husbandry. In particular, the study of separate and mixed infestations of balantidium and intestinal and tissue coccids in domestic pigs is always relevant. It gives grounds for taking preventive measures and/or measures of pathogen eradication. Species composition, infection intensity, and ecological features of the pig parasitic protozoans in the region of Great Caucasus of Azerbaijan has not been studied prior to our research.

The aim of our study was to determine prevalence and composition of associative infections of domestic pigs in the farms of Azerbaijan.

Material and methods

The material was collected in the districts of Absheron, Salyan (lowland), Khudat, Khachmaz, Guba

(hills), Shamakhi, Ismayilli, Zagatala, and Balakan (mountains) in 2009–2015 (Fig. 1). To identify parasitic protozoans, we sampled faecal of 2272 pigs of different ages and then examined the collected material in the Laboratory of Protistology, Institute of Zoology of National Academy of Sciences of Azerbaijan. Each faecal sample was kept in 2.5 % potassium dichromate solution. The samples were processed by Flülleborn's flotation with the use of Darling's solution.

After centrifugation, the upper layer of supernatant was screened under a light microscope AMPLIVAL with magnification $\times 100$, 400, and 1000 depending on the objects, viz. *Isospora* and *Cryptosporidium* oocysts, *Balantidium* cysts and trophozoites. After the ethanol fixation, the slides were stained with carbol fuchsin and methyl green by Ziehl–Nielsen with a modification adopted to look for *Cryptosporidium* oocysts (Henriksen, Pohlenz, 1981). Safaraliyev's preservative was used to maintain viability of the balantidium cysts. Fresh faecal samples were placed on a microscope slide and mixed with an equal amount of warm isotonic sodium chloride solution. Then the sample was covered with a cover glass and examined at a low magnification ($\times 100$). Detected balantidium vegetative forms and cysts, as well as coccidian oocysts were measured on the eyepiece micrometer scale $\times 7$.



Fig. 1. Map of collecting localities in Azerbaijan

Sample proportion (percentage ratio of the number of animals excreting oocysts to the total number of examined animals – the disease prevalence (Pr)) and its standard error were calculated (Lakin, 1990) for each variant of associative invasion.

Results and discussion

Out of 2272 domestic pigs examined in the farms of Azerbaijan, *Eimeria* and *Isospora* oocysts were found in 582 pigs (25.6 % of all surveyed animals), *Eimeria* and *Cryptosporidium* oocysts in 622 pigs (27.4 %), *Eimeria* oocysts with *Balantidium* cysts in 273 pigs (12.0 %), *Isospora* oocysts in 18 pigs (0.8 %), and a mixture of *Eimeria*, *Isospora* and *Cryptosporidium* oocysts in one pig only (0.04 %).

Table 1. Associative invasions recorded in domestic pigs in Azerbaijan

Collecting locality	Number of examined animals	Diseases											
		Eimeriosis + Isosporiasis		Eimeriosis + Cryptosporidiosis		Eimeriosis + Balantidiosis		Cryptosporidiosis + Balantidiosis		Isosporiasis + Balantidiosis		Eimeriosis + Isosporiasis + Cryptosporidiosis	
		n	Pr ± mp%	n	Pr ± mp%	n	Pr ± mp%	n	Pr ± mp%	n	Pr ± mp%	n	Pr ± mp%
Absheron	380	71	18,7 ± 2,00	74	19,5 ± 2,03	68	17,9 ± 1,97	11	2,3 ± 0,77	2	0,5 ± 0,36	-	-
Salyan	97	41	42,3 ± 5,02	52	53,6 ± 5,06	22	22,7 ± 4,25	-	-	-	-	-	-
Khudat	224	88	39,3 ± 3,26	80	35,7 ± 3,20	27	12,1 ± 2,18	16	7,1 ± 1,72	1	0,4 ± 0,42	-	-
Khachmaz	274	73	26,6 ± 2,67	117	42,7 ± 2,99	28	10,2 ± 1,83	11	4,0 ± 1,18	5	1,8 ± 0,8	-	-
Guba	222	54	24,3 ± 2,88	68	30,6 ± 3,09	17	7,6 ± 1,78	7	3,2 ± 1,18	3	1,4 ± 0,79	-	-
Shamakhi	152	53	34,9 ± 3,87	53	34,9 ± 3,87	18	11,8 ± 2,62	9	5,9 ± 1,91	3	1,9 ± 1,11	-	-
Ismayilli	714	153	21,4 ± 1,53	138	19,3 ± 1,48	75	10,5 ± 1,15	21	2,9 ± 0,63	1	0,1 ± 0,12	1	0,1 ± 0,12
Balakan	127	25	19,7 ± 3,53	12	9,4 ± 2,59	12	9,4 ± 2,59	7	5,5 ± 2,02	-	-	-	-
Zagatala	82	24	29,3 ± 5,03	28	34,1 ± 5,23	6	7,3 ± 2,87	3	3,7 ± 2,08	3	3,7 ± 2,08	-	-
Total	2272	582	25,6 ± 0,92	622	27,4 ± 0,94	273	12,0 ± 0,68	86	3,7 ± 0,40	18	0,81 ± 0,57	1	0,04 ± 0,04

Notes: n – number of infected animals; Pr – prevalence of parasitosis; mp% – standard error.

In the course of our study, *Eimeria* (*E. deblickei* Douwes, 1921, *E. polita* Pellerdy, 1949, *E. scabra* Henry, 1931, *E. perminuta* Henry, 1931), *Isospora* (*I. suis* Biester, Murray, 1934), *Cryptosporidium* (*C. parvum* Tyzzer, 1912), and *Balantidium* (*B. suis* (sp. nov.)) were constantly detected at the pig farms. Most mixed infections were caused by the protists of two genera that formed two-component parasitic infection: Eimeriosis + Isosporiasis, Eimeriosis + Cryptosporidiosis, Eimeriosis + Balantidiosis, Cryptosporidiosis + Balantidiosis, and Isosporiasis + Balantidiosis. Only one case of a three-component infestation (Eimeriosis + Isosporiasis + Cryptosporidiosis) was registered. The most frequent forms were Eimeriosis + Isosporidiosis, Eimeriosis + Cryptosporidiosis and Eimeriosis + Balantidiosis. The prevalence of *Eimeria* + *Isospora* infestation ranged from 18.7 % to 42.3 %, and that of *Eimeria* + *Cryptosporia* from 9.4 % to 42.7 %. In case of Cryptosporidiosis + Balantidiosis and Isosporiasis + Balantidiosis, the prevalence was much lower, 3.7 % and 0.81 %, respectively. Eimeriosis +

Isosporidiosis + Cryptosporidiosis association was registered in one out of 714 animals examined in the District of Ismayilli (Table 1).

Two-component invasions, viz. Eimeriosis + Isosporidiosis, Eimeriosis + Cryptosporidiosis, and Eimeriosis + Balantidiosis, were observed in suckling pigs and in 2–5 year-old pigs. Associations of *Eimeria* + *Isospora* (Pr 25.6 %) and *Isospora* + *Cryptosporidia* (Pr 27.4 %) were detected in pigs of 6–9 months. Cryptosporidiosis + Balantidiosis and Isosporiasis + Balantidiosis affect pigs of 1–2 and 3–4 years. Due to higher immunity against coccidiosis, the disease prevalence in the animals of aged group was lower than that in young animals.

We consider that high prevalence of mixed infestations in animals of six days and from one to nine months is associated with high animal density in pigsties, failure to comply with veterinary standards and lack of immunity against these parasitoses. Epizootic situation in the collective farm named after Nikitin in Ivanovka village of Ismayilli district differs from the situation in the individual farm economies. Keeping pigs clean in small groups, temporary cleaning and washing the pig flop and place, periodic disinfection of pens, and automation of technological processes results in low prevalence of infestation. *Balantidium* cysts and coccid oocysts were one by one found as a form of mixed infestation during faecal examination of the materials taken from the animals in this farm. An average prevalence of infestation in Ismayilli District averaged 0.1–2.14 % (Table 1).

The study of seasonal dynamics of various mixed invasions revealed two peaks, in spring and autumn.

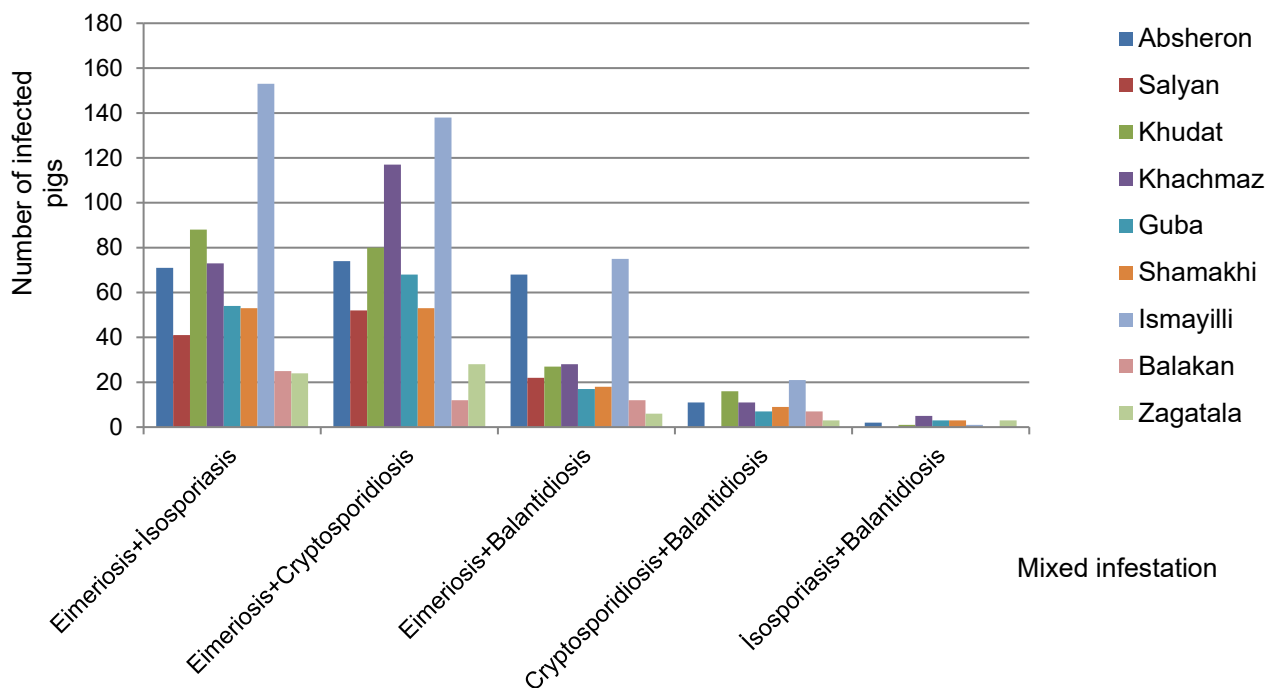


Fig. 2. Occurrence of domestic pig infections in the studied districts of Azerbaijan

A complete analysis of faecal samples taken all year round showed that the two-component mixed infestations (Eimeriosis + Cryptosporidiosis and Eimeriosis + Isosporiasis) were recorded during the whole year, while the prevalence of Eimeriosis + Balantidiosis and Isosporiasis + Balantidiosis was lower in summer. *Eimeria* + *Isospora* and *Eimeria* + *Cryptosporidium* oocysts were found in mixed form during the whole year. The highest prevalence of Eimeriosis + Balantidiosis was registered in Salyan District (22.7 %) and on the Absheron peninsula (17.9 %), the lowest ones were recorded from the districts of Guba (7.6 %) and Zagatala (7.3 %). Invasion of *Cryptosporidium* + *Balantidium* was not registered in Salyan District; the highest prevalence of this invasion was recorded from Khudat District (7.1 %), and the lowest one, from Ismayilli District (2.9 %) (Fig. 2).

A three-component mixed infestation (Eimeriosis + Isosporiasis + Cryptosporidiosis) was found in spring in Ismayilli district. A four-component mixed infestation (*Eimeria* + *Isospora* + *Cryptosporidium* + *Balantidium*) was not detected in the examined pigs. In addition to intestinal protozoan parasites, we found eggs of *Ascarissuum* spp. (Nematoda) in aged (geriatric) mother pigs.

According to literature data, parasitic diseases are detected in all regions where people keep domestic pigs. The most spread are parasitic protozoans, helminths and mixed infestations. For instance, the economies of 14 cities and suburbs were investigated in Kenya (Eastern Africa). In the cities, the disease prevalence was as follows: Strongylid nematodi (11.7 %), *Ascarissuum* spp. (1.8 %), *Entamoeba* ssp (27.2 %), *Balantidium coli* (3.8 %) and *Coccidia* spp. (3.3 %); in the suburbs, it was rather different: Strongylid nematodi (9.7 %), *Ascarissuum* spp. (12.9 %), *Entamoeba* spp. (51.6 %), *Balantidium coli* (20.6 %), and *Coccidia* spp. (5.5 %) (Mhoma et al., 2011). In Russia (the City of Ryazan, 2013), the prevalence of Ascariidosis + Balantidiosis was 41 %, Ascariidosis + Oesophagostomosis – 21.5 %, Oesophagostomosis + Balantidiosis – 23.5 %, Nematodiasis + Balantidiosis + Isosporiasis – 9–12 % (Yengashev et al., 2014).

In Azerbaijan, mixed invasions were studied in various domestic animals (Musaev et al., 1985; Iskenderova, 2007). For example, in the poultry (goose, duck, quail and turkey) investigated in several districts in 2002–2010, the highest prevalence was registered in quails and the lowest in turkey (Gasanova, 2012). The prevalence of *Eimeriosis* + *Cryptosporidiosis* in cattle in the Balakan-Shaki region in 2009–2011 was 14.3 % (Gaibova et al., 2011).

Epizootic situations of parasitic diseases in the pig breeding farms vary depending on the technologies used. The prevalence of various parasitoses is higher in the animals under traditional treatment if they are kept in pens with wooden floor not cleaned in a proper way. Monoinfections complicated with mixed invasions thrive in such farm economies that causes severe economic losses.

We consider that keeping old (geriatric) and young pigs together in farm economies promotes occurrence of associative invasions. Being the source of infection in latent period, these animals play an important role in spreading pathogens of various diseases. Untimely cleaning and disinfection results in activation the pathogenic forms (appearance of infective stages of parasites) that, in turn, increases the prevalence and infection intensity of both mono and mixed invasions. Therefore, keeping conditions impacts dramatically on the epizootic state of protozooses.

Conclusion

Our research has showed that mixed infestation of domestic pigs at private farms and pig breeding complexes in the study area of Azerbaijan is high. Eimeriosis + Cryptosporidiosis (27.4 % of the total cases studied) is prevalent; the disease peaks in spring and autumn.

References

- Anisimova M.A. (2013). Mixed infestation of pigs (features of epizootology, complex treatment and prophylactic measures). Materials of the scientific conference "*Theory and Practice of the Control of Parasitic Diseases*". Moscow. Issue 14. P. 23–26. (in Russian)
- Gaibova G.D., Iskenderova N.G., Hajiyeva N.A. et al. (2011). Intestinal coccidians of cattle in the Balakan-Sheki region of Azerbaijan. *Actual problems of parasitology in Georgia*. Tbilisi. P. 84–88. (in Russian)
- Gasanova J.V. (2012). Parasitic protozoa (Protozoa, Apicomplexa) of poultry in Absheron. Thesis for the Degree of Candidate of Biological Sciences. Baku. P. 78–80. (in Russian)
- Gavrilova N.A., Petrova M.S. (2015). Mixed infestation of pigs in industrial farms. Materials of the II International Veterinary Congress "International VET Istanbul Group Congress". St. Petersburg. P. 333–334. (in Russian)
- Henriksen S.A., Pohlenz J.F. (1981). Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta veterinaria Scandinavica*, 22(3–4), 594–596.
- Iskenderova N.G. (2007). Eimeriid coccidians (Sporozoa, Apicomplexa) of farm animals in Azerbaijan. *Proceedings of Azerbaijan National Academy of Sciences (Biological and Medical Sciences)*, 2, 81–91. (in Russian)

- Kulikova O.L. (2010). *Mono- and mixed parasitoses of animals in the Middle and Lower Volga region and their biological hazard (epizootological monitoring and control measures)*. Abstract of the thesis for the Degree of the Doctor of Vet. Sciences. Nizhny Novgorod. 51 p. (in Russian)
- Lakin G.F. (1990). *Biometry*. Moscow: Vysshaya Shkola. P. 178–182. (in Russian)
- Maikai B.V., Umoh J.U., Kwaga J.K. et al. (2009). Prevalence and risk factors associated with faecal shedding of *Cryptosporidium* oocysts in piglets, Kaduna. *Nigeria Journal of Parasitology and Vector Biology*, 1(1), 1–4.
- Mhoma J.R.L., Kanyari P.W.N., Kagira J.M. (2011). The prevalence of gastro-intestinal parasites in goats in urban and periurban areas of Mwanza City, Tanzania. *Sci. Parazitol.*, 12(4), 191–196.
- Musaev M.A., Alieva F.K., Abidova H.S., Borovskikh D.R. (1985). Coccidia (Apicomplexa: Eimeridae, Sarcocystidae) of pigs in Azerbaijan. *Proceedings of the Transcaucasian Conference on Parasitology* (12–14 June 1984). Tbilisi, Metzniereba. P. 69–70. (in Russian)
- Ponomarev N.M., Tikhaya N.V., Ponomarev A.N. (2011). Epizootology of mixed infestation of pigs in the farms of the Altai Territory. *Bulletin of the Altai State Agrarian University*, 7(81), 71–75. (in Russian)
- Safiullin R.T., Basyin S.E. (2008). Monitoring of the epizootic situation of the most common pig parasitic diseases in farms of various types by zones of the country. Materials of reports of the scientific conference "Theory and Practice of the Control of Parasitic Diseases", Moscow. P. 411–415. (in Russian)
- Yengashev S.V., Daugalieva E.H., Novak M.D., Anisimova M.A. (2014). Methodical guidelines for treatment and prevention of mixed infections in pigs in commercial, individual and husbandry farms. *Russian Journal of Parasitology*, 2, 121–125. (in Russian)

Асоціація *Balantidium coli* і кишкових кокцидій (*Eimeria*, *Cryptosporidium*, *Isospora*) у свійських свиней в Азербайджані

Н.А. Гаджиева

Мета дослідження – визначення картини поширення асоціативних інвазій у свійських свиней у фермерських господарствах. Дослідження проводилися в 2009–2015 рр. Були зібрані і проаналізовані зразки калу свійських свиней (2272 голів) різного віку в приватних фермерських господарствах у Балакененському, Загатальському, Шамахінському, Ісмаїлінському, Губинському, Хачмазькому, Худатському, Сальянському районах і на Апшеронському півострові, що входять до складу Азербайджану. Видовий склад, ступінь поширення у свиней та екологічні особливості паразитичних найпростіших на цій території раніше вивчені були. Виявлено, що асоціація інвазивності у свійських свиней у зазначених районах така: ооцисти *Eimeria* і *Isospora* виявлені у 582 свиней (25,6 %), ооцисти *Eimeria* і *Cryptosporidium* у 622 свиней (27,4 %), ооцисти *Eimeria* і цисти *Balantidium* у 273 свиней (12,0 %), ооцисти *Isospora* і *Balantidium* у 18 свиней (0,8 %), ооцисти *Eimeria*, *Isospora* і *Cryptosporidium* у 0,04 % свиней. З проаналізованих зразків калу жоден не містив 4-компонентну мікст-інвазію. Двокомпонентні мікст-інвазії Eimeriosis + Cryptosporidiosis і Eimeriosis + Isosporiasis відзначалися протягом усього року, рівень асоціативних інвазій Eimeriosis + Balantidiosis і Isosporiasis + Balantidiosis був нижче влітку. Утримання свиней різного віку в одному приміщенні на фермах сприяє їх зараженню різними видами паразитів, що призводить до появи асоціативних інвазій. У свинарських фермах, які оснащені різними технологічними пристосуваннями, епізоотичні ситуації паразитарних захворювань будуть різні. Таким чином, серед тварин, які утримуються традиційним чином, зараженість набагато вище. У тварин, які утримуються в непродітованих приміщеннях з дерев'яною підлогою, екстенсивність мікст-інвазій найбільш висока, і економічний збиток на таких фермах великий. У тварин, які утримуються в теплих приміщеннях з високою вологістю, навіть взимку екстенсивність інвазії буває високою, оскільки тепло і вологість створюють сприятливі умови для екзогенного розвитку ооцист кокцидій.

Ключові слова: еймерії, ізоспоридії, криптоспоридії, балантидії, свійські свині, моноінвазія, асоціативна інвазія, Азербайджан.

Про автора:

Н.А. Гаджиева – Інститут зоології НАН Азербайджану, вул. А. Аббасаде, проїзд 1128, квартал 504, Баку, Азербайджан, AZ1073, nuruhaciyeva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2500-5073>

Ассоциация *Balantidium coli* и кишечных кокцидий (*Eimeria*, *Cryptosporidium*, *Isospora*) у домашних свиней в Азербайджане

Н.А. Гаджиева

Цель исследования – определение картины распространения ассоциативных инвазий у домашних свиней в фермерских хозяйствах. Исследования проводились в 2009–2015 гг. Были собраны и проанализированы образцы кала домашних свиней (2272 голов) разного возраста в частных фермерских хозяйствах в Балакененском, Загатальском, Шамахинском, Исмаиллинском, Губинском, Хачмазском, Худатском, Сальянском районах и на Апшеронском полуострове, входящих в состав Азербайджана. Видовой состав, степень распространения у свиней и экологические особенности паразитических простейших на этой территории ранее изучены не были. Обнаружено, что ассоциация инвазивности у домашних свиней в указанных районах такова: ооцисты *Eimeria* и *Isospora* обнаружены у 582 свиней (25,6 %), ооцисты *Eimeria* и *Cryptosporidium* у 622 свиней (27,4 %), ооцисты *Eimeria* и цисты *Balantidium* у 273 свиней (12,0 %), ооцисты *Isospora* и *Balantidium* у 18 свиней (0,8 %), ооцисты *Eimeria*, *Isospora* и *Cryptosporidium* у 0,04 % свиней. Из проанализированных образцов кала ни один не содержал 4-компонентную микст-инвазию. Двухкомпонентные микст-инвазии Eimeriosis + Cryptosporidiosis и Eimeriosis + Isosporiasis отмечались на протяжении всего года, уровень ассоциативных инвазий Eimeriosis + Balantidiosis и Isosporiasis + Balantidiosis был ниже летом. Содержание свиней разного возраста в одном помещении на фермах способствует их заражению различными видами паразитов, что приводит к появлению ассоциативных инвазий. В свиноводческих фермах, которые оснащены различными технологическими приспособлениями, эпизоотические ситуации паразитарных заболеваний будут разные. Таким образом, среди животных, которые содержатся традиционным образом, зараженность намного выше. У животных, которые содержатся в непрветриваемых помещениях с деревянным полом, экстенсивность микст-инвазий наиболее высокая, и экономический ущерб на таких фермах велик. У животных, которые содержатся в теплых помещениях с высокой влажностью, даже зимой экстенсивность инвазии бывает высокая, так как тепло и влажность создают благоприятные условия для экзогенного развития ооцист кокцидий.

Ключевые слова: эймерии, изоспоридии, криптоспоридии, балантидии, домашние свиньи, моноинвазия, ассоциативная инвазия, Азербайджан.

Об авторе:

Н.А. Гаджиева – Институт зоологии НАН Азербайджана, ул. А. Аббасзаде, проезд 1128, квартал 504, Баку, Азербайджан, AZ1073, nuruhaciyeva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2500-5073>

Подано до редакції / Received: 21.12.2020

Прорецензовано / Revised: 09.04.2021

Прийнято до друку / Accepted: 11.05.2021

Cite this article: Ibrahimov Sh.R., Mamedova S.N. Ecological analysis of the fish cestode fauna of the mouth of Kura River. The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology", 2021, 36, 48–57.

UDC: 576.895.121

Ecological analysis of the fish cestode fauna of the mouth of Kura River Sh.R. Ibrahimov, S.N. Mamedova

The research was conducted in 2014–2019 in the mouth of Kura River. A total of 334 fish specimens of 24 species were examined by the method of full parasitological dissection. As a result, 17 tapeworm species in two orders and eight families were found: *Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*, *Eubothrium acipenserinum*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Proteocephalus filicollis*, *P. gobiorum*, *P. ocellata*, *P. osculatus*, *Siluritaenia siluri*, *Gryporhynchus pusillus*, and *Paradilepis scolecina*. Of these, seven species are specific cyprinid parasites, two species are specific sturgeon parasites, two species are specific to sticklebacks, two species to catfish, and one species to gobies; the other three species parasitize in fishes of various families. The main organ of cestode localisation in the studied fishes is the intestinal lumen, where 11 worm species were found. In other fish organs (body cavity, mucous membrane of the anterior intestine, liver, mesentery, and intestinal walls), the number of tapeworm species ranged from one to four. One cestode species invaded from one to seven fish species. In the bream, we found six tapeworm species, while in the other fish species, from one to five. Among the cestodes found, 14 species infect zooplankton-eating fish and only three species (*Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*) infect fish that feeds on benthic invertebrates. The largest trophic group was the benthophages; they hosted 12 cestode species. In the planktophages and predators, we found eight and seven tapeworm species, respectively. Predatory fishes like pike, asp, round and bighead gobies accumulate parasites from the bodies of their preys, consequently, their cestode fauna is the richest. Most recorded fishes are euryhaline. Nevertheless, due to the absence of typical marine forms among the found cestodes, we registered more tapeworm species in the fish occurring the highly desalinated area of the Kura mouth than in more mineralized water. Six recorded species (*Caryophyllaeus fimbriceps*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Digramma interrupta*, and *Paradilepis scolecina*) are causative agents of fish diseases. *Ligula colymbi* and *L. intestinalis*, which have large plerocercoids, caused pathogenic changes in fish organisms. The other pathogenic species did not induce noticeable disorders. They are much smaller, and, thereto, had comparatively low invasion rate in the examined fish.

Key words: parasites, cestodes, fish, Kura River, Caspian Sea.

About the authors:

Sh.R. Ibrahimov – Institute of Zoology, Azerbaijan NAS, A. Abbaszadeh Str., passage 1128, block 504, Baku, Azerbaijan, AZ1073, shaig.ib@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9040-3000>

S.N. Mamedova – Azerbaijan Medical University, Rashid Behbutov Str., 134, Baku, Azerbaijan, AZ1014, seva_mam@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3682-5915>

Introduction

As the largest river in the Caucasus, the Kura is 1515 km long and has a catchment area of 188,000 km². Originating in Turkey, it passes through Georgia and Azerbaijan, and flows into the southwest part of the Caspian Sea. The river delta is formed by several small and two main branches, which account for 85 % of the total flow. The delta area is 15 000 ha, its width is about 15 km, and its length is 20 km in the southeast direction. The water salinity in the river mouth fluctuates within 2–7 ‰. Its soil consists of sand, silty sand and silt; the microphytes are well developed there. Invertebrate fauna numbers 34 species of zooplankton and 83 species of zoobenthos. There are some semi-migratory fishes, such as roach, kutum, zante, asp, shemaya, silver bream, bream, carp, catfish, and zander, which spawn in the delta. Sturgeons, Caspian common sprat, Caspian shad, black-backed shad, pike, South Caucasian bleak, stickleback, atherina, golden mullet, perch and gobies also occur there. The delta is a habitat of a large number of waterfowl, including fish-eating birds, as well as amphibians and reptiles: green toad, tree frog and marsh frog, Caspian tortoise, European pond terrapin, and grass snake (Potential Ramsar Sites of Azerbaijan, 2000; Ismayilov, 2005).

Despite the fact that investigation of fish cestodes in the area in question is of great practical and theoretical importance, these parasites remained unstudied prior to our works. In contrast, other areas of the Caspian Sea (Ibragimov, Mamedova, 2005, 2007; Ibragimov, 2012; Mamedova, 2016; Mamedova, Veliyeva, 2017, etc.), as well as various water bodies of Azerbaijan (Mikailov, 1975; Mikailov, Ibragimov,

1980) were investigated well. Therefore, the purpose of our study was to make a list of fish cestodes occurring in the mouth of Kura River and to analyse their ecological traits.

Material and methods

In 2014–2019, we examined 334 fishes of 24 species caught in the mouth of Kura River: Persian sturgeon – *Acipenser gueldenstadti*, Caspian sprat – *Clupeonella delicatula caspia*, Caspian shad – *Alosa caspia caspia*, black-backed shad – *A. kessleri kessleri*, pike – *Esox lucius*, Caspian roach – *Rutilus rutilus caspius*, kutum – *R. frisii kutum*, Caspian asp – *Aspius aspius taeniatus*, shemaya – *Chalcalburnus chalcoides*, Transcaucasian bleak – *Alburnus hohenerkeri*, Transcaucasian silver bream – *Blicca bjoerkna transcaucasica*, bream – *Abramis brama orientalis*, Caspian zante – *Vimba vimba persa*, golden carp – *Carassius gibelio*, carp – *Cyprinus carpio*, catfish – *Silurus glanis*, small southern stickleback – *Pungitius platygaster*, pipe fish – *Syngnathus nigrolineatus caspius*, atherina – *Atherina boyeri caspia*, golden mullet – *Chelon auratus*, zander – *Sander lucioperca*, perch – *Perca fluviatilis*, round goby – *Neogobius melanostomus*, bighead goby – *Ponticola gorlap*. Fish species were identified using Abdurakhmanov, 1962, Bogutskaya et al., 2013, and Reshetnikov, 2003, the scientific nomenclature follows Freyhof et al., 2020. The method of full parasitological dissection (Bykhovskaya-Pavlovskaya, 1985; Pronina, Pronin, 2007) was applied and the corresponding keys (Gaevskaya et al., 1975; Dubinina, 1987) were used to identify tapeworm species occurred in the fish. The obtained material in the form of permanent slides is deposited at the Department of Medical Biology and Genetics of the Azerbaijan Medical University. A schematic map of the study area and collecting localities is given in Fig. 1.



Fig. 1. A schematic map of the study area and collecting localities

Results

In the course of fish study in the mouth of Kura River, we found 17 helminths species of the class Cestoda. A taxonomic overview of these species is provided with the host names, prevalence (%) and intensity (specimens) of invasion, and parasite localisation in the fish body.

Class TAPEWORMS – CESTODA Rudolphi, 1808
Order CARYOPHYLLIDEA Van Beneden in Carus, 1863
Family Caryophyllaeidae Leuckart, 1878

Caryophyllaeus fimbriceps Annenkova-Chlopina, 1919

Hosts: roach (11.8 %), bream (21.4 %), golden carp (15.4 %), carp (16.7 %); invasion intensity in the study area: 1–6 specimens.

Localization: intestine.

The adult form parasitizes in the intestine of cyprinids, intermediate hosts are oligochaetes of the family Tubificidae (Dubinina, 1987).

C. laticeps (Pallas, 1781)

Hosts: roach (17.7 %), asp (15.4 %), silver bream (30.0 %), bream (14.3 %), carp (16.7 %); invasion intensity in the study area: 1–14 specimens.

Localization: intestine.

The adult form parasitizes in the intestine of cyprinids, the larvae are tubificid parasites (Dubinina, 1987).

Caryophyllaeides fennica (Schneider, 1902)

Hosts: roach (5.9 %), silver bream (10.0 %), bream (21.4 %), golden carp (23.1 %); invasion intensity in the study area: 1–7 specimens.

Localization: intestine.

Parasitizes in the intestine of cyprinids. Presumed intermediate hosts are oligochaetes (Dubinina, 1987).

Order PSEUDOPHYLLIDEA Carus, 1863

Family Amphicotyliidae Ariola, 1899

Eubothrium acipenserinum Cholodkovsky, 1918

Host: sturgeon (in one of the two examined individuals); invasion intensity in the study area: 7 specimens.

Localization: intestine.

Parasitizes in the intestine of sturgeon. Its life cycle is unstudied; the assumed intermediate hosts are benthic invertebrates (Dubinina, 1987).

Family BOTHRIOCEPHALIDAE Blanchard, 1934

Bothriocephalus acheilognathi Yamaguti, 1934

Hosts: roach (29.4 %), asp (22.2 %), shemaya (16.7 %), carp (20.0 %), round goby (17.7 %), bighead goby (25.0 %); invasion intensity in the study area: 2–12 specimens.

Localization: intestine.

Parasitizes in the intestine of cyprinids, sometimes occurs in some predatory fish; intermediate hosts are cyclops (Musselius, 1974).

Family LIGULIDAE Claus, 1885

Ligula colymbi Zeder, 1803

Hosts: shemaya (5.6 %), bleak (9.5 %); invasion intensity in the study area: 1–3 specimens.

Localization: body cavity.

Plerocercoids live in the body cavity of cyprinids and cobitids (mainly spined loaches), the first intermediate host is copepods, the definitive ones are grebes, less common are gulls and other fish-eating birds (Dubinina, 1966).

L. intestinalis (L., 1758)

Hosts: bleak (23.8 %), silver bream (20.0 %), bream (30.8 %), golden carp (7.7 %); invasion intensity in the study area: 1–3 specimens.

Localization: body cavity.

Plerocercoids parasitize in the body cavity of cyprinids, proceroids occur in the body cavity of copepods, adult worms – in the intestine of fish-eating birds, more common in gulls (Dubinina, 1966).

Digamma interrupta (Rudolphi, 1810)

Hosts: bleak (14.3 %), bream (14.3 %), carp (6.7 %); invasion intensity in the study area: 1–4 specimens.

Localization: body cavity.

Plerocercoids parasitize in the body cavity of cyprinids, proceroids occur in the body cavity of copepods, adult worms – in the intestine of fish-eating birds (Dubinina, 1966).

Schistocephalus pungitii Dubinina, 1959

Hosts: stickleback (33.3 %); invasion intensity in the study area: 1–3 specimens.

Localization: body cavity.

Plerocercoids are parasites of the body cavity of sticklebacks; proceroids occur in the body cavity of copepods, adult worms – in the intestine of fish-eating birds (Dubinina, 1966).

Family CYATOCEPHALIDAE Nybelin, 1922

Bothrimonus fallax Lühe, 1900

Hosts: sturgeon (in both studied individuals); invasion intensity in the study area: 1–12 specimens.

Localization: intestine.

Parasitizes in the digestive tract of sturgeon, intermediate host is an amphipod *Dikerogammarus haemobaphes* (Sudarikov, Kurochkin, 1964).

Family Proteocephalidae La Rue, 1911

Proteocephalus filicollis (Rudolphi, 1810)

Hosts: stickleback (42.9 %); invasion intensity in the study area: 1–4 specimens.

Localization: intestine.

Parasitizes in the intestine of sticklebacks, intermediate hosts are cyclops (Dubinina, 1987).

P. gobiorum Dogiel et Bychowsky, 1939

Hosts: round goby (23.5 %), bighead goby (33.3 %); invasion intensity in the study area: 1–14 specimens.

Localization: intestine.

Parasitizes in the digestive tract of gobies (Dubinina, 1987).

P. ocellata (Rudolphi, 1802)

Hosts: pike (10.0 %), zander (16.7 %), perch (34.5 %); invasion intensity in the study area: 1–9 specimens.

Localization: intestine.

Parasite of the intestine of perch, pike, asp, sometimes in other predatory fish, intermediate hosts are cyclops (Dubinina, 1987).

P. osculatus (Goeza, 1782)

Host: catfish (91.6 %); invasion intensity in the study area: 21–276 specimens.

Localization: intestine.

Parasitizes in the European catfish intestine (Dubinina, 1987).

Siluritaenia siluri (Batsch, 1786)

Host: catfish (83.3 %); invasion intensity in the study area: 11–76 specimens.

Localization: intestine.

Parasitizes in the European catfish intestine (Dubinina, 1987).

Family GRYPORHYNCHIDAE Spassky et Spasskaya, 1973

Gryporhynchus pusillus Nordmann, 1832

Hosts: shemaya (22.2 %), bleak (19.1 %), bream (14.3 %), carp (13.3 %), catfish (16.7 %), bighead goby (25.0 %); invasion intensity in the study area: 1–9 specimens.

Localization: mucous membrane of the anterior intestine.

Parasitizes in the mucous membrane of the anterior intestine of various fishes, mainly cyprinids (Dubinina, 1987).

Family DILEPIDIDAE Railliet et Henry, 1909

Paradilepis scolecina (Rudolphi, 1819)

Hosts: kutum (6.7 %), asp (38.4 %), bleak (23.8 %), silver bream (20.0 %), zante (12.5 %), round goby (23.5 %), bighead goby (33.3 %); invasion intensity in the study area: 2–16 specimens.

Localization: body cavity, liver, mesentery, intestinal walls.

Plerocercoids occur in the body cavity, in the liver, on the mesentery and the intestinal walls of various fishes. Proceroids parasitize in copepods, the adult worms – in the intestine of cormorants, (Jarecka, 1970).

Out of 17 cestode species registered, the six are fish parasites at the larval stage (*Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Digamma interrupta*, *Schistocephalus pungitii*, *Gryporhynchus pusillus*, and *Paradilepis scolecina*). They reach sexual maturity in the body of fish-eating birds, which are their definitive hosts. The other 11 species use fish only as definitive hosts. The most typical organ of the parasite localization is the intestinal lumen: 11 cestode species were registered there. Four species were found in the body cavity and one species in the mucous membrane of the anterior intestine. One species invaded various organs; body cavity, liver, mesentery and intestinal walls.

One cestode species can infect from one to seven fish species: *Paradilepis scolecina* has seven host species, *Bothriocephalus acheilognathi* and *Gryporhynchus pusillus* – six, *Caryophyllaeus laticeps*, *Caryophyllaeus fimbriceps*, *Caryophyllaeides fennica*, and *Ligula intestinalis* – four, *Proteocephalus ocellata* – three, *Ligula colymbi*, *Digamma interrupta* and *Proteocephalus gobiorum* – two, *Eubothrium acipenserinum*, *Schistocephalus pungitii*, *Bothrimonus fallax*, *Proteocephalus filicollis*, *P.osculatus*, and *Siluritaenia siluri* – only one fish species.

The largest number of tapeworm species was found in the bream. It was a host of six cestode species: *Caryophyllaeus fimbriceps* (21.4 %), *C. laticeps* (14.3 %), *Caryophyllaeides fennica* (21.4 %), *Ligula intestinalis* (30.8 %), *Digamma interrupta* (14.3 %), and *Gryporhynchus pusillus* (14.3 %). The bleak had five cestode species: *Ligula colymbi* (9.5 %), *L. intestinalis* (14.3 %), *Digamma interrupta* (14.3 %), *Gryporhynchus pusillus* (19.1 %), *Paradilepis scolecina* (23.8 %); the carp – five species: *Caryophyllaeus fimbriceps* (16.7 %), *C. laticeps* (16.7 %), *Bothriocephalus acheilognathi* (20.0 %), *Digamma interrupta* (6.7 %), *Gryporhynchus pusillus* (13.3 %); the roach – four species: *Caryophyllaeus fimbriceps* (11.8 %), *C. laticeps* (17.7 %), *Caryophyllaeides fennica* (5.9 %), *Bothriocephalus acheilognathi* (29.4 %); the silver bream – four species: *Caryophyllaeus laticeps* (30.0 %), *Caryophyllaeides fennica* (10.0 %), *Ligula intestinalis* (20.0 %), *Paradilepis scolecina* (20.0 %); the bighead goby – four species: *Bothriocephalus acheilognathi* (25.0 %), *Proteocephalus gobiorum* (33.3 %), *Gryporhynchus pusillus* (25.0 %), *Paradilepis scolecina* (33.3 %); the asp – three species: *Caryophyllaeus laticeps* (15.4 %), *Bothriocephalus agobycheilognathi* (22.2 %), *Paradilepis scolecina* (38.4 %); the shemaya – three species: *Bothriocephalus acheilognathi* (16.7 %), *Ligula colymbi* (5.6 %), *Gryporhynchus pusillus* (22.2 %); the golden carp – three species: *Caryophyllaeus fimbriceps* (15.4 %), *Caryophyllaeides fennica* (23.1 %), *Ligula intestinalis* (7.7 %); the catfish – three species: *Proteocephalus osculatus* (91.6 %), *Siluritaenia siluri* (83.3 %), *Gryporhynchus pusillus* (16.7 %); the round goby – three species: *Bothriocephalus acheilognathi* (17.7 %), *Proteocephalus gobiorum* (23.5 %), *Paradilepis scolecina* (23.5 %); the sturgeon – two species: *Eubothrium acipenserinum* (in one of the two examined individuals), *Bothrimonus fallax* (in both studied individuals); the sticklebacks – two species: *Schistocephalus pungitii* (33.3 %), *Proteocephalus filicollis* (42.9 %); the pike – one species: *Proteocephalus ocellata* (10.0 %); the zante – one species: *Paradilepis scolecina* (12.5 %); the zander – one species: *Proteocephalus ocellata* (16.7 %); and the perch – one species: *Proteocephalus ocellata* (34.5 %).

No cestodes were found in six fish species – Caspian sprat, Caspian shad, black-backed shad, pipefish, atherina and golden mullet.

A large number of the recorded cestodes are specific cyprinid parasites (*Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, and *Digamma interrupta*). *Bothriocephalus acheilognathi* should also be included in this group, although it occurs in various predatory fish of other families. Presumably, it gets in the predators when they feed on infected cyprinids. Two species – *Proteocephalus osculatus* and *Siluritaenia siluri*, are specific to the European catfish. The other cestodes listed above are specific parasites of the fishes of other families or have a wide host range that includes various fish families. For example, *Eubothrium acipenserinum* and *Bothrimonus fallax* are the parasites of sturgeon, *Schistocephalus pungitii* and *Proteocephalus filicollis* – of sticklebacks, *Proteocephalus osculatus* and *Siluritaenia siluri* – of European catfish, *Proteocephalus gobiorum* – of goby fish, *Proteocephalus ocellata*, *Gryporhynchus pusillus* and *Paradilepis scolecina* parasitize in fishes of several families. The presented data shows that most cestode species, except the two from the European catfish, have a relatively wide range of hosts and show specificity at the rank of family or a group of families.

The intermediate hosts of most recorded cestodes are zooplankters. Fish is infected with these helminths when feeding on invertebrates that live in the water column. Only three species (*Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, and *Caryophyllaeides fennica*) get into the fish intestine with invertebrate hosts occurring in benthos.

The studied fish belong to four trophic groups: eight predatory species – black-backed shad, pike, asp, catfish, zander, perch, round goby, bighead goby; six planktophages – Caspian sprat, Caspian shad, shemaya, bleak, pipe fish, atherina; nine benthophages – sturgeon, roach, kutum, silver bream, bream, zante, golden carp, carp, stickleback; and one species that feeds on detritus – golden mullet. As mentioned above, the black-backed shad, the sprat, the Caspian shad, the pipefish, the atherina, and the golden mullet were not infected with tapeworms.

Since the most identified cestodes invade the fish body when it feeds on planktonic invertebrates, one might assume that the planktophages are more infected with tapeworms than the fishes of other trophic groups. However, our research did not prove that. In our case study, the benthophages had the richest cestode fauna that included 12 species: *Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*, *Eubothrium acipenserinum*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula intestinalis*, *Digamma interrupta*, *Schistocephalus pungitii*, *Bothrimonus fallax*, *Proteocephalus filicollis*, *Gryporhynchus pusillus*, and *Paradilepis scolecina*. The predators were the hosts of eight cestode species: *Caryophyllaeus laticeps*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Proteocephalus gobiorum*, *Proteocephalus ocellata*, *Proteocephalus osculatus*, *Siluritaenia siluri*, *Gryporhynchus pusillus*, *Paradilepis scolecina*; while the planktophages hosted seven species: *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Digamma interrupta*, *Proteocephalus ocellata*, *Gryporhynchus pusillus*, *Paradilepis scolecina*.

Table 1. Occurrence of cestode species in the areas with various water mineralization

Parasite species names	2–3 ‰	4–5 ‰	6–7 ‰
<i>Caryophyllaeus fimbriceps</i>	+	-	-
<i>C. laticeps</i>	+	-	-
<i>Caryophyllaeides fennica</i>	+	-	-
<i>Eubothrium acipenserinum</i>	-	+	+
<i>Bothriocephalus acheilognathi</i>	+	-	-
<i>Ligula colymbi</i>	+	-	-
<i>L. intestinalis</i>	+	-	-
<i>Digamma interrupta</i>	+	-	-
<i>Schistocephalus pungitii</i>	+	+	+
<i>Bothrimonus fallax</i>	-	-	+
<i>Proteocephalus filicollis</i>	+	+	+
<i>P. gobiorum</i>	+	+	-
<i>P. ocellata</i>	+	-	-
<i>P. osculatus</i>	+	+	-
<i>Siluritaenia siluri</i>	+	+	-
<i>Gryporhynchus pusillus</i>	+	-	-
<i>Paradilepis scolecina</i>	+	-	-
Number of species found	15	6	4

This phenomenon can be explained by two reasons. First, the benthophages were the largest trophic group of the studied fishes in the Kura mouth. Only these fishes had all the three cestode species that invade fish body with benthic invertebrates. Only one of them was found in the predators and no one invaded planktophages. Second, when the predators feed on other fish infected with tapeworms, these helminths survive and accumulate in the predator body. This is confirmed by the higher number of predatory species infected with these helminths in comparison with fish of other trophic groups. For example, the invasion rate of a predatory bighead goby with the cestode *Gryporhynchus pusillus*, whose intermediate hosts are planktonic organisms, is higher (25.0 %) than that in both zooplanktophages (shemaya, 22.2 % and bleak, 9.1 %) and benthophages (bream, 14.3 % and carp, 13.3 %). The same pattern is observed in the *Paradilepis scolecina* invasion: in the predators – asp (38.4 %), round goby

(23.5 %), and bighead goby (33.3 %), its invasion rate is not lower, sometimes even higher, than in the planktophages (bleak, 23.8 %) and benthophages (kutum, 6.7 %; silver bream, 20.0%; zante, 12.5 %). It is noteworthy that in the typical ichthyophages like asp and bighead goby, these parasites are more common than in the round goby, whose primary diet includes a large number of invertebrates.

The studied fishes have different adaptability to water salinity. Evidently, migratory and semi-migratory fish have the widest reaction rate to the water salinity. This group of fishes includes 13 species – sturgeon, black-backed shad, roach, kutum, asp, shemaya, zante, silver bream, bream, carp, golden carp, catfish, and zander. In addition, three euryhaline species (stickleback, round goby and bighead goby) form both freshwater and marine coastal populations. We also examined five species of typical marine fishes (Caspian sprat, Caspian black-backed shad, pipefish, atherina and golden mullet), occasionally entered the highly desalinated areas of the Caspian. The number of typical freshwater fish, poorly adapted to changes in water salinity, is relatively small – three species only (pie, bleak and perch).

Since all cestodes are endoparasites, they have no contact with the external aquatic environment at the parasitic stage of their individual development. Consequently, they do not react to changes in water salinity. However, all the studied cestodes have free-living stages (eggs and larvae) that depend on water mineralization. Moreover, all cestodes get into the fish intestine with the invertebrate hosts, which serve as food for fish. These invertebrates differ in their adaptability to water salinity and range from steno- to euryhaline. As a result, dependence of the fish cestode fauna on water salinity manifests itself only in the places where the invasion process takes place. A relationship of cestode invasion and water mineralization is a challenging task to establish.

Table 1 shows occurrence of different cestode species in the areas of various water salinity. Fifteen species were recorded in the areas with 2–3 ‰. The typical freshwater species (*Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Digamma interrupta*, *Gryporhynchus pusillus*, *Proteocephalus ocellata*, and *Paradilepis scolecina*) (Ibragimov, 2012) were found only in these areas. *Schistocephalus pungitii* and *Proteocephalus filicollis*, specific parasites of a highly euryhaline sticklebacks, were registered in the areas with a wide range of salinity, from 2–3 ‰ to 6–7 ‰. This was to be expected based on available publications (Mitenev, Shulman, 2005; Butorina et al., 2018), which claim that specific stickleback parasites are euryhaline like their hosts. A similar pattern, when euryhaline fish have specific euryhaline parasites, is observed in migratory sturgeon and its parasites *Eubothrium acipenserinum* and *Bothrimonus fallax*, in migratory catfish and parasitic *Proteocephalus osculatus* and *Siluritaenia siluri*, in both round and bighead gobies and their parasite *Proteocephalus gobiorum*.

Although most examined fishes are euryhaline, the species richness of their cestode parasites was higher in the desalinated area of the Kura mouth than in the areas with more mineralized water. We can explain this proportion by the absence of marine forms among the studied cestodes.

Only six cestode species found (*Caryophyllaeus fimbriceps*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Digamma interrupta*, and *Paradilepis scolecina*) are pathogenic for fish (Bauer et al., 1977; Golovina et al., 2003). We observed pathogenic phenomena caused by the large plerocercoids of *Ligula colymbi* and *L. intestinalis*. Even in case of their small number, they had a strong mechanical impact. Other pathogenic species, being much smaller and having relatively low invasion intensity, did not cause noticeable pathogenic changes. Nevertheless, all the causative agents should be taken into account in fishery activities.

Conclusion

In the course of parasitological investigation of 334 individuals of 24 fish species caught in the mouth of Kura River, 17 tapeworm species of two orders and eight families were recorded. Of these, seven species are specific cyprinid parasites, two species are specific to sturgeons, two species to sticklebacks, two species to catfish, and one species to gobies; three species parasitize in fishes of various families. The main organ of cestode localization was the intestinal lumen, where 11 species were registered. In the other fish organs, we found from one to four tapeworm species. One cestode species invaded from one to seven fish species. The largest number – six tapeworm species, was recorded from the bream; in the other fish species, we found from one to five tapeworm species. Among the cestodes found, 14 species infect fish that feed on zooplankton and only three species (*Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*) invade fishes with benthic invertebrates. In terms of trophic preferences, most studied fish are benthophages; they hosted 12 cestode species; eight tapeworm

species were found in predators and seven species in planktophages. Predatory fishes viz. pike, asp, round and bighead gobies accumulate parasites from the bodies of their preys. Most recorded fishes are euryhaline. Nevertheless, due to the absence of typical marine forms among the found cestodes, we registered more tapeworm species in the fish occurring in a highly desalinated area of the Kura mouth than in the fish caught in more mineralized water. Six species are causative agents of fish diseases. Due to moderate cestode invasion, these parasites did not cause pathogenic changes in fish.

References

- Abdurakhmanov Yu.A. (1962). *Freshwater fish of Azerbaijan*. Baku: Publishing House of the Academy of Sciences of Azerbaijan SSR. 405 p. (in Russian)
- Bauer O.N., Musselius V.A., Nikolayeva V.M., Strelkov Yu.A. (1977). *Ichthyopathology*. Moscow: Pishchevaya promyshlennost. 431 p. (in Russian)
- Bogutskaya N.G., Kiyashko P.V., Naseka A.M., Orlova M.I. (2013). *Keys to fish and invertebrates of the Caspian Sea*. Vol. 1. SPb-Moscow: Nauka. 543 p. (in Russian)
- Butorina T.E., Busarova O.Yu., Koval M.V. (2018). Parasite fauna of ninespine sticklebacks *Pungitius pungitius* from the downstream of the Penzhina River. *Parazitologiya*, 52(3), 214–223. (in Russian)
- Bykhovskaya-Pavlovskaya I.Y. (1985). *Parasites of fish. Study guide*. Leningrad: Nauka. 122 p. (in Russian)
- Dubinina M.N. (1966). Ligulidae (Cestoda) of the fauna of the USSR. Moscow–Leningrad: Nauka. 261 p. (in Russian)
- Dubinina M.N. (1987). *Class Cestoda. Key to identification the parasites of freshwater fish of the fauna of the USSR*. Vol. 3. (Second part). Leningrad: Nauka. P. 5–76. (in Russian)
- Freyhofa J., Mustafayev N., Ibrahimov S. et al. (2020). *Freshwater fish and lampreys of the Caucasus*. Ecological conservation plan for the Caucasus. WWF German cooperation. P. 97–105.
- Gayevskaya A.V., Gusev A.V., Delamure S.L. et al. (1975). *Key to identification of the parasites of vertebrates of the Black and Azov Seas*. Kiev: Naukova Dumka. 551 p. (in Russian)
- Golovina N.A., Strelkov Yu.A., Voronin V.N. (2003). *Ichthyopathology*. Moscow: Mir. 448 p. (in Russian)
- Ibragimov Sh.R. (2012). *Parasites and diseases of fish of the Caspian Sea (ecological and geographical analysis, epidemiological and epidemiological assessment)*. Baku: Elm. 400 p. (in Russian)
- Ibragimov Sh.R., Mamedova S.N. (2005). Ecological and faunal analysis of the kutum parasite fauna (*Rutilus frisii kutum*) in the Caspian Sea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Azerbaijan (Biological and Medical Sciences)*, 3–4, 112–117. (in Russian)
- Ibragimov Sh.R., Mamedova S.N. (2007). Influence of anthropogenic pollution on the parasite fauna of fish of the Absheron peninsula. *Materials of the IV All-Russian school on theoretical and marine parasitology*. Kaliningrad. P. 99–102. (in Russian)
- Ismayilov Ch. (2005). *Ecology of the Caspian Sea and adjacent territories*. Baku: Ayna. 127 p.
- Jarecka L. (1970). On the life cycles of *Paradilepis scolecina* (Rud., 1819) Hsü, 1935 and *Neogryporhynchus cheilancristrotus* (Wedl., 1955) Baer et Bona, 1958-1960 (Cestoda, Dilepididae). *Bull. Acad. Pol. Sci., Cl. II, Ser. Sci. biol.*, 18(3), 159–163.
- Mamedova S.N. (2016). Ecological analysis of the parasite fauna of mullets in the Absheron coast of the Caspian Sea. *Bulletin of Zaporizhzhya National University*, 1, 35–42. (in Russian)
- Mamedova S.N., Veliyeva G.A. (2017). Parasite fauna of the Caspian Sea cyprinid fish (Cyprinidae) in near-shore area of the Absheron Peninsula. *International Journal of Zoology Studies*, 2(1), 14–16.
- Mikhailov T.K. (1975). *Parasites of fish of water bodies of Azerbaijan (systematics, dynamics and origin)*. Baku: Elm. 299 p. (in Russian)
- Mikhailov T.K., Ibragimov Sh.R. (1980). *Ecology and zoogeography of parasites of fish of water bodies of the Lenkoran natural area*. Baku: Elm. 115 p. (in Russian)
- Mitenev V.K., Shulman B.S. (2005). Parasite fauna of Sticklebacks (Gasterosteidae) form water bodies of the Kola Region. *Parazitologiya*, 39(1), 16–24. (in Russian)
- Musselius V.A. (1974). *Parasites and diseases of herbivorous fish*. In: Zoology of vertebrates. Vol. 5, Biology, breeding and use of herbivorous fish. (Results of Science and Technology). Moscow. P. 173–214. (in Russian)
- Potential Ramsar Sites of Azerbaijan. (2000). Chief ed. E. Sultanov. Baku, Wetlands International – AEME Publications, 152 p. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2705.6403>. (in Azerbaijan and Russian)

- Pronina S.V., Pronin N.M. (2007). *Methodological manual on hydroparasitology*. (Part 1. Technique of parasitological research and parasitic protozoa). Ulan-Ude. 52 p. (in Russian)
- Reshetnikov Yu.S. (2003). *Atlas of freshwater fish of Russia*. Vol. 1. Moscow: Nauka. 379 p. (in Russian)
- Sudarikov V.Y., Kurochkin Yu.V. (1964). Detection of sturgeon cestode larvae *Bothrimonus fallax* Lühe, 1900 in amphipods of the Caspian Sea. *Transactions of the Astrakhan reserve*, 9, 214–225. (in Russian)

Екологічний аналіз фауни цестод риб гирла річки Кури Ш.Р. Ібрагімов, С.Н. Мамедова

У 2014–2019 роках у гирлі річки Кури методом повного паразитологічного розтину досліджено 334 екз. риб, що належать до 24 видів. У результаті проведених досліджень виявлено 17 видів стьожкових червів, що належать до 2 рядів і 8 родин: *Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*, *Eubothrium acipenserinum*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Digamma interrupta*, *Schistocephalus pungitii*, *Bothrimonus fallax*, *Proteocephalus filicollis*, *P. gobiorum*, *P. ocellata*, *P. osculatus*, *Siluritaenia siluri*, *Gryporynchus pusillus*, *Paradilepis scolecina*. З них 7 видів є специфічними паразитами корокових риб, 2 види специфічні для осетрових, 2 види – для колючок, 2 види – для сома, а 1 вид – для бичкових, 2 види паразитують у риб, що належать до різних родин. Основним органом локалізації виявлених видів паразитів є порожнина кишечника, де було зареєстровано 11 видів цестод. В інших органах риб – в порожнині тіла, в слизовій переднього відділу кишечника, в печінці, брижі і стінках кишечника було відзначено від одного до чотирьох видів. Кожен з видів цестод був констатований у від одного до семи видів риб. Найбільшу кількість – 6 видів стьожкових червів зареєстровано у ляца, у інших досліджених видів риб знайдено від 1 до 5 видів цестод. 3 виявлених цестод 14 видів заражають риб при поїданні зоопланктонних і тільки 3 види (*Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*) – при поїданні бентичних безхребетних. Більшість досліджених риб належить до трофічної групи бентофагів, у них зазначено 12 видів цестод, у планктофагів і хижаків зареєстровано, відповідно, 8 і 7 видів. Має місце акумуляція цестод проковтнутих риб в кишечнику хижаків – шуки, жереха, бичків кругляка і головача. Більшість досліджених риб належать до евригалінних форм, однак в зв'язку з тим, що серед виявлених видів цестод відсутні типово морські форми, у риб, виловлених у сильно опрісненій ділянці гирла Кури, констатовано більше видів цих паразитів, ніж на ділянках з більш мінералізованою водою. Серед всіх виявлених цестод 6 видів – *Caryophyllaeus fimbriceps*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Digamma interrupta* і *Paradilepis scolecina* є збудниками захворювань риб. Спостерігалися патогенні зміни, викликані видами *Ligula colymbi* і *L. intestinalis*, плероцеркоїди яких мають великі розміри. Решта патогенних видів, маючи значно менші розміри, при тій порівняно невисокій інтенсивності інвазії, яка мала місце серед досліджених риб, не викликали помітних патогенних явищ.

Ключові слова: паразити, цестоди, риби, річка Кура, Каспійське море.

Про авторів:

Ш.Р. Ібрагімов – Інститут зоології НАН Азербайджану, вул. А. Аббасзаде, проїзд 1128, квартал 504, Баку, Азербайджан, AZ1073, shaig.ib@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9040-3000>

С.Н. Мамедова – Азербайджанський медичний університет, вул. Рашида Бейбутова, 134, Баку, Азербайджан, AZ1014, seva_mam@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3682-5915>

Экологический анализ фауны цестод рыб устья реки Куры Ш.Р. Ибрагимов, С.Н. Мамедова

В 2014–2019 годах в устье реки Куры методом полного паразитологического вскрытия исследовано 334 экз. рыб, относящихся к 24 видам. В результате проведенных исследований обнаружено 17 видов ленточных червей, относящихся к 2 отрядам и 8 семействам: *Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*, *Eubothrium acipenserinum*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Digamma interrupta*, *Schistocephalus pungitii*, *Bothrimonus fallax*, *Proteocephalus filicollis*, *P. gobiorum*, *P. ocellata*, *P. osculatus*, *Siluritaenia siluri*, *Gryporynchus pusillus*, *Paradilepis scolecina*. Из них семь видов являются специфическими паразитами карповых рыб, два вида специфичны для осетровых, два вида – для колюшек, два вида – для сома, один вид – для бычковых, а три вида паразитируют у рыб, относящихся к разным семействам. Основным органом локализации обнаруженных паразитов является просвет кишечника, где было зарегистрировано 11 видов цестод. В остальных органах рыб – в полости тела, в слизистой переднего отдела кишечника, в печени, брыжейке и стенках кишечника было отмечено от одного до четырех видов. Один вид цестод поражал от одного до семи видов рыб. Наибольшее число – 6 видов ленточных червей зарегистрировано у леща, у остальных исследованных видов рыб найдено от одного до пяти видов цестод. 14 обнаруженных видов цестод заражают рыб при поедании зоопланктонных и только три вида (*Caryophyllaeus fimbriceps*, *C. laticeps*, *Caryophyllaeides fennica*) – при поедании бентических беспозвоночных. Большинство

исследованных рыб относится к трофической группе бентофагов, у них отмечено 12 видов цестод, у планктофагов и хищников зарегистрировано, соответственно, 8 и 7 видов. Имеет место аккумуляция цестод проглоченных рыб в кишечнике хищников – щуки, жереха, бычков кругляка и головача. Большинство исследованных рыб относится к эвригалинным формам, однако, так как среди обнаруженных видов цестод отсутствуют типично морские формы, у рыб, выловленных в сильно опресненном участке устья Куры, найдено больше видов этих паразитов, чем на участках с более минерализованной водой. Среди всех обнаруженных цестод, шесть видов – *Caryophyllaeus fimbriceps*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula colymbi*, *L. intestinalis*, *Digramma interrupta* и *Paradilepis scolecina* являются возбудителями заболеваний рыб. Наблюдались патогенные изменения, вызванные *Ligula colymbi* и *L. intestinalis*, плероцеркоиды которых имеют крупные размеры. Остальные патогенные виды, будучи значительно меньше, при сравнительно невысокой интенсивности инвазии в исследованном регионе не вызывали у рыб заметных отклонений.

Ключевые слова: паразиты, цестоды, рыбы, река Кура, Каспийское море.

Об авторах:

Ш.Р. Ибрагимов – Институт зоологии НАН Азербайджана, ул. А. Аббасзаде, проезд 1128, квартал 504, Баку, Азербайджан, AZ1073, shaig.ib@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-9040-3000>

С.Н. Мамедова – Азербайджанский медицинский университет, ул. Рашида Бейбутова, 134, Баку, Азербайджан, AZ1014, seva_mam@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3682-5915>

Подано до редакції / Received: 16.02.2021

Прорецензовано / Revised: 14.04.2021

Прийнято до друку / Accepted: 11.05.2021

Cite this article: Rzayev F.H., Nasirov A.M., Gasimov E.K. A systematic review of the parasites (Plathelminthes: Cestoda) of the domestic goose (*Anser anser dom.*). The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology", 2021, 36, 58–73.

UDC: 576.895.132

A systematic review of the parasites (Plathelminthes: Cestoda) of the domestic goose (*Anser anser dom.*)

F.H. Rzayev, A.M. Nasirov, E.K. Gasimov

In many countries, poultry (including *Anser anser dom.*) play an important role in meeting population needs for meat. One of the factors that affect directly the meat quality and the industrial products obtained from domestic waterfowl are helminths, which cause diseases in their hosts. Helminthological research of the helminth fauna of domestic geese has been carried out in many countries, including Azerbaijan. Nevertheless, there is no general survey or species list of the world fauna of the domestic goose helminths. Tapeworms (Class: Cestoda) also parasitize the geese, causing them serious harm. Taking into account the relevance of the topic, we set the task to determine and systematize the species composition of tapeworms parasitizing the domestic goose (*A. anser dom.*) with the use of extensive literature data and our personal material. The species list is arranged in alphabetical order, families, genera and species of cestodes follow the nomenclature and classification by Khalil et al. (1994) and Olson et al. (2001), with updates by Kuchta et al. (2008) and Caira et al. (2014). We also took into account the classification adopted from the database of Fauna Europaea. Each species is provided with the following data: scientific name, author and year of description, synonyms, final, intermediate and auxiliary hosts, habitat in the bird body, collecting localities, geographic distribution, prevalence (PI) and intensity (II) of infection, and literature sources. An analysis of the worldwide literature and our personal data has established that 147 helminth species (Trematoda – 64 species, Cestoda – 33, Nematoda – 46, Acanthocephala – 4) are hitherto known from the domestic goose. The 33 tapeworm species of this list belong to five families (Dilepididae – 1 species, Hymenolepididae – 27, Mesocestoididae – 1, Paruterinidae – 1, and Diphylobothriidae – 3). In Azerbaijan, 11 cestod species were found in the domestic goose. Six of them (*Diorchis inflata*, *Drepanidotaenia lanceolata*, *D. przewalskii*, *Fimbriaria fasciolaris*, *Tschertkovilepis setigera*, *Ligula intestinalis*) were registered in the course of our helminthological studies. The cestodes *D. inflata* and *L. intestinalis* were recorded in domestic geese in Azerbaijan for the first time. Five helminth species (*Dilepis undula*, *Drepanidotaenia lanceolata*, *Ligula interrupta*, *L. intestinalis*, *Schistocephalus solidus*) parasitize both birds and mammals (*D. lanceolata* in humans). Of these, two species (*D. lanceolata* and *L. intestinalis*) were found in Azerbaijan.

Key words: cestodes, systematic list, domestic goose parasites, infection rates, geographical distribution.

About the authors:

F.H. Rzayev – Institute of Zoology, Azerbaijan National Academy of Sciences, A. Abbas-zadeh Str., passage 128, block 504, Baku, Azerbaijan, AZ1004; Azerbaijan Medical University, Nasimi reg., S. Vurgun Str., 163, Baku, Azerbaijan, AZ1078, fuad.zi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8128-1101>

A.M. Nasirov – Institute of Zoology, Azerbaijan National Academy of Sciences, A. Abbas-zadeh Str., passage 128, block 504, Baku, Azerbaijan, AZ1004, nasirov.a50@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6991-0334>

E.K. Gasimov – Azerbaijan Medical University, Nasimi reg., S. Vurgun Str., 163, Baku, Azerbaijan, AZ1078, geldar1949@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5104-4260>

Poultry (including *Anser anser dom.*) play an important role in meeting the population needs for meat in many countries. One of the factors that affect directly the meat quality and the industrial products obtained from domestic waterfowl are helminths that cause diseases in the hosts. Helminthological studies of domestic geese were carried out in many countries (Czaplinski, 1956; Lapage, 1961; Vasilev, 1962; Spasskaya, 1966; McDonald, 1969; Smogorzhevskaya, 1976), including Azerbaijan (Shakhtakhtinskaya, 1952, 1959; Shirinov, 1961; Vahidova, 1978; Vahidova et al., 1982). In recent years (2005–2020), we have studied the helminth fauna of domestic waterfowl (geese and ducks), developed methods for controlling the main helminthiases, and investigated ultrastructure of the helminth species of practical importance (Rzayev, 2011, 2013; Rzayev, Ibrahimova, 2015; Seyidbeyli, Rzayev, 2016, 2018; Seyidbeyli, Maharramov, 2018; Rzayev et al., 2020, 2021; Seyidbeyli et al., 2020). The tapeworms (Class: Cestoda) parasitize geese, causing them serious harm. Some species (*D. undula*, *D. lanceolata*, *S. solidus*) recorded in domestic waterfowl can infect mammals, including human. It should be noted that despite the practical importance, there is no general overview of the helminth fauna of the domestic goose. Only some articles for specific regions are available. Taking into account the relevance of the topic, we set the task to determine and systematize species composition of the tapeworms parasitizing domestic geese (*A. anser dom.*) based on our personal material and extensive literature data.

The list of cestodes is arranged in alphabetic order; families, genera and species follow the nomenclature and classification by Khalil et al. (1994) and Olson et al. (2001), with the updates by Kuchta et al. (2008) and Caira et al. (2014). We also took into account the classification adopted from the database of Fauna Europaea (<http://www.faunaeur.org>). Each species is provided with the following data: scientific name, author and year of description, synonyms, final, intermediate and auxiliary hosts, habitat in the bird body, collecting localities, general geographic distribution and the regions/countries of the records in domestic goose, prevalence (PI) and intensity (II) of infection, and literature sources. Six cestode species were identified using a Zeiss Primo Star light microscope. Of these, four species (*Diorchis inflata*, *Drepanidotaenia lanceolata*, *Fimbriaria fasciolaris*, *Tschertkovilepis setigera*) were prepared for microscopic studies and photographed using an EOS D 650 Canon camera. Since *D. przewalskii*, *Ligula intestinalis* are of considerable length, their preparations were not made.

Phylum: Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

Class: Cestoda Rudolphi, 1808

Order: Cyclophyllidea Braun, 1900

Family: Dilepididae Fuhrmann, 1907

Genus: *Dilepis* Weinland, 1858

Species: *Dilepis undula* Schrank, 1788

Syn.: *Taenia undula* Schrank, 1788; *T. undulata* Rudolphi, 1810; *Dilepis vulpis* Petrov & Janchev, 1960; *Malika daviesi* Mathevossian, 1963; *Hymenolepis angulata* (Rudolphi, 1810) Parona, 1899; *H. pyramidalis* Sinitsin, 1896; *H. undulata* (Rudolphi, 1810) Parona, 1899.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Eiseniella tetraedra* Savigny, 1826; *Allolobophora longa* Ude, 1885; *Lumbricus terrestris* L., 1758 (Rysavý, 1973).

Habitat: Small intestine.

Distribution: Holarctic (Schmidt, 1986). Czech Republic (PL 0.1 %) (Busta, 1980).

Family: Hymenolepididae Ariola, 1899

Genus: *Aploparaksis* Clerc, 1903

Species: *Aploparaksis furcigera* Rudolphi, 1819

Syn.: *Aploparaksis japonensis* Yamaguti, 1935; *A. pseudofurcigera* Mathevossian, 1946; *A. rhomboidea* (Dujardin, 1845) Linstow, 1905; *Taenia lineata* Bloch, 1779; *T. longirostris* Froelich, 1803; *T. trilineata* Batsch of Rudolphi, 1819; *T. furcigera* Rudolphi, 1819; *T. conica* Molin, 1858; *T. caecalis* Geibel, 1866; *T. rhomboidea* Dujardin, 1845; *Dicranotaenia furcigera* (Nitzsch, 1819) Stiles, 1896; *D. rhomboidea* (Dujardin, 1845) Railliet, 1893; *Diplacanthus furcigera* (Nitzsch, 1819) Cohn, 1899; *Hymenolepis furcigera* (Nitzsch, 1819) Railliet, 1899.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Lumbriculus variegatus* Muller, 1774; *Limnodrilus* sp.

Habitat: Small and large intestine, caecum.

Distribution: Holarctic (Schmidt, 1986; Spasskaya, 1966). Russia – Yakutia, Kamchatka (Petrochenko, Kotelnikov, 1976; Ryzhikov, 1967; Spasskaya, 1966; Ryzhikov et al., 1974; Ryzhikov, Gubanov, 1959; Tolkacheva, 1971; Spassky, 1965), Slovakia (Hanzelova et al., 1995), Poland (Lapage, 1961; Czaplinski, 1956).

Genus: *Cloacotaenia* Wolffhügel, 1938

Species: *Cloacotaenia megalops* Nitzsch, 1829

Syn.: *Taenia megalops* Nitzsch in Creplin, 1829; *T. cylindrica* Krefft, 1871; *Hymenolepis megalops* (Nitzsch, 1829) Parona, 1899; *Drepanidotaenia megalops* (Nitzsch, 1829) Hutyra & Marek, 1906; *Weinlandia megalops* (Nitzsch, 1829) Mayhew, 1925; *Lallum magniparuterina* Johri, 1960; *Orlovilepis megalops* (Nitzsch in Creplin, 1829) Spassky et Spasskaja, 1954.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Cypris pubera* Muller, 1776.

Habitat: Cloaca, large intestine.

Distribution: Cosmopolitan (McDonald, 1969).

Genus: *Dicranotaenia* Railliet, 1892

Species: *Dicranotaenia coronula* (Dujardin, 1845) Railliet, 1892

Syn.: *Taenia coronula* Dujardin, 1845; *Hymenolepis coronula* (Dujardin, 1845) Railliet, 1899; *H. megalhystera* Linstow, 1905; *H. introversa* (Mayhew, 1925) Fuhrmann, 1932; *H. querquedula*

Fuhrmann, 1920; *H. makundi* Singh, 1952; *H. apicaris* Sharma, 1943; *H. anceps* Linton, 1927; *H. parvisaccata* Shepard, 1943; *H. macrostrobiloides* (Mayhew, 1925) Fuhrmann, 1932; *H. sacciperium* Mayhew, 1925; *H. mergi* Yamaguti, 1940; *Weinlandia coronula* (Dujardin, 1845) Mayhew, 1925; *W. querquedula* (Fuhrmann, 1920) Mayhew, 1925; *W. introversa* Mayhew, 1925; *W. macrostrobiloides* Mayhew, 1925; *Dicranotaenia mergi* Yamaguti, 1940; *D. apcaris* (Sharma, 1943) Yamaguti, 1950; *D. pseudocoronula* Skrjabin et Mathevossian, 1945; *D. deglandi* Skrjabin et Mathevossian, 1942; *D. anceps* (Linton, 1927) Lopez-Neyra, 1942; *D. kutassi* Mathevossian, 1945; *D. makundi* (Singh, 1943) Yamaguti, 1959; *D. parvisaccata* (Shepard, 1943) Yamaguti, 1959; *Diplacanthus coronula* (Dujardin, 1845) Colin, 1899.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Cyclocypris laevis* Muller, 1776; *C. cinerea* Brady, 1868; *C. ovum* Jurine, 1820; *C. globosa* Sars, 1863; *Eucypris viriens* Jurine, 1820; *Potamocypris ophthalmica* Fischer, 1855; *Candona candida* Muller, 1776; *Cypridopsis vidua* Muller, 1776; *Dolerocypris fasciata* Muller, 1776; *Heterocypris incongruens* Ramdohr, 1808; *Notodromas monacha* Muller, 1776; *Physocypris fadeevi* Dubowsky, 1927; *Eucyclops agilis* Koch, 1838; *Mesocyclops oithonoides* Sars, 1863; *Cypria ophthalmica* Jurine, 1820.

Auxiliary hosts: *Lymnaea ovata* Draparnaud, 1805; *L. palustris* Muller, 1774; *L. vulgaris* Hartmann, 1840.

Habitat: Small intestine, caecum.

Distribution: Holarctic, Neotropical and Australian regions (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986; Macko, 1991). Russia – Krasnoyarsk, Amur, Rostov regions, Siberia (Petrochenko, Kotelnikov, 1976; Ryzhikov, 1967; Spasskaya, 1966; Spassky, 1963; Ryzhikov et al., 1974; Belyaeva, 1961; Ryzhikov, Timofeeva, 1961; Fedyushin, 1937), Ukraine – Dnipropetrovsk, Odesa, Mykolaiv, Kyiv, Khmelnytskyi, Volyn regions, the Black Sea coast (PL 0.1 %, II 4 ind.) (Smogorzhevskaya, 1976), Turkey – Marmara, Ankara regions (Gicik, Arslan, 2003), China – Qingyuan (PL 13.03 %) (Wang et al., 2012), Czech Republic and Slovakia (Barus et al., 1977; Hanzelova et al., 1995), Bulgaria – around Danube and Rositsa rivers (Marinova et al., 2013), Azerbaijan – Khachmaz and Shabran regions (PL 4.8 %, II 2–3 ind.) (Vahidova et al., 1982; Vahidova, 1978; Shakhtakhtinskaya, 1952, 1959; Shirinov, 1961).

Genus: *Diorchis* Clerc, 1903

Species: *Diorchis inflata* (Rudolphi, 1819) Clerc, 1903. Fig. 1.

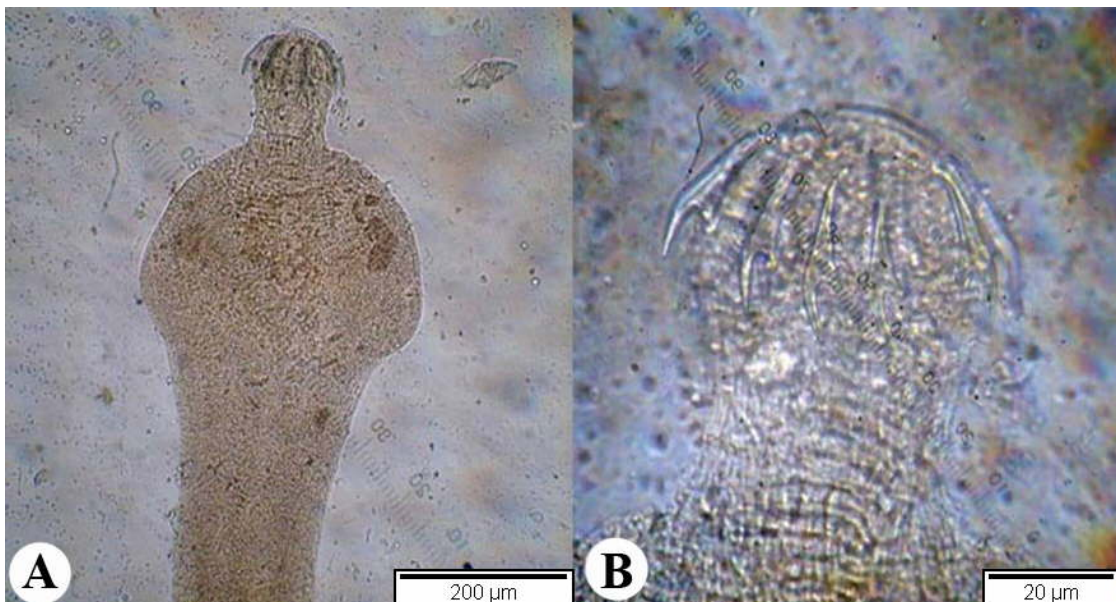


Fig. 1. Cestode *Diorchis inflata*. A – scolex, B – hooks of scolex. Photo: F. Rzayev

Syn.: *Drepanidotaenia inflata* Rudolphi, 1819; *D. inflata* (Rudolphi, 1819) Farona, 1800; *Taenia inflata* Rudolphi, 1819; *T. fulicarum* Gmelin, 1790; *T. fulicae* Rudolphi, 1810; *T. inflata* Rudolphi, 1819; *Halysis fulicarum* (Gmelin, 1790) Zeder, 1803; *Diplacanthus (Dilepis) inflata* (Rudolphi, 1816) Cohn, 1896;

Hymenolepis inflata (Rudolphi, 1819) Railliet, 1800; *Diorchis americana* Ransom, 1909; *D. endacantha* (Dubinina, 1953) Spassky, 1963; *D. turkestanica* Skrjabin, 1914; *Aploparaksis endacantha* (Dubinina, 1954) Spasskaya, 1966.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *C. vidua*; *C. laevis* (McDonald, 1969).

Habitat: Intestine.

Distribution: Europe, Asia, Africa and North America (McDonald, 1969; Spasskaya, 1966). We registered this parasite for the first time in domestic goose in Azerbaijan – Shabran Region, Gala-Alty village (PL 1.72 %, II 2–4 ind.).

Species: *Diorchis stefanskii* Czaplinski, 1956

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *C. vidua*; *C. ovum*; *Macrocyclops fuscus* Jurine, 1820; *D. fasciata*; *N. monacha*.

Habitat: Small intestine, large intestine.

Distribution: Holarctic (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Ukraine (PL 0.03 %, II 1 ind.) (Smogorzhevskaya, 1976), Bulgaria (Marinova et al., 2013; Vasilev, 1973), Slovakia (Hanzelova et al., 1995), Czech Republic (Barus et al., 1977).

Genus: *Diploposthe* Jacobi, 1896

Species: *Diploposthe laevis* Bloch, 1782

Syn.: *Taenia laevis* Bloch, 1782; *T. trichosoma* Linstow, 1882; *T. bifaria* (Siebold, 1846) Creplin, 1846; *T. tuberculata* Kreff, 1871; *Halysis laevis* (Bloch, 1782) Zeder, 1803; *Diploposthe laevis* (Bloch, 1782) Jacobi, 1806; *Drepanidotaenia laevis* (Bloch, 1782) Clerc, 1903; *Cotugnia bifaria* (Siebold, 1846) Diamare, 1803; *Ophryocotyle tuberculata* (Kreff, 1871) Blanchard, 1891; *Hymenolepis trichosoma* (Linstow, 1882) Yamaguti, 1959; *Diploposthe lata* Fuhrmann, 1900.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Macrocyclops albidus* Jurine, 1820; *Mesocyclops leuckartii* Claus, 1857; *Acanthocyclops viridis* Jurine, 1820; *M. fuscus*; *C. vidua*; *H. incongruens*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Cosmopolitan (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Poland (Lapage, 1961; Bezubik, 1956).

Genus: *Echinocotyle* Blanchard, 1891

Species: *Echinocotyle anatina* Krabbe, 1869

Syn.: *Hymenolepis anatina* Krabbe, 1869; *Taenia anatina* Krabbe, 1869; *Drepanidotaenia anatina* (Krabbe, 1869) Railliet, 1863; *Diplacanthus anatina* (Krabbe, 1869) Cohn, 1800; *Dicranotaenia anatina* (Krabbe, 1869) Wolffhögel, 1900; *Anatinella anatina* (Krabbe, 1869) Spasskaya, 1961; *Drepanidolepis anatine* (Krabbe, 1869) Spasskii, 1963.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Eucypris crassa* Muller, 1885; *Acanthocyclops bicuspidatus* Claus, 1757; *Acanthocyclops vernalis* Fischer, 1853; *Gammarus pullex* L., 1758; *C. ophthalmica*; *C. pubera*; *C. ovata*; *P. ophthalmica*.

Habitat: Small intestine, large intestine.

Distribution: Turkey – Kars district (Gicik, Arslan, 2003), Slovakia and Czech Republic (Barus et al., 1977).

Genus: *Drepanidotaenia* Railliet, 1892

Species: *Drepanidotaenia lanceolata* (Bloch, 1782) Railliet, 1892. Fig. 2.

Syn.: *Taenia lanceolata* Bloch, 1782; *T. anseris* Bloch, 1779; *T. acutissima* Pallas, 1781; *T. anserum* (Frisch, 1727) Rudolphi, 1810; *Halysis lanceolata* (Bloch, 1782) Zeder, 1803; *Hymenolepis lanceolata* (Bloch, 1782) Weinland, 1858; *Diplacanthus lanceolata* (Bloch, 1782) Cohn, 1899; *Hymenolepis anserum* (Frisch, 1727) Fuhrmann, 1908; *Drepanidotaenia lobata* Szpotanska, 1931.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Acanthocyclops nanus* Sars, 1863; *Ectocyclops phaleratus* Koch, 1838; *A. bicuspidatus*; *A. vernalis*; *A. viridis*; *Cyclops diaphanus* Fischer, 1853; *C. furcifer* Claus, 1857; *C. globosus* Baird, 1843; *C. insignis* Claus, 1857; *C. strenuus* Fischer, 1851; *C. vicinus* Uljanin, 1875; *Eucyclops macruroides* Lilljeborg, 1901; *E. macrurus* Sars, 1863; *E. serrulatus* Fischer, 1851; *E. speratus* Lilljeborg, 1901; *M. albidus*; *M. fuscus*; *Mesocyclops crassus* Fischer, 1853; *M. dybowskii* Lande, 1890; *M. leuckartii*; *M. oithonoides*; *Paracyclops affinis* Sars, 1863; *P. fimbriatus* Fischer, 1853; *Tropocyclops prasinus* Fischer, 1860; *Diaptomus gracilis* Sars, 1863; *D. sarsi* Rylov, 1923; *D. spinosus* Daday, 1891.

Auxiliary hosts: *Lymnaea auricularia* L., 1758.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Cosmopolitan (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Tajikistan – Dushanbe (Borgarenko, 1981), Kyrgyzstan (Ablasov, 1953), Russia – Kaluga, Bryansk, Kursk, Yaroslavl, Ryazan, Amur, Omsk regions, Karachay-Cherkessia and Bashkortostan (Engasheva, 2012; Akbaev, 2015; Sidiki, 1999; Zakhryalov, Savinkova, 1962; Kopyrin, 1946; Mukhametshin, 2004), Ukraine – Poltava (Yevstafyeva, Yeresko, 2018; Yevstafyeva et al., 2018; Yuskiv, Melnychuk, 2020; Yevstafyeva et al., 2020), Turkey – Kars district, Ankara (PL 7.4 %) (Gicik, Arslan, 2003; Guchlu, 1992), China – Qingyuan, Guangdong (PL 2.42 %) (Wang et al., 2012), Slovakia and Czech Republic (Barus et al., 1977; Hanzelova et al., 1995), Bulgaria (Marinova et al., 2013), Azerbaijan – Guba, Khachmaz, Astara, Shabran, Zagatala, Masally, Ujar and Yevlakh regions (PL 19 %, II 1–32 ind.) (Vahidova et al., 1982; Vahidova, 1978; Shakhtakhtinskaya, 1952, 1959; Shirinov, 1961).

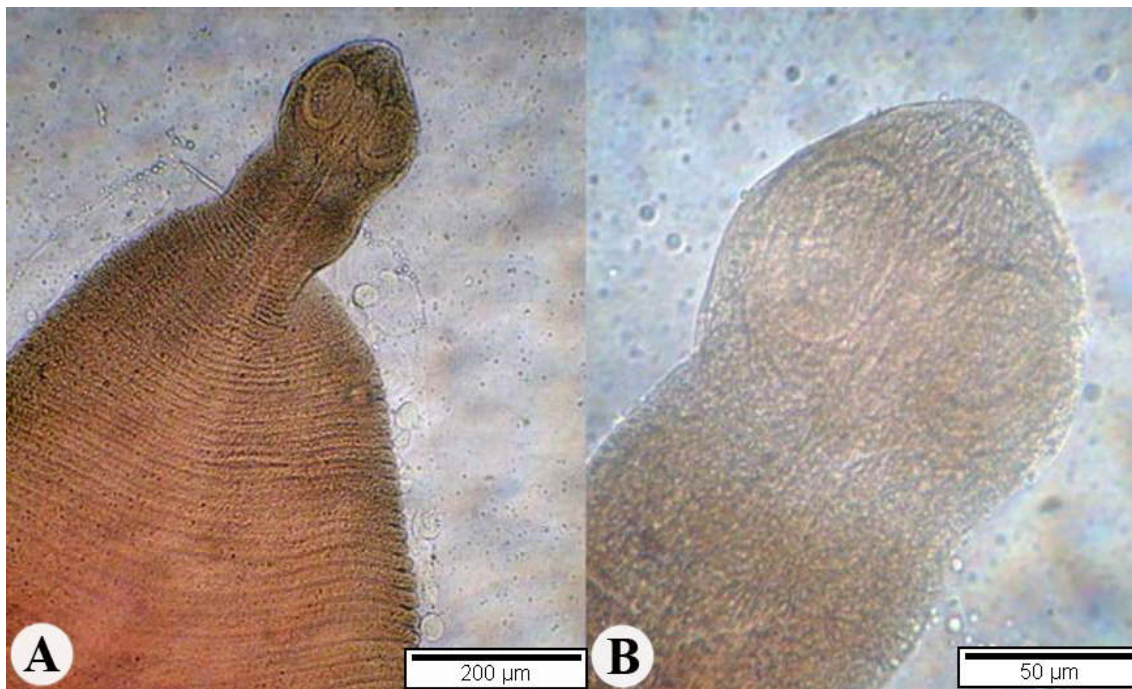


Fig. 2. Cestode *Drepanidotaenia lanceolata*. A – strobila and scolex, B – scolex. Photo: F. Rzayev

We recorded this parasite from the Shabran and Lankaran regions (PL 2.59 %, II 3–43 ind.), and the Nakhchivan AR – Babek Region (PL 2.72 %, II 1–2 ind.).

Species: *Drepanidotaenia przewalskii* (Skrjabin, 1914) Lopep-Neyra, 1942

Syn.: *Hymenolepis przewalskii* Skrjabin, 1914.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *E. serrulatus*; *M. crassus*; *M. leuckarti*; *M. oithonoides*.

Auxiliary hosts: *L. auricularia*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Russia – Bashkortostan (Spasskaya, 1966; Spassky, 1963; Mukhametshin, 2004), Azerbaijan – Salyan, Yevlakh, Shabran regions (PL 6.2 %, II 1–11 ind.) (Shirinov, 1961). We recorded this species from the Barda Region (PL 0.24 %, II 6–23 ind.).

Genus: *Fimbriaria* Froelich, 1802

Species: *Fimbriaria fasciolaris* Pallas, 1781. Fig. 3.

Syn.: *Taenia fasciolaris* Pallas, 1781; *T. anatis* Müller, 1780; *T. malleus* Goeze, 1782; *T. trilineata* Batsch, 1786; *Alyselminthus malleus* (Goeze, 1782) Zeder, 1800; *Fimbriaria malleus* (Goeze, 1782) Froelich, 1802; *F. mitra* Froelich, 1802; *Halysis malleus* (Goeze, 1782) Zeder, 1803; *Taenia pediformis* Krefft, 1871; *Epision plicatus* Linton, 1892; *Notobothrium arcticum* Linstow, 1905.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *A. bicuspidatus*; *A. vernalis*; *A. viridis*; *Cyclops gigas* Claus, 1857; *C. strenuus*; *C. vicinus*; *E. serrulatus*; *M. albidus*; *M. crassus*; *M. leuckarti*; *M. oithonoides*; *P. fimbriatus*; *Diaptomus vulgaris* Schmeil, 1896; *D. coeruleus* Ficscher, 1853; *C. laevis*; *C. vidua*; *Gammarus lacustris* Sars, 1863; *G. locusta* L., 1758; *G. maeoticus* Sovinskij, 1894; *Fontogammarus obesus* Sars, 1894; *Cloeon dipterum* L., 1761.

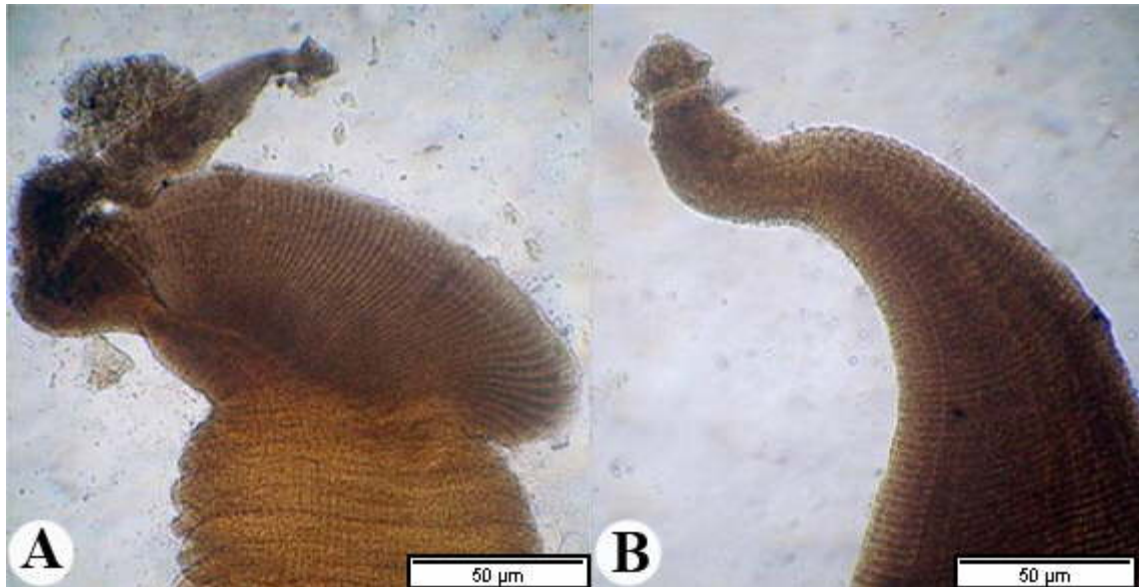


Fig. 3. Cestode *Fimbriaria fasciolaris*. A and B – pseudoscolex and scolex. Photo: F. Rzayev

Habitat: Small intestine.

Distribution: Cosmopolitan (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Russia – Bryansk, Kursk, Amur, and Yaroslavl regions, Krasnoyarsk Krai (Sidiki, 1999; Ryzhikov, 1967; Ryzhikov et al., 1974; Spasskaya, 1966), Ukraine (Yuskiv, Melnychuk, 2020), Turkey (Merdivenci, 1967; Guchlu, 1992), Slovakia and Czech Republic (Barus et al., 1977), Bulgaria – Rositsa River and Sofia (Marinova et al., 2013; Vasilev, 1962, 1973).

We recorded this helminth from Azerbaijan – Kurdamir, Masally, Bilasuvar, Khachmaz regions (PL 6.52 %, II 1–15 ind.), Nakhchivan AR – Babek, Sharur, Kengerly, Ordubad regions (PL 11.4 %, II 2–4 ind.).

Genus: *Gastrotaenia* Wolffhügel, 1938

Species: *Gastrotaenia dogieli* Gynezynskaja, 1944

Syn.: *Apora dogieli* Gynezynskaja, 1944; *Gastrotaenia cygni* Wolffhügel of Maksimova, 1963.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Diaptomus* sp.; *Arctodiaptomus bacillifer* Koelbel, 1885; *A. salinus* Daday, 1885.

Habitat: Gizzard – under lining.

Distribution: Kyrgyzstan (Spasskaya, 1966).

Genus: *Microsomacanthus* Lopez-Neyra, 1942

Species: *Microsomacanthus abortiva* (Linstow, 1904) Lopez-Neyra, 1942

Syn.: *Abortilepis abortiva* Linstow, 1904; *Taenia abortiva* Linstow, 1904; *Hymenolepis abortive* Linstow, 1904; *H. volute* (Linstow, 1901) Fuhrmann, 1921; *H. epsilon* Rosseter, 1911; *Weinlandia abortive* (Linstow, 1901) Mayhew, 1925.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Gammarus pulex* L., 1758.

Habitat: Caecum, small intestine.

Distribution: Bulgaria – Rositsa River (Marinova et al., 2013).

Species: *Microsomacanthus collaris* Batsch, 1786

Syn.: *Hymenolepis collaris* Batsch, 1786; *H. sinuosa* Railliet, 1899; *Myxolepis collaris* Batsch, 1786; *Taenia sinuosa* Zeder, 1803; *T. collaris* Batsch, 1786; *Weinlandia collaris* (Batsch, 1786) Mayhew, 1925; *Dicranotaenia collaris* Batsch, 1786; *Myxacanthus collaris* (Batsch, 1786) Oshmarin, 1963; *Sobolevicanthus collaris* (Batsch, 1786) Ablasov, 1953.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Cyclops lucidulus* Koch, 1838; *A. bicuspidatus*; *A. vernalis*; *A. viridis*; *C. strenuus*; *E. agilis*; *E. serrulatus*; *M. leuckarti*; *M. oithonoides*; *D. coeruleus*; *G. pulex*.

Auxiliary hosts: *L. palustris*; *L. vulgaris*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Cosmopolitan (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Ukraine (PL 7.7 %, II 1–1342 ind.) (Smogorzhevskaya, 1976), Russia – Far East, Eastern and Western Siberia, along the Volga River (Ryzhikov, 1967; Spasskaya, 1966; Ryzhikov et al., 1974), Georgia (Petrochenko, Kotelnikov, 1976), Slovakia and Czech Republic (Barus et al., 1977), North America (Ransom, 1909), Azerbaijan – Astara, Shabran, Khachmaz regions (PL 1.3 %, II 1–34 ind.) (Vahidova et al., 1982; Vahidova, 1978; Shakhtakhtinskaya, 1952, 1959; Shirinov, 1961).

Species: *Microsomacanthus compressa* Linton, 1892

Syn.: *Taenia compressa* Linton, 1892; *Hymenolepis compressa* (Linton, 1892) Kowalewski, 1904; *H. megarostellis* (Solovev, 1911) Skrjabin, 1914; *H. solowiowi* Skrjabin, 1914; *Najedolepis solowiowi* (Skrjabin, 1914) Yamaguti, 1959.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *C. strenuus*; *M. albidus*; *M. leuckarti*.

Auxiliary hosts: *Anisus spirorbis* L., 1758; *L. ovata*; *L. palustris*; *L. peregra* Muller, 1774; *L. stagnalis* L., 1758; *Planorbis planorbis* L., 1758; *Valvata cristata* Muller, 1774; *Viviparus viviparus* L., 1758.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Holarctic (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Russia (Petrochenko, Kotelnikov, 1976; Ryzhikov, 1967; Spasskaya, 1966), Azerbaijan – Astara, Shabran, Gusar, Salyan, Khachmaz, Yevlakh, Ujar, Masally, Lankaran regions (PL 14.5 %, II 1–21 ind.) (Vahidova, 1978; Shirinov, 1961).

Species: *Microsomacanthus microsoma* Creplin, 1829

Syn.: *Taenia microsoma* Creplin, 1829; *Diplacanthus microsoma* (Creplin, 1829) Cohn, 1899; *Drepanidotaenia microsoma* (Creplin, 1829) Parona, 1899; *Hymenolepis microsoma* (Creplin, 1829) Railliet, 1890; *Weinlandia microsoma* (Creplin, 1829) Mayhew, 1925; *Monocercus lymnaei* Willot, 1883; *Cysticercus lymnaei* (Willot, 1883) Lühe, 1910.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *E. agilis*; *E. serrulatus*; *Gammarus locusta*; *Ampithoe rubricata* Montagu, 1808; *Pallasea quadrispinosa* Sars, 1867.

Auxiliary hosts: *Lymnaea lagotus* Schrank, 1803; *L. peregra*; *L. stagnalis*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Russia – Far East and Western Siberia (Petrochenko, Kotelnikov, 1976; Ryzhikov, 1967; Spasskaya, 1966).

Species: *Microsomacanthus paracompressa* Czaplinski, 1956

Syn.: *Hymenolepis paracompressa* Czaplinski, 1956.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *A. bicuspidatus*; *A. viridis*; *C. gigas*; *E. macruroides*; *E. serrulatus*; *M. albidus*; *M. crassus*; *M. leuckarti*; *M. oithonoides*; *P. fimbriatus*.

Auxiliary hosts: *Lymnaea ampla* Hartmann, 1821; *L. auricularia*; *L. ovata*; *L. palustris*; *L. peregra*; *L. stagnalis*; *P. planorbis*; *V. viviparus*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Palaearctic (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Russia – Kaluga, Kursk, Ryazan regions, Khabarovsk Krai (Engasheva, 2012; Shirinov, 1961), Poland (Czaplinski, 1956; Shirinov, 1961), Ukraine – shore of the Black Sea (PL 0.5 %, II 2–123 ind.) (Smogorzhevskaya, 1976), Kazakhstan – Pavlodar (Egizbaeva, 1962, 1963, 1964, 1971; Belokobylenko, 1962, 1963, 1964).

Species: *Microsomacanthus paramicrosoma* Gasowska, 1931

Syn.: *Hymenolepis paramicrosoma* Gasowska, 1931; *Microsomacanthus paramicrosoma* (Gasowska, 1932) Ablasov, 1957.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *A. bicuspidatus*; *A. viridis*; *E. serrulatus*; *M. albidus*; *M. crassus*; *M. leuckarti*; *M. oithonoides*; *P. fimbriatus*; *D. sarsi*.

Auxiliary hosts: *P. planorbis*; *L. auricularia*; *L. ovata*; *L. palustris*; *L. peregra*; *L. stagnalis*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Holarctic (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Ukraine (PL 0.9 %, II 4–3010 ind.) (Smogorzhevskaya, 1976), Russia – Khabarovsk Krai and Amur Region (Zakhryalov, Savinkova, 1962; Ryzhikov et al., 1974; Shirinov, 1961), Kazakhstan – Pavlodar (Egizbaeva, 1962, 1963, 1964, 1971; Belokobylenko, 1962, 1963, 1964).

Genus: *Retinometra* Spasskii, 1955

Species: *Retinometra longicirrosa* (Fuhrmann, 1906) Spassky, 1963

Syn.: *Hymenolepis longicirrosa* Fuhrmann, 1906; *H. fasciata* (Krabbe, 1869) Railliet, 1899; *H. fasciculata* Ransom, 1909; *Alyselminthus crenatus* (Goeze, 1782) Zeder, 1800; *Halysis crenata* (Goeze, 1782) Zeder, 1803; *Diplacanthus (Dilepis) fasciata* (Krabbe, 1869) Cohn, 1899; *Drepanidotaenia fasciata* (Krabbe, 1869) Railliet, 1893; *Sphenacanthus fasciculata* (Ransom, 1909) López-Neyra, 1942; *Hymenosphenacanthus fasciculata* (Ransom, 1909) Yamaguti, 1959; *Retinometra fasciculata* (Ransom, 1909) Spasskaya, 1965.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *A. viridis*; *C. strenuus*; *E. agilis*; *E. serrulatus*; *M. leuckarti*; *D. coeruleus*; *D. sarsi*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Palaearctic (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Russia – Kaluga, Kursk, Bryansk, Tula, Yaroslavl, Ryazan, Omsk, Chelyabinsk regions, Bashkortostan, Western Siberia, mouth of the Volga River (Engasheva, 2011, 2012; Sidiki, 1999; Petrochenko, Kotelnikov, 1976; Ryzhikov et al., 1974), Slovakia and Czech Republic (Busta, 1980; Barus et al., 1977), Bulgaria (Marinova et al., 2013), China (Tseng, 1932), North America (Ransom, 1909), Ukraine (PL 3.8 %, II 2–7 ind.) (Smogorzhevskaya, 1976).

Species: *Retinometra longistylosa* Tseng-Shen, 1932

Syn.: *Hymenolepis longistylosa* Tseng-Shen, 1932; *Dicranotaenia longistylosa* (Shen Tseng, 1932) López Neyra, 1942; *Stylolepis longistylosa* (Shen Tseng, 1932) Yamaguti, 1959.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: unknown.

Habitat: Small intestine.

Distribution: China (Tseng, 1932).

Genus: *Sobolevicanthus* Spasskii & Spasskaya, 1954

Species: *Sobolevicanthus fragilis* (Krabbe, 1869)

Syn.: *Taenia fragilis* Krabbe, 1869; *Hymenolepis fragilis* (Krabbe, 1869) Dubinina, 1951; *Drepanidotaenia fragilis* (Krabbe, 1869) Cohn, 1901.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: Crustacea.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Palaearctic (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Slovakia and Czech Republic (Barus et al., 1977).

Species: *Sobolevicanthus gracilis* Zeder, 1803

Syn.: *Halysis gracilis* Zeder, 1803; *Taenia gracilis* (Zeder, 1803) Rudolphi, 1810; *Drepanidotaenia gracilis* (Zeder, 1803) Railliet, 1803; *Diplacanthus (Dilepis) gracilis* (Zeder, 1803) Cohn, 1890; *Hymenolepis gracilis* (Zeder, 1803) Railliet, 1800; *H. meleagridis* Clerc, 1902; *Weinlandia gracilis* (Zeder, 1803) Mayhew, 1925; *Fuhrmaniella gracilis* (Zeder, 1803) Shen Tseng, 1932; *Sphenacanthus gracilis* (Zeder, 1803) López-Neyra, 1942.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Candona compressa* Koch, 1838; *C. neglecta* Sars, 1887; *C. rostrata* Brady, 1889; *Cyclocypris dispersa* Sars, 1863; *C. globosa*; *C. vidua*; *Cypria ophthalmica* Jurine, 1820; *D. fasciata*; *Eucypris virens* Jurine, 1820; *H. incongruens*; *N. monacha*; *A. viridis*; *C. vicinus*; *E. serrulatus*; *M. albidus*; *M. crassus*; *M. leuckarti*; *M. oithonoides*; *P. fimbriatus*; *D. sarsi*; *D. spinosus*; *Eudiptomus graciloides* Lilljeborg, 1888.

Auxiliary hosts: *L. palustris*; *L. vulgaris*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Holarctic, Indomalaya (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Ukraine – AR of Crimea, Dnipropetrovsk, Odesa, Mykolaiv, Kyiv, Khmelnytskyi, Volyn regions (PL 0.3 %, II 1–16 ind.) (Smogorzhevskaya, 1976; Pashchenko, 1951; Golubev, 1963), Bulgaria – River Rositsa (Marinova et al., 2013), Slovakia and Czech Republic (Barus et al., 1977), North America (Ransom, 1909), Russia – Krasnoyarsk Krai, Amur Region (Ryzhikov, 1967; Ryzhikov et al., 1974; Belyaeva, 1961; Ryzhikov, Timofeeva, 1961), Azerbaijan – Shabran Region (PL 1.8 %, II 6–58 ind.) (Vahidova et al., 1982; Vahidova, 1978; Shirinov, 1961).

Species: *Sobolevicanthus krabbeella* Hughes, 1940

Syn.: *Hymenolepis krabbeellus* Hughes, 1940; *H. krabbeella* Hughes, 1940; *Sobolevicanthus krabbeellus* Hughes, 1940.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: Crustacea.

Habitat: Small intestine, caecum.

Distribution: Palaearctic (McDonald, 1969). Russia – South of Ural (Ryzhikov, 1967).

Species: *Sobolevicanthus octacanthus* Krabbe, 1869

Syn.: *Sobolevicanthus octacantha* Krabbe, 1869; *Hymenolepis octacantha* Krabbe, 1869; *Taenia octacanthus* Krabbe, 1869; *Taenia octacantha* Krabbe, 1869; *Drepanidotaenia octacantha* (Krabbe, 1869) Cohn, 1901; *Weinlandia octacantha* (Krabbe, 1869) Mayhew, 1925; *Sphenacanthus octacantha* (Krabbe, 1869) López-Neyra, 1942; *Dicranotaenia octacantha* Krabbe, 1869.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *C. vicinus*; *E. serrulatus*; *M. oithonoides*; *H. incongruens*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Palaearctic (McDonald, 1969). Azerbaijan – Shabran Region (PL 0.9 %, II 1–3 ind.) (Vahidova et al., 1982; Vahidova, 1978; Shirinov, 1961).

Genus: *Tschertkovilepis* Spasskii & Spasskaya, 1954

Species: *Tschertkovilepis krabbei* Kowalewski, 1895

Syn.: *Taenia krabbei* Kowalewski, 1894; *T. conscripta* Railliet & Henry, 1909; *Drepanidotaenia krabbei* (Kowalewski, 1891) Zürn, 1898; *D. conscripta* (Railliet & Henry, 1909) López-Neyra, 1909; *Hymenolepis krabbei* (Kowalewski, 1894) Joyeux & Baer, 1936; *H. tenuirostris* Rudolphi, 1819; *H. conscripta* (Railliet & Henry, 1909) Fuhrmann, *Tschertkovilepis krabbei* Kowalewski, 1894; 1924; *T. conscripta* (Railliet & Henry, 1909) Yamaguti, 1959; *Monosacanthus tenuirostris* Rudolphi, 1819.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *E. agilis*; *C. strenuus*; *C. serrulatus*; *M. oithonoides*; *M. crassus*; *M. leuckarti*; *A. vernalis*; *E. macrurus*; *E. serrulatus*; *D. vulgaris*; *G. pulex*.

Auxiliary hosts: *L. Auricularia*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Holarctic (Czapliński, Jarecka, 1967; Schmidt, 1986). Ukraine (Smogorzhevskaya, 1976; Spasskaya, 1966; Yuskiv, Melnychuk, 2020), Russia – Bryansk, Kursk, Orel, Yaroslavl, Omsk, Amur, Novosibirsk regions, St. Petersburg, Rybinsk reservoir, Tatarstan (Spasskaya, 1966; Sidiki, 1999; Kopyrin, 1946; Zakhryalov, Savinkova, 1962; Ryzhikov et al., 1974), Belarus (Ryzhikov, 1967), Slovakia and Czech Republic (Barus et al., 1977), Bulgaria (Marinova et al., 2013), Poland (Bezubik, 1956; Czaplinski, 1956), North America (Ransom, 1909).

Species: *Tschertkovilepis setigera* Frölich, 1789. Fig. 4.

Syn.: *Hymenolepis anseris* Skrjabin & Matevosyan, 1942; *H. setigera* (Frölich, 1789) Railliet, 1899; *Taenia setigera* Frölich, 1789; *T. setigera* Frölich, 1789; *T. setosa* Rudolphi, 1810; *T. fasciata* Rudolphi, 1810; *Halysis setigera* (Frölich, 1789) Zeder, 1803; *Drepanidotaenia setigera* (Frölich, 1789) Railliet, 1893.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *A. bicuspidatus*; *C. gigas*; *C. strenuus*; *E. serrulatus*; *E. speratus*; *M. leuckarti*; *M. oithonoides*; *D. coeruleus*; *D. sarsi*; *Cypris pubera*; *Anonyx nugax* Phipps, 1774; *G. locusta*.

Auxiliary hosts: *L. auricularia*; *L. ovata*; *L. palustris*; *L. stagnalis*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Palaearctic, Indomalaya (Spasskaya, 1966; Schmidt, 1986). Ukraine – Odesa, Mykolaiv, Kyiv, Poltava regions (PL 4.9 %, II 1–200 ind.) (Smogorzhevskaya, 1976; Andriyevskaya, 1960; Pashchenko, 1951; Sergiyenko, 1968; Yevstafyeva, Yeresko, 2018; Yevstafyeva et al., 2018, 2020; Yuskiv, Melnychuk, 2020), Russia – Bashkortostan, Dagestan; Kaluga, Kursk, Ryazan, Bryansk,

Yaroslavl, Omsk, Novosibirsk, Amur regions (Mukhametshin, 2004; Engasheva, 2012; Sidiki, 1999; Aliyev, 2006; Gorshkov, 1937; Kopyrin, 1946; Tolkacheva, 1968; Ryzhikov et al., 1974), Turkey – Kars district (Kurtpinar, Merdivenci, 1956; Gicik, Arslan, 2003), Slovakia and Czech Republic (Barus et al., 1977), Bulgaria – Pavlikeni Region, Veliko Tarnovo Region, Elena Region (Marinova et al., 2013).

We recorded *T. setigera* from the Absheron Region (PL 1.72 %, II 30–39 ind.) and the Nakhchivan AR – Sharur Region (PL 2.72 %, II 2–3 ind.) of Azerbaijan.

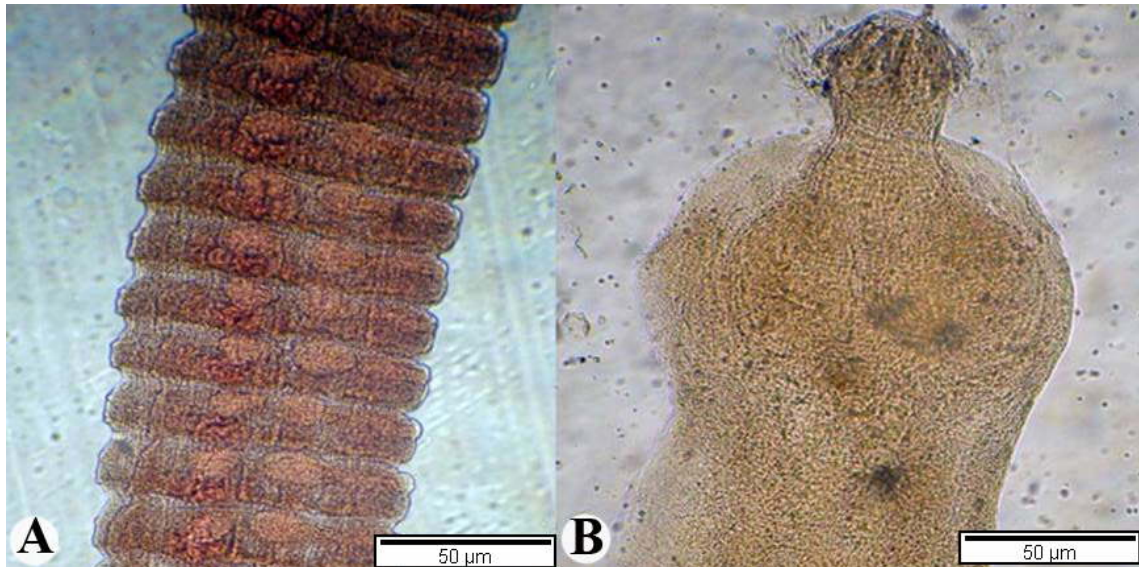


Fig. 4. Cestode *Tschertkovilepis setigera*. A – adult strobila – mature proglottids, B – scolex. Photo: F. Rzayev

Genus: *Wardium* Mayhew, 1925

Species: *Wardium aequabilis* Rudolphi, 1810

Syn.: *Dicranotaenia aequabilis* Rudolphi, 1810; *Taenia aequabilis* Rudolphi, 1810; *Hymenolepis aequabilis* (Rudolphi, 1810) Railliet, 1800; *Hymenofimbria aequabilis* (Rudolphi, 1810) Spasskii, 1961.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *C. laevis*; *M. fuscus*.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Russia (Petrochenko, Kotelnikov, 1976; Ryzhikov, 1967; Spasskaya, 1966).

Species: *Wardium creplini* Krabbe, 1869

Syn.: *Hymenolepis creplini* Krabbe, 1869; *H. pingi* Shen Tseng, 1932; *Taenia creplini* Krabbe, 1869; *Dicranotaenia creplini* (Krabbe, 1869) Stossich, 1898; *D. pingi* (Shen Tseng, 1932) López-Neyra, 1942; *Wardium pingi* (Shen Tseng, 1932) Ablasov, 1955.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: unknown.

Habitat: Small intestine.

Distribution: China (Tseng, 1932).

Family: Mesocestoididae Fuhrmann, 1907

Genus: *Mesocestoides* Vaillant, 1863

Species: *Mesocestoides imbutiformis* Polonio, 1860

Syn.: *Taenia imbutiformis* Polonio, 1860.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: unknown.

Habitat: Intestine.

Distribution: Georgia (Ryzhikov, 1967).

Family: Paruterinidae Fuhrmann, 1907

Genus: *Metroliasthes* Ransom, 1900

Species: *Metroliasthes lucida* Ransom, 1900

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *Chorthippus curtipennis* Harris, 1835; *Melanoplus femurrubrum* De Geer, 1773; *Paroxya clavuliger* Serravallo, 1838.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Cosmopolitan (McDonald, 1969).

Order: Diphyllbothriidea Kuchta, Scholz, Brabec, Bray, 2008

Family: Diphyllbothriidae Lühe, 1910

Genus: *Ligula* Bloch, 1782

Species: *Ligula interrupta* Rudolphi, 1810

Syn.: *Digramma interrupta* Rudolphi, 1810; *L. abdominalis carassi* Gmelin, 1790; *L. abdominalis ciprinorum* Gmelin, 1790; *L. carassi* (Gmelin, 1790) Zeder, 1803; *L. constringens* Rudolphi, 1810; *L. capronis* Rudolphi, 1810; *L. digramma* Creplin, 1839; *Diplogonoporus brauni* Leon, 1907.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *A. bicuspidatus*; *A. vernalis*; *A. viridis*; *C. furcifer*; *C. insignis*; *C. strenuus*; *E. serrulatus*; *M. albidus*; *M. fuscus*; *P. fimbriatus*; *Acanthodiptomus denticornis* Wierjeski, 1887; *D. gracilis*; *E. graciloides*; *Heterocopa appendiculata* Sars, 1863.

Auxiliary hosts: *Abramis brama* L., 1758; *A. sapa* Pallas, 1814; *Barbus lacerta* Heckel, 1843; *Carassius auratus* L., 1758; *C. carassius* L., 1758; *Cyprinus carpio* L., 1758; *Gobio gobio* L., 1758; *Leuciscus brandti* Dybowski, 1872; *Rhodeus sericeus* Bloch, 1782; *Rutilus rutilus* L., 1758; *Saurogobio dabryi* Bleeker, 1871.

Habitat: Intestine.

Distribution: Europe, Asia (McDonald, 1969).

Species: *Ligula intestinalis* (Linnaeus, 1758) Gmelin, 1790

Syn.: *Fasciola intestinalis* Linnaeus, 1758; *F. abdominalis* Goeze, 1782; *Taenia cingulum* Pallas, 1781; *Ligula cingulum* (Pallas, 1781) Rudolphi, 1810; *L. piscium* Bloch, 1782; *L. avium* Bloch, 1782; *L. abdominalis* (Goeze, 1782) Gmelin, 1790; *L. simplicissima* Rudolphi, 1802; *L. alternans* Rudolphi, 1810; *L. contortrix* Rudolphi, 1810; *L. edulis* Briganti, 1819; *L. uniserialis* Rudolphi of Creplin, 1839; *L. monogramma* Creplin, 1839; *Dibothrium ligula* Donnadieu, 1877; *Braunia jasseysensis* Leon, 1908; *Monogramma uniserialis* (Rudolphi, 1810) Kholodkovsky, 1915.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *A. bicuspidatus*; *A. viridis*; *C. strenuus*; *E. serrulatus*; *M. albidus*; *M. leuckarti*; *M. oithonoides*; *D. gracilis*; *D. sarsi*; *E. graciloides*.

Auxiliary hosts: Pisces.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Europe, Asia, North America, Africa (McDonald, 1969). We registered this parasite for the first time in domestic goose in Azerbaijan – Masally Region (PL 0.36 %, II 1–3 ind.).

Genus: *Schistocephalus* Creplin, 1829

Species: *Schistocephalus solidus* Müller, 1776

Syn.: *Taenia solidus* Muller, 1776; *T. solida* Müller, 1776; *T. acutissima* Pallas, 1781; *Rhytis solida* (Müller, 1776) Zeder, 1800; *Bothriocephalus solidus* (Müller, 1776) Rudolphi, 1810; *Schistocephalus solidus* (Müller, 1776) Steenstrup, 1857; *S. dimorphus* Creplin, 1829; *Dibothrium ligula* Donnadieu, 1877.

Final host: *Anser anser* dom.

Intermediate hosts: *A. bicuspidatus*; *A. vernalis*; *A. viridis*; *C. furcifer*; *C. strenuus*; *C. vicinus*; *E. macrurus*; *E. macruroides*; *E. serrulatus*; *M. albidus*; *M. fuscus*; *M. leuckarti*; *D. gracilis*; *E. graciloides*.

Auxiliary hosts: Pisces.

Habitat: Small intestine.

Distribution: Russia (Ryzhikov, 1967).

An analysis of literature data and the results of our research has established that a total of 147 helminth species (Trematoda – 64, Cestoda – 33, Nematoda – 46, Acanthocephala – 4) is hitherto known in domestic geese. The recorded tapeworms belong to five families (Dilepididae – 1 species, Hymenolepididae – 27 species, Mesocestoididae – 1 species, Paruterinidae – 1 species,

Diphyllobothriidae – 3 species). In Azerbaijan, 11 cestod species were found in domestic geese. Six of them (*Diorchis inflata*, *Drepanidotaenia lanceolata*, *D. przewalskii*, *Fimbriaria fasciolaris*, *Tschertkovilepis setigera*, *Ligula intestinalis*) were registered in the course of our helminthological studies. The cestodes *D. inflata* and *L. intestinalis* were found in domestic geese in Azerbaijan for the first time. Five species (*Dilepis undula*, *Drepanidotaenia lanceolata*, *Ligula interrupta*, *Ligula intestinalis*, *Schistocephalus solidus*) parasitize both birds and mammals (*D. lanceolata* also in humans). Of these, two species (*D. lanceolata*, *L. intestinalis*) occur in Azerbaijan.

References

- Ablasov N.A. (1953). *Helminth fauna of domestic and wild waterfowl in Kyrgyzstan*. PhD Thesis. Moscow. 13 p. (in Russian)
- Akbaev R.M. (2015). Parasitic diseases of geese in the conditions of small farms in the territory of the Karachay-Cherkess Republic. *Agricultural Journal*, 3, 34–35. (in Russian)
- Aliyev Sh.K. (2006). Extensive invasion of domestic ducks by mixed invasion in the Republic of Dagestan. *Reports of the All-Russian Scientific Conference FOG*. Moscow. P. 9–11. (in Russian)
- Andriyevskaya N.Yu. (1960). Materials for the helminth fauna of domestic waterfowl in the conditions of the Kominternovskiy District of the Odessa Region. *Scientific Yearbook of Odessa University*, 2, 77–79. (in Russian)
- Barus V., Micolasek A., Busta J. (1977). Influence of breeding technology on helminth fauna of geese (*Anser anser f. dom.*). *Folia Parasitologica (Praha)*, 24(4), 305–314.
- Belokobylenko V.T. (1962). Helminth fauna of domestic waterfowl of the Alma-Ata Region. *Proceedings of the Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR*, 1, 197–206. (in Russian)
- Belokobylenko V.T. (1963). Helminth fauna of poultry in the southeast and east of Kazakhstan. *Proceedings of the Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR*, 2, 86–100. (in Russian)
- Belokobylenko V.T. (1964). Helminths and helminthiases of domestic birds in the southeast of Kazakhstan. *Helminths and helminthiases of domestic birds in Kazakhstan*. Alma-Ata. P. 6–18. (in Russian)
- Belyaeva M. (1961). To the study of poultry helminths in the Krasnoyarsk Territory. *Proceedings of the Krasnoyarsk Agricultural Institute*, 11, 180–185. (in Russian)
- Bezubik B. (1956). The helminth fauna of wild ducks (subfamily Anatinae) of the Lublin and Bialystok districts. *Acta parasit. Polon.*, 4(9/19), 359–373.
- Borgarenko L.F. (1981). *Helminths of birds of Tajikistan. Cestodes*. Dushanbe. 327 p. (in Russian)
- Busta J. (1980). Helminths in broiler geese fattened in runs. *Vet. Med. (Praha)*, 25(12), 717–723.
- Caira J.N., Jensen K., Waeschenbach A. et al. (2014). Orders out of chaos – molecular phylogenetics reveals the complexity of shark and stingray tapeworm relationships. *International Journal for Parasitology*, 44, 55–73. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.10.004>
- Czapliński B. (1956). Hymenolepididae Fuhrmann, 1907 (Cestoda). Parasites of some domestic and wild Anseriformes in Poland. *Acta Parasit. Polon.*, 4, 175–373.
- Czapliński B., Jarecka L. (1967). Morphologie et cycle évolutif de *Tschertkovilepis krabbei* (Kowalewski, 1895) comb. n. – syn. *Drepanidotaenia przewalskii* (Skrjabin, 1914) nec *Taenia tenuirostris* Rudolphi, 1819 (Cestoda, Hymenolepididae). *Acta Parasit. Polon.*, 15 (39), 289–305.
- Egizbaeva H.I. (1962). Helminths of domestic waterfowl of the virgin land. Parasites of farm animals in Kazakhstan. *Proceedings of the Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR*, 1, 207–215. (in Russian)
- Egizbaeva H.I. (1963). The dynamics of the helminth fauna of domestic ducks in the Pavlodar farms. *Proceedings of the Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR*, 2, 100–108. (in Russian)
- Egizbaeva H.I. (1964). Supplement to the fauna of helminths of domestic ducks and geese of the virgin land. Parasites of farm animals in Kazakhstan. *Proceedings of the Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR*, 3, 163–166. (in Russian)
- Egizbaeva H.I. (1971). Review of the helminth fauna of domestic ducks and geese in Kazakhstan and Central Asia. *Proceedings of the Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR*, 31, 60–68. (in Russian)
- Engasheva E.S. (2011). Distribution of geese helminthiases in the conditions of some regions of the Non-Chernozem Zone. *Topical Issues of Veterinary Biology*, 4(12), 14–17. (in Russian)

- Engasheva E.S. (2012). *Pharmaco-toxicological properties and therapeutic and prophylactic efficacy of monizen in helminthiasis of waterfowl*. PhD Thesis. Moscow. 26 p. (in Russian)
- Fedyushin A.V. (1937). Helminth fauna of geese and ducks in Western Siberia in connection with the problem of using natural reservoirs for poultry farming. *Works on helminthology dedicated to the 30th anniversary of academician K.I. Scryabin*. P. 167–177. (in Russian)
- Gicik Y., Arslan M.O. (2003). The prevalence of helminths in the alimentary tract of geese (*Anser anser domesticus*) in Kars District, Turkey. *Vet. Res. Commun.*, 27, 391–395. <https://doi.org/10.1023/a:1024710221179>
- Golubev N.F. (1963). To the study of the helminth fauna of domestic and wild water birds of the Crimea region. *Scientific Proceedings of the Ukrainian National Institute of Experimental Veterinary Medicine*, 29, 147–152. (in Russian)
- Gorshkov I.P. (1937). To the knowledge of the helminth fauna of domestic geese in the Omsk and Chelyabinsk regions. *Works on helminthology dedicated to academician K.I. Scryabin*. Moscow. P. 191–202. (in Russian)
- Guchlu F. (1992). *The helminth fauna in chickens, turkeys, ducks and geese in the region of Ankara, Turkey*. PhD Thesis. 14 p. (in Turkish)
- Hanzelova V., Rysavy B., Snabel V. (1995). Synopsis of cestodes in Slovakia III. Cyclophyllidae: Amabiliidae, Acoleidae, Catenotaeniidae, Davaineidae, Hymenolepididae (in part). *Helminthologia*, 32(1–2), 67–73.
- Khalil L.F., Jones A., Bray R.A. (1994). *Keys to the cestode parasites of vertebrates*. CABI, Wallingford. 751 p.
- Kopyrin A.V. (1946). Helminth fauna of domestic geese in the southern part of the Omsk Region. *Helminthological collection dedicated to academician K.I. Scryabin*. Moscow. P. 146–148. (in Russian)
- Kuchta R., Scholz T., Brabec J., Bray R.A. (2008). Suppression of the tapeworm order Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Eucestoda) and the proposal of two new orders, Bothriocephalidea and Diphyllbothriidea. *International Journal for Parasitology*, 38(1), 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.08.005>
- Kurtpinar H., Merdivenci A. (1956). *Hymenolepis setigera* (Froelich, 1789), which caused death in the young goose (*Anser anser dom.*) in Balikesir region. *Turkish Journal of Veterinary Medicine*, 26, 2659–2666. (in Turkish)
- Lapage G. (1961). A list of the parasitic protozoa, helminths and arthropoda recorded from species of the family Anatidae (ducks, geese and swans). *Parasitology*, 51, 1–109. <https://doi.org/10.1017/s0031182000068517>
- Macko J.K. (1991). A revision of species of the genus *Dicranotaenia* (Cestoda: Hymenolepididae). III. New data on the type – specimens of *Dicranotaenia kutassi* Mathevossian, 1945, *D. pseudocoronula* Mathevossian, 1945 and *D. fallax* Krabbe, 1869. *Systematic Parasitology*, 20, 187–194. <https://doi.org/10.1007/BF00009781>
- Marinova M.H., Boyko B.G., Gergana P.V. (2013). A checklist of cestodes (Platyhelminthes: Cestoda) of waterfowl (Aves: Anseriformes) in Bulgaria. *Acta Zool. Bulg.*, 65(4), 537–546.
- McDonald M.E. (1969). United States. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife. *Catalogue of helminths of waterfowl (Anatidae)*. Washington, D.C.: U.S. Dept. of the Interior, Fish and Wildlife Service, Bureau of Sport Fisheries and Wildlife. 692 p.
- Merdivenci A. (1967). *To the studying trematodes, cestodes and nematodes of domestic chicken, turkey, duck, goose in Marmara region (Turkey)*. Istanbul. PhD Thesis. 37 p. (in Turkish)
- Mukhametshin I.A. (2004). *Mixed invasions of geese and chickens in the farms of the Ural region of the Republic of Bashkortostan*. Ufa. PhD Thesis. 24 p. (in Russian)
- Olson P.D., Littlewood D.T., Bray R.A., Mariaux J. (2001). Interrelationships and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 19(3), 443–467. <https://doi.org/10.1006/mpev.2001.0930>
- Pashchenko L.F. (1951). *Helminth fauna of domestic birds of the Kiev Region*. PhD Thesis. Kiev. 151 p. (in Russian)
- Petrochenko V.I., Kotelnikov G.A. (1976). *Helminthiasis of birds*. Moscow: Kolos. 352 p. (in Russian)
- Ransom B.H. (1909). The taenioid cestodes of North American birds. *Bull. U.S. Nat. Mus.*, 69, 1–141.
- Rysavý B. (1973). *Eiseniella tetraedra* (Savigny) (Oligochaeta), a new intermediate host of the cestode *Dilepis undula* (Schrank, 1782). *Folia Parasitol (Praha)*, 20(1), 16.
- Ryzhikov K.M. (1967). *Keys to helminths of domestic waterfowl*. Moscow: Nauka. 262 p. (in Russian)

- Ryzhikov K.M., Gubanov N.M., Tolkacheva L.M. et al. (1974). *Helminths of birds of Yakutia and adjacent territories. Cestodes and Trematodes*. Moscow: Nauka. 340 p. (in Russian)
- Ryzhikov K.M., Gubanov N.M. (1959). To the fauna of cestodes of goose birds of Verkhoysk (Yakutia). *Proceedings of Helminthological lab. AN USSR*, 9, 243–248. (in Russian)
- Ryzhikov K.M., Timofeeva T.N. (1961). To the helminth fauna of wild and domestic waterfowl in the Amur Region. *Proceedings of Helminthological lab. AN USSR*, 11, 213–222. (in Russian)
- Rzayev F.H. (2011). *Studying of the mechanism of influence of local plant preparations on pathogenic worms of domestic water birds of Azerbaijan*. PhD Dissertation. Baku. 206 p. (in Azeri)
- Rzayev F.H. (2013). Comparative helminth fauna of domestic waterfowl (*Anser anser* dom. and *Anas platyrhynchos* dom.) in various ecological zones of Azerbaijan. *Proceedings of young scientists of the Volga region*, Tolyatti: Cassandra, 145–151. (in Russian)
- Rzayev F.H., Ibrahimova N.E. (2015). Comparative characteristics of helminth fauna of domestic water birds of the southeast of Azerbaijan. *Ecological bulletin*, 2(32), 101–106. (in Russian)
- Rzayev F.H., Nasirov A.M., Gasimov E.K. (2021). A systematic review of tapeworms (Plathelminthes, Cestoda) of domestic ducks (*Anas platyrhynchos* dom.). *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(2), 353–361. <https://doi.org/10.15421/022148>
- Rzayev F.H., Seyidbeyli M.I., Maharramov S.H., Gasimov E.K. (2020). Forms and ultrastructural features of the lateral alae of the helminth *Trichostrongylus tenuis* Mehlis, 1846 (Nematoda: Trichostrongylidae). *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 34, 112–119. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2020-34-12>. (in Russian)
- Sergiyenko M.I. (1968). *The fauna of flatworms and roundworms, waterfowl and wading birds of the Upper Dniester basin*. PhD Thesis. Lviv. 18 p. (in Russian)
- Seyidbeyli M.I., Maharramov S.H. (2018). Helminth fauna of domestic waterfowl (goose – *Anser anser* dom. and duck – *Anas platyrhynchos* dom.) of Nakhchivan AR. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 31, 107–112. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2018-31-10>. (in Russian)
- Seyidbeyli M.I., Rzayev F.H. (2016). Helminth fauna and some ecological features of domestic ducks in the Babek region of Nakhchivan AR. *Scientific Works of Nakhchivan State University*, 7(80), 227–231. (in Azeri)
- Seyidbeyli M.I., Rzayev F.H. (2018). Helminth fauna of waterfowl poultry in the territory of Babek region of Nakhchivan AR. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(1), 1668–1671.
- Seyidbeyli M.I., Rzayev F.H., Gasimov E.K. (2020). Ultrastructural features of the body wall of the helminth *Trichostrongylus tenuis* (Mehlis, 1846) (Nematoda: Trichostrongylidae). *Parazitologiya*, 54(5), 402–412. <https://doi.org/10.31857/S123456780605003X>. (in Russian)
- Shakhtakhtinskaya Z.M. (1952). *Helminthofauna of hunting and game birds in AzSSR*. Dr. Thesis. Baku. 36 p. (in Russian)
- Shakhtakhtinskaya Z.M. (1959). Helminths of domestic and hunting waterfowl in AzSSR. *Works on helminthology for the 80th anniversary of Academician K.N. Scriabin (VIGIS)*, Moscow. 197–202. (in Russian)
- Schmidt J.D. (1986). *CRC handbook of tapeworm identification*. Boca Raton, Florida: CRC Press. 675 p.
- Shirinov N.M. (1961). *Helminth fauna and helminthiasis of domestic waterfowl of the Azerbaijan SSR and the test of piperazine sulfate in ganguleteracidosis*. PhD Dissertation. Baku. 206 p. (in Russian)
- Sidiki B. (1999). *Helminth fauna of geese in the Central zone of the Non-Chernozem Region of Russia and measures to combat the main helminthiasis*. PhD Dissertation. 134 p. (in Russian)
- Smogorzhevskaya L.A. (1976). *Helminths of waterfowl and wading birds of the fauna of Ukraine*. Kiev: Nauka Dumka. 415 p. (in Russian)
- Spasskaya L.P. (1966). *Cestodes of birds of the USSR, Hymenolepidids*. Moscow: Nauka. 697 p. (in Russian)
- Spassky A.A. (1963). *Fundamentals of cestodology. Hymenolepidids – tapeworms of wild and domestic birds*. Moscow: Nauka. 419 p. (in Russian)
- Spassky A.A. (1965). Cestodes of the genus *Aploparaksis* from birds of Kamchatka. *Parasitic worms of domestic and wild animals*. Vladivostok. P. 303–311. (in Russian)
- Tolkacheva L.M. (1968). Helminth fauna of waterfowl in the lower reaches of the Yenisei River and the Norilsk Lakes. *Works on the helminth fauna of fish and birds*. Moscow. P. 187–209. (in Russian)
- Tolkacheva L.M. (1971). To the study of the fauna of cestodes of goose birds of Yakutia. *Harmful insects and helminths of Yakutia*. Yakutsk. P. 102–108. (in Russian)
- Tseng Sh. (1932). Study on Chinese bird cestodes. *Annals Parasitology*, 10(2), 105–128. (in French)

- Vahidova S.M. (1978). *Helminths of birds of Azerbaijan*. Baku: Elm. 237 p. (in Russian)
- Vahidova S.M., Shirinov N.M., Samedov N.A. (1982). Main helminthiasis of poultry in Azerbaijan. Baku: Elm. 75 p. (in Azeri)
- Vasilev I. (1962). Helminth fauna of the domestic goose (*Anser anser dom.*) in Bulgaria. *Proceedings of the Central Helminthological Laboratory*, 7, 11–17. (in Bulgarian)
- Vasilev I. (1973). Contribution to the knowledge of the helminth fauna of the domestic ducks in Bulgaria. II. *Proceedings of the Central Helminthological Laboratory*, 16, 13–23. (in Bulgarian)
- Wang X.Q., Lin R.Q., Gao Y. et al. (2012). Prevalence of intestinal helminths in domestic goose (*Anser domesticus*) in Qingyuan, Guangdong Province, China. *African Journal of Microbiology Research*, 6(40), 6843–6846. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.706>
- Yevstafyeva V., Melnychuk V., Yeresko V. et al. (2018). Species composition and distribution of helminths in domestic goose (*Anser anser dom.*) population. *Veterinaria*, 10, 34–39. (in Russian)
- Yevstafyeva V.A., Yeresko V.I. (2018). Associative course of capillariasis geese in the Poltava region. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(83), 73–76. <https://doi.org/10.15421/nvlvet8314>
- Yevstafyeva V., Yeresko V., Melnychuk V., Bakhur T. (2020). Prevalence and co-infection of *Baruscapillaria* genus (Nematoda, Capillariidae) in domestic geese in Ukraine. *Folia Veterinaria*, 64(1), 32–38. <https://doi.org/10.2478/fv-2020-0005>
- Yuskiv I.D., Melnychuk V. (2020). Special measures of anti-helminthoses complex in case of goose endoparasitoses (*Anser anser domesticus* & *Anser cygnoides domesticus*, Linnaeus, 1758). *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*, 1, 222–242. <https://doi.org/10.31210/visnyk2020.01.27>. (in Ukrainian)
- Zakhryalov Ya.N., Savinkova L.N. (1962). Helminth fauna of domestic waterfowl in the Amur Region. *Proceedings of the Far East NIV*, 4, 120–124. (in Russian)

Систематичний огляд паразитів (Plathelminthes: Cestoda) свійської гуски (*Anser anser dom.*)

Ф.Г. Рзаєв, А.М. Насиров, Е.К. Гасимов

Птахівництво має важливу роль у забезпеченні населення більшості країн світу м'ясною продукцією, в тому числі м'ясом водоплавних птахів, включаючи свійську гуску – *Anser anser dom.* Одним з факторів, які безпосередньо впливають на якість м'яса і отримуваної з нього промислової продукції, є гельмінти, які викликають захворювання у господарів. Паразитологічні дослідження з метою вивчення гельмінтофауни свійських гусей проводилися в багатьох країнах, включаючи Азербайджан. Стюжкові черви (клас: Cestoda) також паразитують у гуски, завдаючи їй серйозної шкоди. Оглядова інформація з вивчення світової гельмінтофауни свійських гусей відсутня. З огляду на актуальність теми, на основі власних матеріалів і великої кількості літературних даних ми поставили завдання визначити і систематизувати видовий склад стюжкових червів, паразитуючих на свійських гусях. Список видів цестод представлений в алфавітному порядку, родини, роди і види відповідають номенклатурі і класифікації Khalil et al. (1994) і Olson et al. (2001) з оновленнями Kuchta et al. (2008) і Cairn et al. (2014). Ми також врахували класифікацію, прийняту в базі даних Fauna Europaea. Для кожного виду представлено таку інформацію: наукова назва, автор і рік опису, синоніми, основні, проміжні і резервуарні господарі, локалізація в тілі птаха, місця збору в Азербайджані, географічне поширення, екстенсивність та інтенсивність інвазії, літературні джерела. На підставі літературних і власних даних встановлено, що до теперішнього часу у свійських гусей було зареєстровано 147 видів гельмінтів (Trematoda – 64, Cestoda – 33, Nematoda – 46, Acanthocephala – 4). Виявлені 33 види стюжкових червів належать до п'яти родин (Dilepididae – 1, Hymenolepididae – 27, Mesocestoididae – 1, Paruterinidae – 1, Diphyllbothriidae – 3), з них 11 видів зустрічаються у свійських гусей в Азербайджані. Шість видів (*Diorchis inflata*, *Drepanidotaenia lanceolata*, *D. przewalskii*, *Fimbriaria fasciolaris*, *Tschertkovilepis setigera*, *Ligula intestinalis*) були відзначені в ході наших гельмінтологічних досліджень. На території Азербайджану у свійських гусей вперше були виявлені цестоди *D. inflata* і *L. intestinalis*. П'ять видів гельмінтів (*Dilepis undula*, *Drepanidotaenia lanceolata*, *Ligula interrupta*, *L. intestinalis*, *Schistocephalus solidus*) паразитують як у птахів, так і у ссавців (*D. lanceolata* в тому числі у людини). Два з них (*D. lanceolata*, *L. intestinalis*) зареєстровані в Азербайджані.

Ключові слова: цестоди, систематичний список, паразити свійської гуски, показники інвазії, географічне поширення.

Про авторів:

Ф.Г. Рзаєв – Інститут зоології НАН Азербайджану, вул. А. Аббасаде, проїзд 1128, квартал 504, Баку, Азербайджан, AZ1004; Азербайджанський медичний університет, Насиминський район, вул. С. Вургун, 163, Баку, Азербайджан, AZ1078, fuad.zi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8128-1101>

А.М. Насиров – Институт зоологии НАН Азербайджану, вул. А. Аббасзаде, проезд 1128, квартал 504, Баку, Азербайджан, AZ1004; nasirov.a50@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6991-0334>
Е.К. Гасимов – Азербайджанский медицинский университет, Насиминский район, вул. С. Вургун, 163, Баку, Азербайджан, AZ1078, geldar1949@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5104-4260>

Систематический обзор паразитов (Plathelminthes: Cestoda) домашнего гуся (*Anser anser dom.*)

Ф.Г. Рзаев, А.М. Насиров, Э.К. Гасимов

Птицеводство играет немаловажную роль в обеспечении населения большинства стран мира мясной продукцией, в том числе мясом водоплавающих птиц, включая домашнего гуся – *Anser anser dom.* Одним из факторов, напрямую влияющих на качество мяса и получаемой из него промышленной продукции, являются гельминты, вызывающие заболевания у хозяев. Паразитологические исследования с целью изучения гельминтофауны домашних гусей проводились во многих странах, включая Азербайджан. Ленточные черви (класс: Cestoda) также паразитируют у гуся, нанося ему серьезный вред. Обзорной информации по изучению мировой гельминтофауны домашних гусей нет. Учитывая актуальность темы, на основе собственных материалов и обширных литературных данных мы поставили задачу определить и систематизировать видовой состав ленточных червей, паразитирующих на домашних гусях. Список видов цестод представлен в алфавитном порядке, семейства, роды и виды соответствуют номенклатуре и классификации Khalil et al. (1994) и Olson et al. (2001) с обновлениями Kuchta et al. (2008) и Caira et al. (2014). Мы также учли классификацию, принятую в базе данных Fauna Europaea. Каждый вид снабжен следующей информацией: научное название, автор и год описания, синонимы, основные, промежуточные и резервуарные хозяева, локализация в теле птицы, места сбора в Азербайджане, географическое распространение, экстенсивность и интенсивность инвазии, литературные источники. На основании литературных и собственных данных установлено, что до настоящего времени у домашних гусей было зарегистрировано 147 видов гельминтов (Trematoda – 64, Cestoda – 33, Nematoda – 46, Acanthocephala – 4). Обнаруженные 33 вида ленточных червей относятся к пяти семействам (Dilepididae – 1, Hymenolepididae – 27, Mesocoelocystidae – 1, Paruterinidae – 1, Diphyllbothriidae – 3), из них 11 видов встречаются у домашних гусей в Азербайджане. Шесть видов (*Diorchis inflata*, *Drepanidotaenia lanceolata*, *D. przewalskii*, *Fimbriaria fasciolaris*, *Tschertkovilepis setigera*, *Ligula intestinalis*) были отмечены в ходе наших гельминтологических исследований. На территории Азербайджана у домашних гусей впервые были обнаружены цестоды *D. inflata* и *L. intestinalis*. Пять видов гельминтов (*Dilepis undula*, *Drepanidotaenia lanceolata*, *Ligula interrupta*, *L. intestinalis*, *Schistocephalus solidus*) паразитируют как у птиц, так и у млекопитающих (*D. lanceolata* в том числе у человека). Два из них (*D. lanceolata*, *L. intestinalis*) зарегистрированы в Азербайджане.

Ключевые слова: цестоды, систематический список, паразиты домашнего гуся, показатели инвазии, географическое распространение.

Об авторах:

Ф.Г. Рзаев – Институт зоологии НАН Азербайджана, ул. А. Аббасзаде, 1128, пер. 504, Баку, Азербайджан, AZ1004; Азербайджанский медицинский университет, Насиминский район, ул. С. Вургун, 163, Баку, Азербайджан, AZ1078, fuad.zi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8128-1101>

А.М. Насиров – Институт зоологии НАН Азербайджана, ул. А. Аббасзаде, 1128, пер. 504, Баку, Азербайджан, AZ1004; nasirov.a50@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6991-0334>

Э.К. Гасимов – Азербайджанский медицинский университет, Насиминский район, ул. С. Вургун, 163, Баку, Азербайджан, AZ1078, geldar1949@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5104-4260>

Подано до редакції / Received: 15.04.2021

Прорецензовано / Revised: 30.04.2021

Прийнято до друку / Accepted: 15.05.2021

Cite this article: Vasylenko A.O., Vus N.O., Bezuhlyi I.N., Bezuhla O.N., Shevchenko L.N., Kucherenko Ye.Yu., Hliantsev A.V. Donors of valuable breeding traits of pea (*Pisum sativum* L.). The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology", 2021, 36, 74–82.

••• ФІЗИОЛОГІЯ РОСЛИН ••• PLANT PHYSIOLOGY •••

UDC: 635.656: 631.527: 575

Donors of valuable breeding traits of pea (*Pisum sativum* L.) A.O. Vasylenko, N.O. Vus, I.N. Bezuhlyi, O.N. Bezuhla, L.N. Shevchenko, Ye.Yu. Kucherenko, A.V. Hliantsev

Analysis of the existing basic collections and identification of the core collections with clearly defined properties are important stages of the plant genetic banks activities. The NCPGRU pea collection has not been studied through this lens. The article presents results of the study of pea (*Pisum sativum* L. subsp. *sativum*) accessions as donors of valuable breeding traits for its multipurpose use in agriculture and processing industries. We examined 307 accessions representing the breeding material from the working pea collection of the Laboratory of Grain Legume Breeding of the Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev and the collection accessions of various eco-geographical origins of the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine (NCPGRU). Eleven donors were selected by one or more important agronomic traits in combination with valuable economic characteristics (yield, performance, protein content in seeds, disease resistance (Fusarium wilt and Ascochyta blight)). The cultivars Modus, Efektnyi (multi-flowering (*fn fn*)), leafless (tendrill) (*af*), Tsarevych (seed shedding resistance (*def*)), leafless (*af*), and SL DTR 94-120 (multi-flowering (*fn fn*)), luhansk type of determinancy (*d*)) were chosen as donors for the grain pea breeding. Orpella (anthocyanin pigmentation of the corolla (*A*)) and Rezonator (stem length (*Le*)) were used for the grain/fodder pea breeding; Kharkivskiy Yantarnyi and Banan (seed culinary qualities) – for the groats pea breeding; Stambovyi (parchmentless pods (*pv*)), fascicle stems (*fa fas*) and Asgrow seed (wrinkled seeds (*r*)), leafless (*af*), multi-flowering (*fn fn*)) – for the garden pea breeding; Violena (the *rb* gene carrier – amylose-free starch) – for the technical pea breeding. All the accessions proved their donor capacities. A qualitatively new input material for practical selection has been derived by means of hybridization with some cultivars (Kharkivskiy Yantarnyi, Banan, Tsarevych, Violena, Asgrow seed). Further study of the NCHRRU pea collection aimed at identification of valuable accessions and creation a core collection is essential.

Key words: pea, collection, donors, genetic trait control, breeding, breeding value.

About the authors:

A.A. Vasylenko – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, avase2015@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0081-5894>
 N.O. Vus – V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022; LLC "Nertus Agro", Netchenskaya Str., 25, Kharkov, Ukraine, 61010, vus.nadezhda@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7098-9158>
 I.M. Bezuglyi – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, bigora3@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3578-2092>
 O.M. Bezugla – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, olgabezuglaya61@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1458-1630>
 L.M. Shevchenko – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, lara.xiaomi2016@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1410-9456>
 E.Yu. Kucherenko – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, Egorkucherenko91@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9313-7385>
 A.V. Glyantsev – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, avglyancev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5848-4533>

Introduction

Pea is one of the most important legume crops. In terms of world production, it ranks second after the bean (FAOSTAT, 2021). Being the basic object of genetic research since G. Mendel and Ch. Darwin, it has not lost its importance in genetics and breeding yet. Ukraine is among the top 10 pea producing countries; the collection of the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine (NCPGRU) is among the 10 largest world collections.

Since the beginning of the 21st century, the scientific and international community attitude to genetic resources has changed fundamentally (Zhuchenko Jr., 2014). The modern breeding process

requires extended studies and analyses of the plant pool available, in particular, its genetic characteristics. Attention to genetic resources has rose due to the narrowing genetic base of the breeding cultivars and reduction in their genetic variability (heterogeneity, heterozygosity), which increase epiphytotic risk.

The objectives and prospects of breeding and seed production cannot be achieved without mobilizing the world's plant resources. Here, national breeding centers have the real advantages, as they possess unique genetic donors for the most important species that are resistant to the most harmful abiotic and biotic stressors and have a high nutritional value (Zhuchenko, 2012). Thus, in Belarus, new cultivars and hybrids based on collections of genetic resources were introduced in agriculture and forestry with an economic effect of \$ 116.9 million and \$ 5.7 million, respectively (Privalov et al., 2016).

M.A. Vishnyakova demonstrated the possibilities and necessity of more efficient use of the legumes' gene pool in new directions of breeding: symbiotic, ecological, ecotypic, phytocenotic, and bioenergetic (Vishnyakova, 2012). The pea collection of the All-Russian Research Institute of Plant Industry comprises 8,057 accessions (as at 01/01/2014); of these, the 685 are from the Mediterranean pool (center of the crop origin). Commercial cultivars and landraces account for 46.0 % and 38.0 %, respectively, while wild forms and accessions with unknown status comprise 1.5 % and 13.0 %. A long-term analysis allowed identifying individual accessions that are sources of alleles determining valuable traits (Vishnyakova et al., 2016). Having studied retrotransposons in 3,020 accessions of the pea collection of the John Innes Center (Great Britain), which is one of the most diverse and representative collections of the world gene pool of the genus *Pisum* L., the researchers found that the greatest genetic diversity is represented not by breeding cultivars, but by their wild congeners. At the same time, "wild" alleles are rarely present in cultivars, and the genome of pea cultivars is rather poor. As a result, the knowledge about the pea gene pool has been expanded, which contributes to its more efficient application in the breeding practice (Jing et al., 2010).

The pea collection of Ukraine (NCPGRU) contains 2,683 specimens (as at 01/01/2018); 49 % of them are breeding cultivars created in Ukraine and/or other countries (Kobyzeva et al., 2018). The gene pool is evaluated in terms of a wide range of morphological and agronomic characteristics. The studied accessions are being used to form collections for different purposes. Unfortunately, the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine has no accessible genotypic and/or phenotypic database of available accessions (Smykal et al., 2012).

In India, where the chickpea is the legume crop number one, a similar work has already been done. In the Indian National Genebank (New Delhi), the available gene pool of the basic collection had been fully assessed; the especially valuable accessions were selected, which provided basis for a core collection. To increase selection efficiency, the basic chickpea collection (14,651 accessions) was evaluated by eight quantitative and 12 qualitative agronomic and morphological traits. The database is now publicly accessible (Singh et al., 2012; Archak et al., 2016).

A.A. Churakov and L.I. Valiulina emphasize that assessment of genetic resources in a particular region can increase selection efficiency. For example, in the Krasnoyarsk Krai, the growing period of pea plants (80–90 days) is a limiting trait when assessing the resource material. Therefore, the material involved in crossing has to combine this growing period and a set of economically useful traits (Churakov et al., 2021).

In China, the pea basic collection contains almost 5,000 specimens from 70 countries. To assess the accessions' genetic diversity, a core collection of 731 specimens from 67 countries was analyzed with the use of 21 SSR primers. This study showed the greatest genetic heterogeneity of the Asian accessions. The European accessions ranked the second place, while the accessions from the other countries were less heterogenic. It turned out that 48 accessions (6.57 % of the collection) cover 84.4 % of all allelic variations (Zong et al., 2008).

An investigation of genetic resource collections by modern methods of genome analysis can evaluate not only genetic diversity of the modern gene pool, but also evolutionary relationships and development paths of agricultural crops (Jing et al., 2010).

An amount of the studied collection material can be quite extensive while the number of accessions chosen for the further research can be very small. Nevertheless, this is the promising material that determines selection effectiveness. When assessing a garden pea collection, consisted of 277 specimens of different eco-geographical origins, I.M. Kaigorodova et al. (2013) chose only six accessions with several valuable agronomic traits. Based on the traits relevant for the crop breeding, O.V. Alikina and

A.G. Besedin (2016) selected only 25 out of 522 accessions from the garden pea collection of the All-Russian Research Institute of Plant Industry.

Given the available diversity of initial material, a chose of the most promising parents for crossing remains a challenging task of selection. Comprehensive studies of genetic resource collections are a way to solve this problem (Merezhko, 2005). At the same time, it is obvious that the current prevailing trends in the choice of parental pairs for crossing (the best commercial cultivars) inevitably lead to an increase in genetic vulnerability of closely related cultivars. Only few of numerous cultivars involved in hybridization are proved to be outstanding donors of economically valuable traits and corresponding blocks of co-adapted genes (resistance, performance, quality, etc.) (Zhuchenko Jr., 2014).

Based on the above, our **purpose** was to reveal and identify accessions with a pool of valuable economic characteristics that can be donors for one or more agronomic traits.

Study objects and methods

The research objects were 307 accessions (*Pisum sativum* L. subsp. Sativum) representing the pea breeding material from a working collection of the Laboratory of Grain Legume Breeding of the Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev as well as the collection accessions of different eco-geographical origin deposited in the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine (NCPGRU) and defined as a source of valuable traits. The field experiments were carried out in the scientific crop rotation of the Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev (Kharkiv, Ukraine) in 2016–2020 in accordance with the methods of field experimentation (Dospekhov, 1985).

The pea collection accessions were studied according to "Guidelines on studying genetic resources of grain legumes" (Kobyzeva et al., 2016). Morphological description of the accessions, their classification by economic and biological features, identification of the genes of the above-mentioned traits were performed by morphological and phenological methods specified in the Classifier of the genus *Pisum* (CMEA's international classifier..., 1990; Makasheva, 1979; Genetics of domestic plants..., 1990).

Carriers of the *r* and *rb* mutations were identified by the starch granule morphology and the amylose content in starch (Wang et al., 1998; Hedley et al., 1996). Starch granule morphology was analyzed in light microscopy (Large workshop on plant physiology, 1978) after 48-hour fixation of seeds in a mixture of 96 % ethanol, glycerin and water (in a ratio of 1 : 1 : 1) and 0.01 M sodium azide as a bacteriostatic preservative. After fixation, the seeds were grounded in a porcelain mortar. Granules were photographed with a DMC-FZ300 digital camera and microscopically analyzed in a Biolam-15 microscope with the lens $\times 40$.

Results and discussion

The NCPGRU's pea collection has no complete genetic database. A pea genetic collection formed in 2014 was the first step in resolving this problem (Bezuhla et al., 2014). Donor identification is the next important stage in the gene pool classification and systematization. The field and laboratory investigations conducted in the Laboratory of Grain Legume Breeding and the Laboratory of Genetic Resources of Grain Legumes and Groats Crops resulted in identification the donors of valuable agronomic traits.

The modern trend in the pea breeding is creating vegetable cultivars, which, in addition to high yields and protein content in seeds, have good culinary properties (cooked seed weight/dry seed weight ratio, cooking time, palatability). The cultivars Kharkivskiy Yantarnyi (UD0101296), UKR and Banan (UD0101543), UKR, have confirmed their donor capacities for the "seed culinary quality" trait. They have good cooking properties: seed cooking coefficient 2.26; cooking time 80–90 min. (rating "good"), excellent palatability (7+). Kharkivskiy Yantarnyi and Banan are leafy, mid-tall (the stem length is 105–110 cm and 80–110 cm, respectively), highly productive (their yields amount to 5.5 t/ha), high-protein (the protein content in seeds is 23–26 % and 24–28 %, respectively) cultivars. Kharkivskiy Yantarnyi has bright orange cotyledons. These cultivars have moderate resistance to *Fusarium* wild (5 points) and *Ascochyta* blight (7 points). When these cultivars were used as female components in regular crosses, the obtained hybrids got higher protein content in seeds (by 6–12 %) and better culinary quality than their parents (Bezuhlyi et al., 2018; Vasylenko et al., 2018).

In peas, like in many other legumes, flowers develop in racemes on the specialized lateral flower-bearing stems (I2), while the main stem (I1) grows indefinitely. Usually, the pea racemes have two flowers. In addition to fundamental interest, data on the regulation of inflorescence development and

formation of multi-flowered inflorescences are of particular practical value for the breeding of new high-performance pea cultivars (Sinjushin, Liberzon, 2016).

We distinguished the cultivars Modus (UD0101938) and Efektnyi (UD0102018) as donors of a "multi-flowering" trait controlled by the *fn fn* genes. Being leafless, these cultivars form three fully developed pods in the first and/or second productive node. Resistance to Fusarium wilt: Modus – 3 points, Efektnyi – 5 points; to Ascochyta blight: Modus and Efektnyi – 5 points each. The cultivars' potential capacity amounts to 6.0 t/ha; both of them are lodging resistant and suitable for direct combining.

The "leafless" trait is attributed to the *af* gene, which is phenotypically manifested as the formation of tendrils instead of normal leaves that increases lodging resistance. Leafless pea cultivars are considered to give some 10 % lower yields (Pesic et al., 2013). When lodging, yield losses in leafy pea cultivars reach 32–43 % compared to the tendril (leafless) cultivars (Bugrej, Avdeenko, 2012). Seed shedding is prevented by the *def* gene expression, causing hypertrophy of the seed pedicel tissue. After seed ripen, seed pedicels do not come off and remain attached to the central raphes of the beans (Makasheva, 1979; Genetics of domestic plants..., 1990; Ayeh et al., 2011). This mutation can slightly decrease the yield due to a lower seed number per pod. Nevertheless, in a zone with unstable precipitation, the losses caused by an overmature stand can be outstanding, and the cultivation of non-shedding pea cultivars is economically profitable (Zelenov, 2013). Seed non-shedding makes it possible to reduce losses during harvest by 10–20 % (Zubov, Katyuk, 2007). A combination of these features was discovered in Tsarevych (UD0102105) that gives the reason to recommend it as a donor of both "leafless" and "shedding resistance" traits. The cultivar yield amounts to 6.0 t/ha (Bezuhlyi et al., 2016); it is highly resistant to lodging (8–9 points), suitable for direct combining, shows weak resistance to Fusarium wilt (3 points) and high resistance to Ascochyta blight (7 points).

Determinant forms are of particular value in breeding, since their seeds ripen from lower to upper productive nodes processes more evenly than that in the indeterminate forms. On the other hand, they have a number of disadvantages: poor performance (only 3–4 pods on the main stem), late fruiting and a tendency to generate lateral shoots (Alikina, Besedin, 2016). The breeding line SL DTR 94-120 was distinguished as a donor of the "determinancy" and the "multi-flowering". The determinancy is caused by the *r* genes, manifested phenotypically as the presence of 1–2 productive nodes only; two carpophores emerge from the last node. A determinant type of the stem growth ensures shorter anthesis and a good yield due to the total apical meristem transformation into the apical inflorescence (Kotlyar et al., 2019). Such cultivars can be used for post-harvest crops in areas with sufficient precipitation or with irrigation. In the breeding line DTR 94-120, the reduced number of productive nodes, characteristic of determinant cultivars, is compensated by the "multi-flowering" *fn fn* gene that makes it possible to form a sufficient performance. The line is leafy; its performance is 7.2 g of seeds per plant; the stem length is 55–65 cm; the protein content in seeds is 21–23 %; the resistance is moderate, to Fusarium wild – 5 points, and to Ascochyta blight – 7 points.

The listed traits ("multi-flowering" (*fn fn*), "leafless" (*af*), "shedding resistance" (*def*), and "determinancy" (*r*)) are monogenic, recessive and clearly diagnosed by phenotype (Ellis et al., 2010) (Fig. 1). Therefore, when such donors are involved in both simple combination and backcrossing, the trait appearance in a hybrid confirms its monogenicity.



Fig. 1. An example of a complex pea hybridization scheme

Grain/fodder cultivars can be sown as a monocrop for commercial grain and as a mixed crop with cereals for green fodder, hay and silage. In the grain/fodder pea breeding, both anthocyanin-free cultivars and cultivars with anthocyanin pigmentation of the corolla (field pea) are used in crossing as initial forms (Kosterin, 2015). We chose the leafy cultivar Orpella (UD0100520), a carrier of the "anthocyanin pigmentation of the corolla" trait controlled by the *A* gene. This cultivar shows good performance (an average seed weight per plant is 10.4 g; an average number of beans per pod is 4.7); it is resistant to Fusarium wilt (5 points) and Ascochyta blight (5 points).

Grain/fodder cultivars are to have long stems and many leaves. The pea stem length (up to 150 cm) is controlled by the *Le* gene, which is responsible for the gibberellin synthesis. It also can stimulate internode growing in the pea plants (Martin et al., 1997). The cultivar Rezonator (UD0100668) is a donor of the "long stem" trait; it is a leafy cultivar with a maximum of seed performance of 5.0 t/ha and green mass productivity of 30.0–35.0 t/ha. In the phase of the bean complete filling, the percentage of green beans is 32–34 % of the total number of seeds; the protein content in seeds is 22–24 %; the resistance to Fusarium wilt and Ascochyta blight is 3 and 5 points, respectively.

The "anthocyanin pigmentation of the corolla" and the "stem length" traits are monogenic and dominant. Selection is conducted in F_2 hybrids with the trait control in subsequent generations.

Vegetable cultivars can be grouped into two categories with a purpose of green seed and green pod production. Green seeds are used as raw material for canning and processing industries. When breeding these cultivars, it is necessary to pay attention at the green seeds' yield, seed yield per plant, contents of dry matter and carbohydrates in seeds, seed color and size, etc. Mature seeds are wrinkled, which is a characteristic feature of these cultivars. This trait is controlled by the *r* gene (linkage group (LG) 7 (Genetics of domestic plants..., 1990)) responsible for the higher concentration of sucrose in developing corcules of pea plants that, in turn, increases water absorption, cell size, and fresh seed weight. During maturation, such seeds experience significant water loss, which makes the seed surface wrinkled. In addition to this morphological variation, the mutation also causes changes in the amount of lipids and storage proteins (legumins) (Bhattacharyya et al., 1993).

Since Asgrow seed (UD0101648, USA) is a donor of a bulk of important traits: "wrinkled seeds" (*r* gene) (Tymchuk et al., 2017), "leafless (tendrill)" (*af* gene), "multi-flowering" (*fnfna* gene), it was proposed for creating new vegetable (garden) cultivars. The protein content in dry seeds is 22.0–27.8 %; the starch content is 26.85 %; the sugar content in seeds in the phase of technical ripeness (green peas) is 3.92–5.32 %. The cultivar is highly resistant to Fusarium wilt (7 points) and Ascochyta blight (5 points).

Garden cultivars, used to obtain green pods in the "unripe, flat and long pod" phase, have very wide parchmentless pods. Two non-complementary recessive genes – *p* and *v*, determine a parchmentless or «sugar» pod; each of them reduces the parchment layer in great extent, and, acting together, they eliminate it completely. These genes determine thick shells of pea pods that makes the whole pod (with shell) edible (McGee, Baggett, 1992). Shtambovyi Sakharnyi (UD0101816, Russia) is a donor of the "parchmentless (sugar) pods" (*pv*) and "fascicle stems" (*fa fas*) traits. The fascicle stem is attributed to two independent genes, *fa* in LG 4 and *fas* in LG 3. This trait changes both the stem architecture and the physiology of plant blossoming and ripening. Its characteristic feature is a pod grouping at the top of the stem; consequently, the pea plants lodge and become vulnerable to drought during the short periods of their anthesis and pod formation (Gawłowska, Święcicki, 2016; Siniushin, Gostimskii, 2008). Shtambovyi Sakharnyi is highly resistant to Fusarium wilt (7 points) and Ascochyta blight (7 points).

In the modern processing industry, pea is considered a source of high-quality starch. Therefore, creation of cultivars with a high starch content in seeds and a high amylose/amylopectin ratio is another direction of breeding. Carriers of the *rb* mutation in pea (LG 3 (Genetics of domestic plants..., 1990)) are richer in the oil content in seeds than the carriers of smooth-seed and *r* mutation (Wang et al., 1990). An influence of the *rb* locus on the starch content in pea seeds is mediated by changes in the ADP-glucose pyrophosphorylase activity in developing corcules (Smith et al., 1989). The *RRrbrb* genotype is characterized by a higher content of amylopectin in the seed starch (Bhattacharyya et al., 1993). Phenotypically, the *RRrbrb* genotype manifests itself as wrinkled cotyledons and simple starch granules.

In the pea collection studied, we distinguished only one carrier of the *rb* gene, the cultivar Violena (UD010077). The amylose rate in seed starch of Violena is only 28.2 %, compared with 63.9 % of amylose in the carriers of the *r* gene (Asgrow seed). Analyzing crosses and light microscopy of the seed samples have also confirmed the presence of the *rb* gene (Tymchuk et al., 2017; Vasylenko et al., 2017).

In *Violena*, the starch content in seeds is 26.85 %; the protein content is 21–23 %. It has an average resistance to *Fusarium* wilt (3 points) and high resistance to *Ascochyta* blight (7 points).

Conclusions

Since the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine has no publicly accessible genotypic and phenotypic databases of available pea specimens, our work on identification of the donors of valuable agronomic traits can provide the beginning of a creation of pea core collection in the NCPGRU.

In practical terms, the use of presented donors with a set of economic performance in specialized breeding programs can increase their efficiency. Eleven donors were selected for various directions of pea breeding: *Modus* and *Efeknyi* (multi-flowering, leafless (tendrils)), *Tsarevych* (seed shedding resistant, leafless), *SL DTR 94-120* (multi-flowering, determinancy), *Orpella* (anthocyanin pigmentation of the corolla), *Rezonator* (stem length), *Kharkivskiy Yantarnyi* and *Banan* (culinary qualities of seeds), *Stambovyi* (parchmentless pods, fascicle stems), *Asgrow sead* (wrinkled seeds, leafless, multi-flowering), and *Violena* (amilose-free starch).

In the future, the need in more profound studies of genetic resources by both the classical methods and the molecular genetic technologies will be growing.

References

- Alikina O.V., Besedin A.G. (2016). Starting material to create garden pea cultivars in the Kuban. *Vegetable Crops of Russia*, 1(30), 14–17. (in Russian)
- Archak S., Tyagi R.K., Harer P.N. et al. (2016). Characterization of chickpea germplasm conserved in the Indian National Genebank and development of a core set using qualitative and quantitative trait data. *The Crop Journal*, 4, 417–424. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cj.2016.06.013>
- Ayeh K.O., Lee Y., Ambrose M.J. et al. (2011). Growth, seed development and genetic analysis in wild type and *Def* mutant of *Pisum sativum* L. *BMC Res*, 4, 489. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-489>
- Bezuhla O.M., Vasylenko A.O., Kobyzeva L.N., Bezuglyi I.M. (2014). Genetic collection of pea (*Pisum sativum* L.). *Selection and Seed Industry*, 105, 104–121. (in Ukrainian)
- Bezuhlyi I.M., Vasylenko A.O., Potiomkina L.M. et al. (2018). Palatability of pea cultivars bred by the Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev. *Bulletin of the Center for Science Provision of Agribusiness in the Kharkiv region*, 24, 136–144. (in Ukrainian)
- Bezuhlyi I.M., Vasylenko A.O., Hliantsev A.V., Shevchenko L.M. (2016). Innovations in pea breeding at the Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev. *Bulletin of the Center for Science Provision of Agribusiness in the Kharkiv region*, 20, 99–106. (in Ukrainian)
- Bhattacharyya M., Martin C., Smith A. (1993). The importance of starch biosynthesis in the wrinkled seed shape character of peas studied by Mendel. *Plant Mol Biol.*, 22(3), 525–531. <https://doi.org/10.1007/BF00015981>
- Bugrej I.V., Avdeenko A.P. (2012). Efficiency and the reasons of drowning of grades of peas with different morphotypes of sheet. *Modern Problems of Science and Education*, 1, 287. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=5608> (in Russian)
- Churakov A.A., Valiulina L.I. (2021). Genetic resources of garden pea – a source of efficient breeding at Krasnoyarsk Scientific and Research Institute of Agriculture. URL: http://www.kgau.ru/new/all/uni/01/konferenc/2_3.pdf (in Russian)
- CMEA's international classifier of the genus *Pisum* L. (1990). Leningrad. 51 p. (in Russian)
- Dospekhov B.A. (1985). *Methods of field experiment*. Moscow: Agropromizdat. 351 p. (in Russian)
- Ellis T.H.N., Hofer J.M.I., Timmerman-Vaughan G.M. et al. (2010). Mendel, 150 years on. *Trends Plant Sci.*, 16, 590–596. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.06.006>
- FAOSTAT. (2021). URL: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Gawłowska M., Świącicki W. (2016). The *fa2* gene and molecular markers mapping in the *gp* segment of the *Pisum* linkage group V. *Journal of Applied Genetics*, 57(3), 317–322. <https://doi.org/10.1007/s13353-015-0335-0>
- Genetics of domestic plants: grain legumes, vegetables, gourds. (1990). Leningrad: Agropromizdat. 287 p. (in Russian)

- Hedley C.L., Bogracheva T.Ya., Lloyd J.R., Wang T.L. (1996). Manipulation of starch composition and quality in pea seeds. *Agri-food quality: an intrerdisciplinary approach*. Eds. G.R. Fenwick, C.L. Hedley, R.C. Richards, S. Khorakar. Cambridge: RoyalSoc. Chem. P. 138–148.
- Jing R., Vershinin A., Grzebyta J. et al. (2010). The genetic diversity and evolution of field pea (*Pisum*) studied by high throughput retrotransposon based insertion polymorphism (RBIP) marker analysis. *BMC Evol. Biol.*, 10, 44. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-44>
- Kaigorodova I.M., Pronina E.P., Pishnaya O.N. (2013). Study of perspective models of pea as genetic sources in breeding for quality and productivity. *Vegetable Crops of Russia*, 1, 30–34. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2013-1-30-34> (in Russian)
- Kobyzeva L.N., Bezugla O.M., Silenko S.I. et al. (2016). Guidelines on studying genetic resources of grain legumes. Kharkiv: Publishing House "Stil". 84 p. (in Ukrainian)
- Kobyzeva L.N., Bezuhla O.M., Biriukova O.V. (2018). History and present of the Laboratory of Genetic Resources of Grain Legumes and Groats Crops and the NCPGRU's research results. *Theoretical Studies and Practical Achievements of the Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of NAAS: history and present (1908–2018)*. Kharkiv. P. 54–71. (in Ukrainian)
- Kosterin O.E. (2015). Prospects of the use of wild relatives for pea (*Pisum sativum* L.) breeding. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 19(2), 154–164. (in Russian)
- Kotlyar I.P., Ushakov V.A., Pronina E.P., Kaygorodova I.M. (2019). Nature of the inheritance of number of fertile nodes in determinant forms of vegetable pea. *Rossiiskaia selskokhoziaivennaia nauka*, 6, 11–14. <https://doi.org/10.31857/S2500-26272019611-14> (in Russian)
- Large workshop on plant physiology. Mineral nutrition. Physiology of the cell. Growth and development. (1978). Ed. B.A. Rubin. Moscow: Vysshaya Shkola. 408 p. (in Russian)
- Makasheva R.Kh. (1979). *Pea. Grain legumes*. Leningrad: «Kolos». IV(1). 322 p. (in Russian)
- Martin D.N., Proebsting W.M., Hedden P. (1997). Mendel's dwarfing gene: cDNAs from the *Le* alleles and function of the expressed proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94(16), 8907–8911. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.16.8907>.
- McGee R.J., Baggett J.R. (1992). Inheritance of stringless pod in *Pisum sativum* L. *Journal of the American Society for Horticultural Science (USA)*, 117(4), 628–632.
- Merezhko A.F. (2005). Principles of search for and creation of donors of valuable traits in plant breeding. *Identified Gene Pool of Plants and Breeding*. St Petersburg. P. 189–205. (in Russian)
- Pesic V., Djordjevic R., Kadhum E. et al. (2013). Influence of the *afila* gene on grain yield in pea (*Pisum sativum* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19(2), 186–193.
- Privalov F., Kilchevskiy A., Grib S. et al. (2016). Bank of plant genetic resources. *Science and Innovations*, 10(164), 24–27. (in Russian)
- Singh M., Bhardwaj C., Singh S. et al. (2016). Chickpea genetic resources and its utilization in India: Current status and future prospects. *Indian J. Genet.*, 76(4), 515–529. <https://doi.org/10.5958/0975-6906.2016.00070.5>
- Siniushin A.A., Gostimskii S.A. (2008). Genetic control of fasciation in pea (*Pisum sativum* L.). *Genetika*, 44(6), 807–814.
- Sinjushin A., Liberzon A. (2016). Contribution to genetic control of flower number in pea (*Pisum sativum* L.) *Ratarstvo i povrtarstvo*, 53(3), 116–119. <https://doi.org/10.5937/ratpov53-11949>.
- Smith A.M., Bettley M., Bedford I.D. (1989). Evidence that the *rb* locus alters the starch content of developing pea embryos through an effect on ADP glucose pyrophosphorylase. *Plantphysiology*, 89(4), 1279–1284. <https://doi.org/10.1104/pp.89.4.1279>
- Smykal P., Aubert G., Burstin J. et al. (2012). Pea (*Pisum sativum* L.) in the genomic era. *Agronomy*, 2, 74–115. <https://doi.org/10.3390/agronomy2020074>
- Tymchuk S.M., Vasylenko A.O., Pozdnyukov V.V. et al. (2017). Evaluation of garden pea (*Pisum sativum* L.) collection accessions for carriers of the *r* and *rb* mutations. *The Bulletin of Ukrainian Society of Geneticists and Breeders*, 15(1), 14–19. (in Russian)
- Vasylenko A.O., Bezuhlyi I.M., Shevchenko L.M. et al. (2018). Creation of pea breeding material with improved quality of seeds. *Selection and Seed Industry*, 114, 18–25. (in Ukrainian)
- Vasylenko A.O., Tymchuk S.M., Suprun O.G. et al. (2017). Content and fatty acid composition of oil in seeds of pea mutants with modified starch. *Legumes and Groat Crops*, 3(23), 33–39. (in Russian)
- Vishniykova M.A. (2012). Prospects of using genetic resources of grain legumes in the modern system of agricultural nature management. *Legumes and Groat Crops*, 3, 25–29. (in Russian)

- Vishnyakova M.A., Aleksandrova T.G., Bulynstev C.V. et al. (2016). The genetic resources of grain legumes from the Mediterranean region in the collection of the All-Union Research Institute of Plant Breeding: diversity and use. *Agricultural Biology*, 51(1), 31–45. (in Russian)
- Wang T.L., Bogracheva T.Y., Hedley C.L. (1998). Starch: as simple as A, B, C? *J. Exp. Bot.*, 49, 481–502.
- Wang T.L., Hadavizideh A., Harwood A. et al. (1990). An analysis of seed development in *Pisum sativum*. XIII. The chemical induction of storage product mutants. *Plant Breeding*, 105, 311–320. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1990.tb01290.x>
- Zelenov A.N. (2013). On the non-shedding trait in pea. *Legumes and Groat Crops*, 2(6), 79–85. (in Russian)
- Zhuchenko A.A. Jr. (2014). Ecological and genetic principles of mobilization of the world genetic resources of higher plants. *Education, Science and Production*, 2, 9–17. (in Russian)
- Zhuchenko A.A. (2012). The present and future of the adaptive system of plant breeding and seed production based on the identification and systematization of their genetic resources. *Agricultural Biology*, 5, 3–19. (in Russian)
- Zong X.-X., Guan J.-P., Wang Sh.-M. et al. (2008). Genetic diversity and core collection of alien *Pisum sativum* L. germplasm. *Acta Agronomica Sinica*, 34(9), 1518–1528. [https://doi.org/10.1016/S1875-2780\(09\)60003-1](https://doi.org/10.1016/S1875-2780(09)60003-1)
- Zubov A.Ye., Katyuk A.I. (2007). Breeding of high-yielding, top-quality and easily producible pea cultivars. *Achievements of Science and Technology of AIC*, 8. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/selektsiya-urozhaynyh-vysokokachestvennyh-i-tehnologichnyh-sortov-goroha> (in Russian)

Донори цінних селекційних ознак гороху посівного (*Pisum sativum* L.)

А.О. Василенко, Н.О. Вус, І.М. Безуглий, О.М. Безугла, Л.М. Шевченко,
Є.Ю. Кучеренко, А.В. Глянцев

Важливий етап роботи генетичних банків рослин – аналіз існуючої базової колекції і виділення серцевинних колекцій з чітко визначеними властивостями. Для колекції гороху НЦГРРУ така робота раніше не проводилася. У статті представлені результати роботи з ідентифікації донорів цінних селекційних ознак гороху посівного (*Pisum sativum* L. subsp. *sativum*), з урахуванням багатопільового використання культури у сільському господарстві і переробній промисловості. Об'єктами вивчення були 307 зразків з робочої колекції селекційного матеріалу гороху, який був створений у лабораторії селекції зернобобових культур Інституту рослинництва імені В.Я. Юр'єва, і колекції Національного центру генетичних ресурсів рослин України (НЦГРРУ) різного еколого-географічного походження. Виділено 11 зразків донорів за однією чи декількома важливими агрономічними ознаками з комплексом цінних господарських характеристик (урожайність, продуктивність, вміст білка у насінні, стійкість до хвороб (фузаріоз та аскохітоз)). В якості донорів для використання за напрямками селекції виділено: для зернового напрямку використання – сорти Модус, Ефектний (багатоквітковість (*fn fna*), вусатий тип листа (*af*)), Царевич (стійкість до осипання насіння (*def*), вусатий тип листа (*af*)), СЛ ДТР 94-120 (багатоквітковість (*fn fna*), луганський тип детермінантності (*dtr*)); для зерноукісного напрямку використання – Орпелла (антоціанове забарвлення вінчика (*A*)), Резонатор (довжина стебла (*Le*)); для харчового напрямку використання – Харківський янтарний, Банан (кулінарна якість насіння); для овочового напрямку використання – Штамбовий (безпергаментний тип боба (*pv*), фасційований тип стебла (*fa fas*), Asgrow seed (зморшкуватий тип насіння (*r*), вусатий тип листа (*af*), багатоквітковість (*fn fna*)); для технічного напрямку використання – Віолена (носії гену *rb* – амілопектиновий тип крохмалю). Всі зразки підтвердили донорські властивості. Шляхом гібридизації з використанням деяких сортів (Харківський янтарний, Банан, Царевич, Віолена, Asgrow seed) отримано якісно новий вихідний матеріал для практичної селекційної роботи. Зроблено висновки про необхідність подальшого вивчення колекції гороху НЦГРРУ з метою ідентифікації цінних зразків та створення серцевинної колекції.

Ключові слова: горох, колекція, донори, генетичний контроль ознаки, селекція, селекційна цінність.

Про авторів:

А.О. Василенко – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, avase2015@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0081-5894>

Н.О. Вус – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022; ТОВ «Нертус Агро», вул. Нетеченська, 25, Харків, Україна, 61010, vus.nadezhda@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7098-9158>

І.М. Безуглий – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, bigora3@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3578-2092>

О.М. Безугла – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, olgabezuglaya61@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1458-1630>

Л.М. Шевченко – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, lara.xiaomi2016@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1410-9456>

Є.Ю. Кучеренко – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, Egorkucherenko91@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9313-7385>

А.В. Глянцев – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, avglyancev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5848-4533>

Доноры ценных селекционных признаков гороха посевного (*Pisum sativum* L.)
А.А. Василенко, Н.А. Вус, И.Н. Безуглый, О.Н. Безуглая, Л.Н. Шевченко, Е.Ю. Кучеренко,
А.В. Глянцев

Важный этап работы генетических банков растений – анализ существующей базовой коллекции и выделение сердцевинных коллекций с четко определенными свойствами. Для коллекции гороха НЦГРРУ такая работа ранее не проводилась. В статье представлены результаты работы по идентификации доноров ценных селекционных признаков гороха посевного (*Pisum sativum* L. subsp. *sativum*) с учетом многоцелевого использования культуры в сельском хозяйстве и перерабатывающей промышленности. За годы исследования было изучено 307 образцов (*Pisum sativum* L. subsp. *sativum*), представляющих селекционный материал из рабочей коллекции гороха, созданной в лаборатории селекции зернобобовых культур Института растениеводства имени В.Я. Юр'єва, и коллекцию Национального центра генетических ресурсов растений Украины (НЦГРРУ) различного эколого-географического происхождения. Выделено 11 образцов доноров по одному или нескольким важным агрономическими признакам с комплексом ценных хозяйственных характеристик (урожайность, продуктивность, содержание белка в семенах, устойчивость к болезням (фузариоз и аскохитоз)). В качестве доноров для использования по направлениям селекции выделены: для зернового направления использования – сорта Модус, Эффектный (многоцветковость (*fn fn*), усатый тип листа (*af*)), Царевич (устойчивость к осыпанию семян (*def*), усатый тип листа (*af*)) и СЛ ДТР 94-120 (многоцветковость (*fn fn*), луганский тип детерминантности (*dtr*)); для зерноукосного направления использования – Орпелла (антоциановая окраска венчика (*A*)), Резонатор (длина стебля (*Le*)); для пищевого направления использования – Харьковский янтарный, Банан (кулинарное качество семян); для овощного направления использования – Штамбовый (беспергаментный тип боба (*pv*), фасцированный тип стебля (*fa fas*)), Aсgrow sead (морщинистый тип семян (*r*), усатый тип листа (*af*), многоцветковость (*fn fn*)); для технического направления использования – Виолена (носитель гена *rb* – амилопектиновый тип крахмала). Путем гибридизации с использованием некоторых сортов (Харьковский янтарный, Банан, Царевич, Виолена, Aсgrow seed) получен качественно новый исходный материал для практической селекционной работы. Сделаны выводы о необходимости дальнейшего изучения коллекции гороха НЦГРРУ с целью идентификации ценных образцов и создания сердцевинной коллекции.

Ключевые слова: горох, коллекция, доноры, генетический контроль признака, селекция, селекционная ценность.

Об авторах:

А.А. Василенко – Інститут растениеводства имени В.Я. Юр'єва НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, avase2015@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0081-5894>

Н.А. Вус – Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022; ТОВ «Нертус Агро», ул. Нетеченская, 25, Харьков, Украина, 61010, vus.nadezhda@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7098-9158>

И.Н. Безуглый – Інститут растениеводства имени В.Я. Юр'єва НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, bigora3@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3578-2092>

О.Н. Безуглая – Інститут растениеводства имени В.Я. Юр'єва НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, olgabezuglaya61@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1458-1630>

Л.Н. Шевченко – Інститут растениеводства имени В.Я. Юр'єва НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, lara.xiaomi2016@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1410-9456>

Е.Ю. Кучеренко – Інститут растениеводства имени В.Я. Юр'єва НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, Egorkucherenko91@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9313-7385>

А.В. Глянцев – Інститут растениеводства имени В.Я. Юр'єва НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, avglyancev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5848-4533>

Подано до редакції / Received: 22.03.2021

Прорецензовано / Revised: 07.04.2021

Прийнято до друку / Accepted: 11.05.2021

Cite this article: Gorlachova O.V., Gorbachova S.N., Yegorov D.K., Ansyferova O.V., Prodanyk A.M., Samborska O.V. Drought and smut resistance of millet (*Panicum miliaceum* L.) seedlings. The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology", 2021, 36, 83–93.

УДК: 633.171:631.527:581.19:632.9

Стійкість проростків проса (*Panicum miliaceum* L.) до посухи та сажки О.В. Горлачова, С.Н. Горбачова, Д.К. Єгоров, О.В. Анциферова, А.М. Проданик, О.В. Самборська

Метою досліджень було вивчити вплив посухи на схожість насіння і морфологічні параметри проростків проса (*Panicum miliaceum* L.) та виділити генотипи проса, що мають нормальний ризо- та органогенез в умовах посухи, у посушливих умовах. Оскільки нестача вологи у ґрунті послаблює імунітет рослини в фазі проростання і провокує розвиток хвороб, особливо сажки (*Sorosporium destruens* (Schlecht) Yanki), необхідно визначити генотипи, які не втрачають стійкості до вірулентних рас сажки. Вивчено стійкість 28 генотипів проса до ідентифікованих в Україні 13 рас сажки. Для моделювання ґрунтової посухи в період проростання проса використовували осмотик ПЕГ 6000 у концентрації 23 %. Оцінку схожості насіння та параметрів проростків проводили на 6-ту добу. Ступінь стійкості сортів проса до стресового фактора оцінювали за відношенням довжина кореня/довжина пагона (ДК/ДП). При нестачі вологи схожість насіння проса знижується до 50,12 %. Більші зміни відбуваються у пагонах, ніж у коренів (довжина пагона знижується на 77,3 %, кореня – на 37,7 %). При сприятливих погодних умовах спостерігали рівномірний ризо- та органогенез у проростків (ДК/ДП дорівнює 0,75±0,02). При дії посухи значення ДК/ДП дорівнює 2,19±0,03. Досліджені зразки, в основному, стійкі до рас *Rs 1*, *Rs 5–Rs 7*, *Rs 9–Rs 11*, і лише у 10 % досліджених сортозразків спостерігали високу стійкість (9–8 балів) до *Rs 2*, *Rs 8*, *Rs 12*, *Rs 13* рас сажки. До *Rs 3* раси сажки не було встановлено стійкого генотипу проса. Отже, найбільш цінним генетичним матеріалом у доборі на посухостійкість слід вважати зразки, у яких значення ДК/ДП наближається до одиниці. Це сорти Заповітне (ДК/ДП – 1,77), Золушка (1,54), Олітан (1,4), Скадо (1,79), Данило (1,79). Сорти Олітан і Данило показали високу стійкість до *Rs 1*, *Rs 4*, *Rs 7*, *Rs 9–Rs 11* рас сажки; сорти Новокиївське 01 (ДК/ДП – 2,17) і Константинівське (ДК/ДП – 2,22) мали високу стійкість до *Rs 1*, *Rs 4–Rs 7*, *Rs 9–Rs 12*, сорт Біла Альтанка (ДК/ДП – 2,68) не уражувався найбільш вірулентними расами *Rs 2*, *Rs 8* та *Rs 13*. Ці генотипи проса ми рекомендуємо залучати в селекційні програми за посухостійкістю та стійкістю до сажки.

Ключові слова: просо, посухостійкість, ПЕГ 6000, схожість, довжина пагона, довжина кореня, сажка.

Про авторів:

О.В. Горлачова – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський проспект, 142, Харків, Україна, 61060, dr_forester@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1234-8368>

С.Н. Горбачова – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський проспект, 142, Харків, Україна, 61060, gorbachovasvetlana1960@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7835-822x>

Д.К. Єгоров – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський проспект, 142, Харків, Україна, 61060, yuriev1908rye@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0218-3827>

О.В. Анциферова – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський проспект, 142, Харків, Україна, antsyferova.olya@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1466-1294>

А.М. Проданик – НСЦ Інститут землеробства НААН України, вул. Машинобудівників, 2Б, Чабани, Україна, 08163, prodanyk.a@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1712-5064>

О.В. Самборська – НСЦ Інститут землеробства НААН України, вул. Машинобудівників, 2Б, Чабани, Україна, 08163, elenasamborskay@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9345-2433>

Вступ

Просо (*Panicum miliaceum* L.), через високий рівень пристосування до різних кліматичних умов та короткий вегетаційний період (85–110 днів), вирощують в багатьох країнах світу (на півночі Китаю, Монголії, Кореї, Росії, Афганістані, Пакистані, Індії, Америки, на півдні Європи та в Україні) (Wang et al., 2016). Останні дослідження біохімічного складу зерна проса свідчать, що загальний вміст крохмалю в зерні становить близько 70 % та характеризується низьким глікемічним індексом (GI) та вмістом стійкого крохмалю (RS) – від 2,8 до 3,2 % (McSweeney et al., 2017; Mikulíková et al., 2005). Загальний вміст білка в зерні проса складає від 11 до 19 %, але його амінокислотний склад більш цінний у порівнянні з білком пшениці (Kalinova, Moudry, 2006; Vetriventhan, Uradhuaya, 2018). Дослідження свідчать про високий вміст Glu, Leu та Ala-амінокислот у зерні. До загального вмісту жиру проса входять ліноленова та олеїнова жирні кислоти. Зерно проса має високий рівень антиоксидантної та антипроліферативної дії (Shen et al., 2018). Різні генотипи проса показують

широкий спектр вмісту таких елементів, як Fe – 41–73 мг/кг, Zn – 26–47 мг/кг, Ca – 91–241 мг/кг (Vettriventhan, Upadhyaya, 2018). Таким чином, просо є цінною харчовою культурою та має антиоксидантні, протидіабетичні, протиракові властивості.

В Україні, зі зміною клімату від помірного до різкоконтинентального, ключовим стресовим фактором впливу на рослини проса є нестача вологи в ґрунті, тобто ґрунтова посуха. При несприятливих умовах (ґрунтова та повітряна посуха) сходи з'являються на 15–20 добу після сівби. Польова схожість насіння проса може знижуватися до 25 %. Якщо нестача вологи в ґрунті зберігається і після фази сходів, то рослини не сформують вторинні корені, відбувається засихання нижніх листків, уповільнюється розвиток вегетативної маси та генеративних органів. Це призводить до зниження основних компонентів продуктивності та якості зерна (Яшовский, 1987; Tadele, 2016; Govindaraj et al., 2010). Нестача вологи в ґрунті призводить до сповільнення переміщення мінеральних речовин з ґрунту до рослини, і дуже уповільнюється процес фотосинтезу рослин, спостерігається сильне зменшення вмісту хлорофілів *chl a* та *chl b* в листках (Keshavars et al., 2012).

Реакція на стресові фактори (посуха та зниження температури) є сортоспецифічною ознакою, яка змінює фізіологічні функції рослин (Яшовский, 1987; Blum, 2005; Seghatoleslami et al., 2008; Govindaraj et al., 2010; Demuyakor et al., 2013). Використання стійких до стресових умов зразків дає можливість селекціонеру створювати сорти, більш стійкі до посушливих умов. Для масового первинного добору в селекції проса на адаптивність до посухи важливу роль відіграє лабораторна оцінка сортозразків на посухостійкість (Mitra, 2001).

Під час впливу стресового фактору на рослину в період сходів патогени досить легко проникають в ослаблений організм, що призводить до повного його знищення. Зараження рослин сажкою (*Sorosporium destruens* (Schlecht) Yanki) відбувається при проростанні насіння навесні протягом усього досходового періоду. Це найбільш розповсюджена і шкодочинна хвороба проса, яка значно впливає на рівень врожайності та якості продукції в Україні (Яшовский, 1987). Ураження посівів в окремих областях може досягати 15–20 % (Волкодав, 1990). Коли теліоспори проростають, то вони проникають у паростки молоді рослини біля кореневого вузла, де швидко досягають точки росту рослини і продовжують рости разом із нею. Найбільш сприятливими умовами для розвитку та розповсюдження сажки проса є дефіцит тепла і вологи, особливо в першій половині вегетації рослин (Sikora, Schonbeck, 1975). На сьогодні в Україні ідентифіковано 13 рас сажки, найбільш вірулентними є 2, 3 і 12 раси (Проданик та ін., 2015; Kaminskyi et al., 2020).

Таким чином, наведені літературні дані свідчать, що нестача вологи є одним з критичних чинників довкілля, які визначають здатність проса формувати повноцінний проросток, що може бути вирішальним для продуктивності та якості врожаю. На тлі цього чинника істотним негативним фактором для росту, розвитку і продуктивності проса є враження сажкою. У зв'язку з цим необхідне подальше поглиблене вивчення стійкості вихідного матеріалу до цих чинників довкілля з метою створення нових сортів проса.

Метою наших досліджень є встановлення впливу стресового фактору (посуха) на ріст та розвиток рослин проса на ранніх етапах онтогенезу та визначення рівня стійкості сучасного селекційного матеріалу до найбільш шкодочинного біотичного фактору – сажки; виділення генотипів проса, що мають нормальний ризо- та органогенез в умовах посухи, а також виявляють високу стійкість до поширених найбільш вірулентних рас сажки, що стануть цінним вихідним матеріалом для селекції проса на адаптивність і стійкість до біотичних та абіотичних факторів в умовах України.

Матеріали і методи

Вивчення впливу посухи на схожість насіння проса, ріст та розвиток пагона та кореня проводили в лабораторних умовах Інституту рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН у 2019–2020 рр. Як експериментальний матеріал використовували насіння 28 сортозразків проса (60 % сортів з Реєстру сортів України), одного року урожаю та однієї репродукції зі схожістю 98–100 %. Для моделювання ґрунтової посухи та отримання найбільшої диференціації генотипів за посухостійкістю в період проростання проса використовували оптимальну концентрацію осмотика ПЕГ 6000 – 23 % (Gorlachova et al., 2020). Насіння проса в кількості 50 шт. пророщували в чашках Петрі в триразовій повторності. В кожену чашку Петрі наливали по 7 мл осмотика ПЕГ 6000 або дистильованої води (для контролю). Насіння пророщували в термостаті при температурі 25°C в умовах відсутності світла. Схожим вважали насіння, яке мало нормально розвинутий корінець або

пагін не менше 5 мм. Кількість схожого насіння та морфометричні аналізи всіх проростків проса проводили на 6 добу (Чернышева, 1987).

З метою вивчення расоспецифічної стійкості 28 генотипів до 13 рас сажки вченими Інституту землеробства НААН у 2019–2020 році було висіяно насіння цих зразків у спеціальному фітоімунологічному розсаднику. З кожного селекційного зразка брали по 100 насінин у дворазовій повторності і обробляли споровим матеріалом відповідних рас сажки у кількості 0,3–0,7 % від маси насіння. Зразки висівали з обліковою площею ділянки 0,7 м². Підрахунок кількості уражених рослин на кожній ділянці проводили в період досягання волоті, коли замість волоті з'являються соруси сажки. Ступінь стійкості до різних рас сажки визначали шляхом визначення відношення кількості уражених рослин до кількості всіх рослин на ділянці, у відсотках (Проданик та ін., 2015). Згідно з міжнародною класифікацією, сортозразки розподіляли за ступенем стійкості до сажки за 9-бальною шкалою (Кириченко, Петренкова, 2012):

- 1 бал – уражено рослин сажкою більше 76–100 %;
- 2 бали – уражено рослин від 68 до 75 %;
- 3 бали – уражено рослин від 51 до 67 %;
- 4 бали – уражено рослин від 39 до 50 %;
- 5 балів – уражено рослин від 26 до 38 %;
- 6 балів – уражено рослин від 19 до 25 %;
- 7 балів – уражено рослин від 11 до 18 %;
- 8 балів – уражено рослин до 10 %;
- 9 балів – не має уражених рослин, 0 %.

Статистичний аналіз проведено за допомогою програмного забезпечення "Statistica 13 Trail". Використовували дисперсійний аналіз ANOVA. Обчислювали найменш суттєву різницю на рівні $p < 0,05$.

Результати досліджень

За результатами досліджень, незважаючи на те, що просо є посухостійкою культурою (Яшовский, 1987; Tadele, 2016), в умовах високого осмотичного тиску (модель дефіциту вологи в ґрунті) відбувалось пригнічення проростання насіння проса та подальшого росту та розвитку рослин (табл. 1). При концентрації розчину ПЕГ 6000 23 % середня схожість у всіх генотипів зменшувалась на 50,12±1,53 %. Варіювання схожості насіння зразків проса спостерігалось від 16,3±4,23 % до 63,1±13,64 %. Найбільш істотною здатністю проростати в посушливих умовах характеризувалися зразки Долинське (59,2±7,51 %), Сонечко Слобідське (60,7±4,73 %), Заповітне (56,0±4,91 %), Золушка (54,6±8,81 %), Олітан (56,9±4,70 %), Новокиївське 01 (54,4±0,64 %), Скадо (61,4±2,62 %), Данило (60,0±5,15 %), Біла Альтанка (55,4±10,11 %), Константинівське (63,1±13,64 %). Практично 38,0 % генотипів, що вивчалися, мали підвищений рівень стійкості до посухи.

Посушливі умови більш негативно впливали на ріст та розвиток надземної маси, ніж на довжину корінця рослин (табл. 1). У середньому, пригнічення росту довжини пагона відбувалось на 77,3 %, а кореня – на 37,7 %. При концентрації розчину ПЕГ 23,0 % довжина проростка коливалась від 6,91±1,31 до 21,7±1,46 мм. Сорти Жодинське (19,3±1,64 мм), Сож (16,6±1,23 мм), Аскольдо (17,8±1,57 мм), Заповітне (18,0±1,47 мм), Орех (17,3±1,35 мм), Полто (16,4±1,38 мм), Л.80-67 (19,5±2,34 мм), Золушка (18,7±1,30 мм), Олітан (21,7±1,46 мм), Данило (20,3±1,49 мм), Свіцязанське (19,2±1,56 мм) характеризувалися значним перевищенням довжини пагонів, ніж інші зразки в стресових умовах. Довжина кореня в умовах нестачі вологи в ґрунті (високий осмотичний тиск розчину ПЕГ 6000) була в межах 22,5±3,34 – 42,4±2,67 мм. У цих дослідженнях вдалося виділити зразки, які значно перевищували за довжиною кореня інші генотипи проса: Жодинське (42,4±2,67 мм), Слобожанське (36,3±2,35 мм), Аскольдо (33,7±2,74 мм), Заповітне (32,0±1,82 мм), Золотисте (35,0±2,28 мм), Орех (33,7±2,34 мм), Полто (36,2±2,34 мм), Незалежне (40,2±3,34 мм), Новокиївське 01 (32,2±2,24 мм), Скадо (32,8±1,73 мм), Данило (36,5±2,06 мм), Біла Альтанка (33,2±2,54 мм), Омріяне (40,4±2,92 мм), Константинівське (32,4±1,69 мм), Довське (40,4±3,58 мм), Богатирське (33,2±2,46 мм).

Цінними в селекції на посухостійкість є генотипи, які зберігають високу схожість насіння та в яких встановлюється відношення ризо- та органогенезу у проростках, як і при оптимальних умовах. У наших дослідженнях виділено такі сорти: Заповітне, Золушка, Олітан, Новокиївське 01, Скадо,

Біла Альтанка, Данило та Константинівське, що мають підвищену схожість насіння і найменший рівень пригнічення лінійного росту довжини пагона та кореня в умовах посухи.

Табл. 1. Схожість насіння і довжина пагона та кореня проростків проса за дії штучної посухи, створеної осмотиком ПЕГ 6000 (2019–2020 рр.)

Table 1. Seed germination and length of shoot and root of seedlings at the influence of drought, simulated with osmotic PEG 6000 (2019–2020)

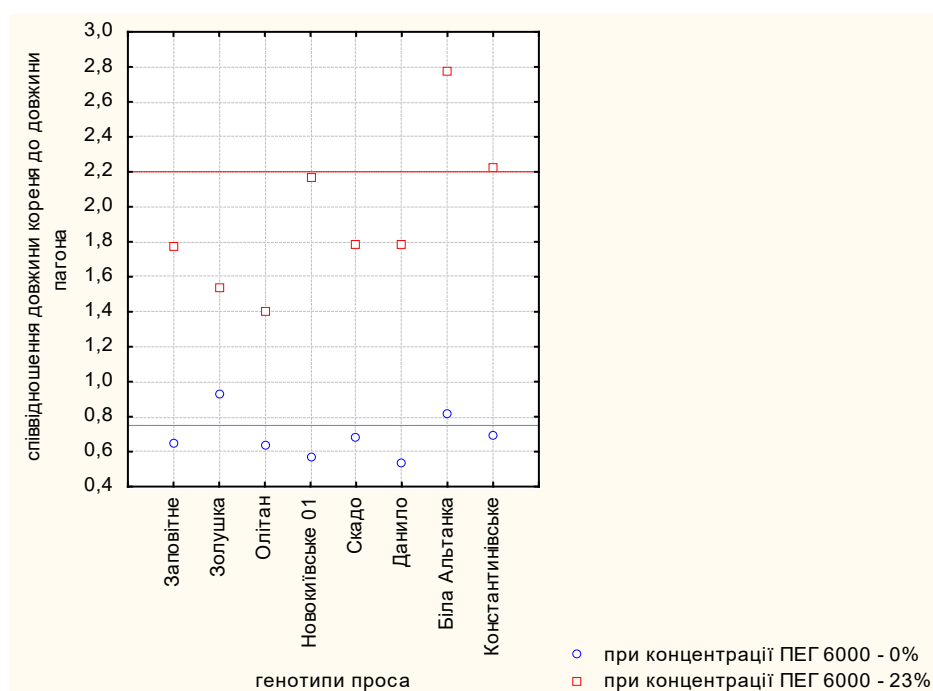
№ п/п	Походження, назва зразка	Схожість насіння за посухи**, %	Довжина, мм			
			пагона		кореня	
			контроль*	посуха**	контроль*	посуха**
Україна						
1	Харківське 57-st	50,0±5,03	73,8±4,59 ¹⁾	13,5±1,24	71,3±3,98 ¹⁾	29,4±2,04
2	Слобожанське	57,7±4,91	68,3±4,44	11,7±1,25	57,8±5,77	36,3±2,35 ¹⁾
3	Сонечко Слобідське	60,7±4,73 ¹⁾	68,1±3,43	15,4±1,15	59,3±5,79	28,8±1,61
4	Казкове джерело	48,9±1,73	75,0±5,03 ¹⁾	15,7±1,42	56,6±6,14	30,3±2,08
5	Незалежне	44,8±9,38	73,3±5,43 ¹⁾	14,4±1,28	60,8±8,76 ¹⁾	40,2±3,34 ¹⁾
6	Константинівське	63,1±13,64 ¹⁾	68,0±5,45	14,6±1,28	47,5±7,01	32,4±1,69 ¹⁾
7	Богатирське	43,7±5,44	62,8±5,72	15,6±1,38	53,7±6,66	33,2±2,46 ¹⁾
8	Омріяне	52,1±4,59	68,0±3,96	10,8±1,25	55,3±4,91	40,4±2,92 ¹⁾
9	Заповітне	56,0±4,91 ¹⁾	69,2±5,74 ¹⁾	18,0±1,47 ¹⁾	45,0±8,04	32,0±1,82 ¹⁾
10	Новокиївське 01	54,4±0,64 ¹⁾	61,4±5,83	14,8±1,55	34,8±6,70	32,2±2,24 ¹⁾
11	Біла Альтанка	55,4±10,11 ¹⁾	47,6±4,86	12,0±1,34	39,3±5,90	33,2±2,54 ¹⁾
12	Полтавське золотисте	51,3±4,67	58,9±5,70	13,1±1,34	31,7±5,57	29,4±2,31
13	Золотисте	48,6±4,66	65,7±5,83	13,0±1,47	49,3±3,71	35,0±2,28 ¹⁾
14	Аскольдо	46,4±4,21	74,1±4,67	17,8±1,57 ¹⁾	59,4±6,45	33,7±2,74 ¹⁾
15	Полто	51,1±1,11	67,6±4,25	16,4±1,38 ¹⁾	56,8±5,77	36,2±2,34 ¹⁾
16	Золушка	54,6±8,81 ¹⁾	64,0±4,61	18,7±1,30 ¹⁾	59,8±4,77	28,8±1,38
17	Скадо	61,4±2,62 ¹⁾	67,2±4,94	14,1±1,12	46,1±7,80	32,8±1,73 ¹⁾
18	Олітан	56,9±4,70 ¹⁾	61,2±5,36	21,7±1,46 ¹⁾	39,4±5,23	30,4±1,36
Білорусь						
19	Орех	47,3±4,81	61,7±3,17	17,3±1,35 ¹⁾	35,6±4,39	33,7±2,34 ¹⁾
20	Жодинське	48,0±4,97	71,6±4,24 ¹⁾	19,3±1,64 ¹⁾	67,0±5,61 ¹⁾	42,4±2,67 ¹⁾
21	Сож	44,1±8,32	75,2±4,46 ¹⁾	16,6±1,23 ¹⁾	60,3±5,31 ¹⁾	24,1±1,84
22	Свіцязанское	44,2±8,74	56,9±5,79	19,2±1,56	33,2±6,50	24,5±1,81
23	Довское	39,3±4,66	69,0±4,27	6,91±1,31	52,1±4,80	40,4±3,58 ¹⁾
Росія						
24	Данило	60,0±5,15 ¹⁾	62,8±6,23	20,3±1,49 ¹⁾	33,8±5,88	36,5±2,06 ¹⁾
25	К-177 Туркменія	46,9±2,84	80,5±3,20 ¹⁾	11,2±1,26	75,2±4,20 ¹⁾	26,9±2,00
Казахстан						
26	Долинське 39	59,2±7,51 ¹⁾	81,1±5,17 ¹⁾	11,1±1,16	63,9±6,59 ¹⁾	28,7±2,43
Китай						
27	Л.80-67	27,6±6,62	61,1±5,58	19,5±2,34 ¹⁾	42,7±8,76	22,5±3,34
28	Юйлин 1	16,3±4,23	65,1±5,31	14,2±2,50	37,5±5,67	27,3±2,77
Середнє значення		50,12±1,53	67,5±0,94	15,3±0,26	51,1±1,16	32,1±0,42
Порівняння середніх значень в %		50,12	100,0	22,7	100,0	62,3

Примітки: * контроль – пророщування на воді, ** посуха – пророщування на розчині ПЕГ 6000, концентрація 23 %; ¹⁾ статистично значуща різниця при $p < 0,05$.

Notes: * control – germination in water, ** drought – germination in 23 % solution of PEG 6000; ¹⁾ significant difference at $p < 0,05$.

При оцінці генотипів проса на посухостійкість також можна використовувати коефіцієнт співвідношення: довжина кореня/довжина пагона (ДК/ДП) (Govindaraj et al., 2010). В оптимальних для проростання насіння умовах на 6-ту добу ДК/ДП (загальний середній рівень) складав $0,75 \pm 0,02$, що вказує на переваги активності розвитку пагона над первинним корінцем (рис. 1). У той же час, у деяких зразків проса (Полтавське золотисте, Орех, Юйлинь 1, Данило, Свіцязанское) в таких умовах відбувався найбільш інтенсивний розвиток пагона. Таким чином, при проростанні насіння в сприятливих умовах у кожного зразка проса встановлені специфічні особливі морфогенезу рослин.

При концентрації ПЕГ 6000 23 %, який моделює умовний ліміт вологи в ґрунті, ДК/ДП (загальний середній рівень) складав $2,19 \pm 0,03$. Таким чином, у посушливих умовах рослини проса різко змінюють динаміку морфогенезу, починаючи активно формувати та розвивати кореневу систему. Така реакція на стресові умови проростання спостерігалась в усіх генотипах, що вивчались. На рис. 1 представлено ДК/ДП у 8 генотипів проса, які в стресових умовах характеризувалися високою схожістю насіння та найбільшою інтенсивністю росту кореня. Але оптимальне співвідношення довжини пагонів та коренів у посушливих умовах зберігали не всі рослини виділених генотипів. Лише у сортів Заповітне ($1,77 \pm 0,15$), Золушка ($1,54 \pm 0,09$), Олітан ($1,4 \pm 0,08$), Скадо ($1,79 \pm 0,12$), Данило ($1,79 \pm 0,16$) коефіцієнт ДК/ДП був нижче загального середнього значення при концентрації розчину ПЕГ 6000 23 %. Ці генотипи є найбільш цінним вихідним матеріалом в селекції на посухостійкість. Сорти Новокиївське 01, Біла Альтанка, Константинівське мали значення коефіцієнту ДК/ДП відповідно $2,17 \pm 0,17$, $2,68 \pm 0,18$, $2,22 \pm 0,18$, що свідчить про більш інтенсивний розвиток кореневої системи при дефіциті вологи в ґрунті.



— середнє значення ДК/ДП при концентрації ПЕГ 6000 – 0 %
 — середнє значення ДК/ДП при концентрації ПЕГ 6000 – 23 %
 — average R/S at concentration of osmotic PEG 6000 – 0 %
 — average R/S at concentration of osmotic PEG 6000 – 23 %

Рис. 1. Співвідношення довжина кореня/довжина пагона найбільш цінних генотипів проса за ознакою посухостійкість

Fig. 1. The root length/shoot length ratio of the millet genotypes most valuable for drought resistance

Зараження проростків проса сажкою відбувається тільки одночасно з проростанням насіння, в фазу сходів (Яшовский, 1987; Dyussibayeva et al., 2020). Проміцелій сажки проникає в тканини

проростків проса, де здійснює повний життєвий цикл патогена. В тканинах стійких сортів розвиток сажки пригнічується, і уражені рослини звільняються від хвороби; в тканинах нестійких сортів життєвий цикл патогена завершується повністю (Яшовский, 1987). Наявність патогена в рослині проявляється в період досягання волоті: на уражених рослинах утворюються соруси. В дослідженнях багатьох вчених (Яшовский, 1987, Dyussibayeva et al., 2020) вказується, що сорти, які проявляють середню стійкість до сажки (4–7 балів), в посушливих умовах демонструють ще більший відсоток ураження. Але генотипи, які характеризуються високою стійкістю до сажки (8–9 балів), і в сприятливих для розповсюдження сажки роки показують високий рівень стійкості до цієї хвороби. Таким чином, одним із завдань досліджень було не лише вивчення і виділення посухостійких генотипів проса, а й здійснення аналізу стійкості досліджуваних сортів до збудника сажки. У наших дослідженнях від 3 до 10 % сортозразків, що вивчались, показали високу стійкість (9–8 балів) до Rs 2, Rs 8, Rs 12, Rs 13 рас сажки, а до Rs 3 не було визначено стійкого жодного генотипу (рис. 2). Більшість даних зразків, в основному, були стійкі до рас Rs 1, Rs 5–Rs 7, Rs 9–Rs 11 (рис. 2).

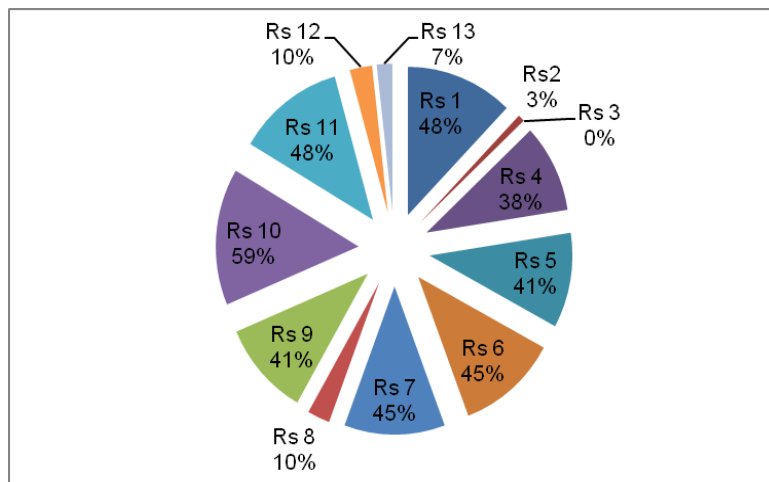


Рис. 2. Частка стійких генотипів проса до тринадцяти рас сажки (%)
Fig. 2. Proportion of resistant millet genotypes to thirteen smut races (%)

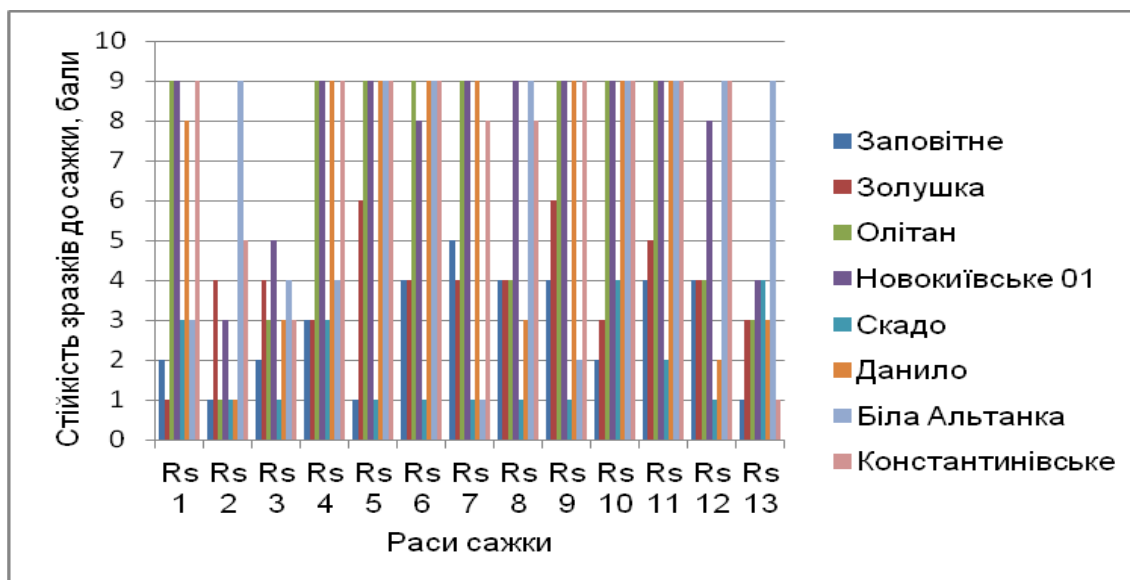


Рис. 3. Стійкість до 13 рас сажки посухостійких генотипів проса
Fig. 3. Resistance to 13 smut races of drought-resistant millet genotypes

Нами визначено (рис. 3) рівень стійкості зразків Заповітне, Золушка, Олітан, Новокиївське 01, Скадо, Данило, Біла Альтанка, Константинівське до основних рас сажки, які поєднуються з високим рівнем посухостійкості. Груповою стійкістю до рас сажки *Rs 1*, *Rs 4*, *Rs 7*, *Rs 9–Rs 11* характеризувалися сорти Олітан та Данило, а імунітет до рас сажки *Rs 1*, *Rs 4–Rs 7*, *Rs 9–Rs 12* мали сорти Новокиївське 01 та Константинівське. Сорт Біла Альтанка – унікальний генотип серед вивчених зразків, тому що він єдиний не уражувався найбільш вірулентними расами *Rs 2*, *Rs 8* та *Rs 13*. Сорти Заповітне, Золушка та Скадо не мали стійкості до досліджуваних рас (балова оцінка коливалась від 1 до 6). Вірулентний патотип *Rs 3* сорт Новокиївське 01 показав вищу стійкість серед посухостійких зразків (5 балів).

Обговорення

Одним із найбільш ефективних, економічних та швидких способів визначення рівня посухостійкості генотипів різних сільськогосподарських культур *in vitro* є пророщування насіння в розчині ПЕГ 6000 при різних його концентраціях (Farsiani, Ghobadi, 2009; Kalefetoğlu et al., 2009; Govindaraj et al., 2010; O'Donnell et al., 2013). Для того щоб було можливо порівнювати ступінь посухостійкості сучасних сортів проса української селекції з генотипами світової селекції просовидних, вперше в Україні проведено оцінку 28 сортозразків проса в фазі проростання при концентрації розчину ПЕГ 6000 23 %. За даними відомого вченого М. Говіндарай (Govindaraj et al., 2010), спостерігали суттєвий негативний вплив чотирьох концентрацій ПЕГ 6000 (-3, -5, -7,5, -10 бар) на схожість, довжину пагона ($r=-0,991$) та кореня ($r=-0,998$) у 21 генотипів африканського проса (*Pennisetum glaucum* L.). Для визначення рівня посухостійкості генотипів африканського проса вчені з Тунісу пророщували насіння в розчині ПЕГ 6000 з осмотичним потенціалом -1 та -2 Мра (Radhouane, 2007). При осмотичному тиску 2 Мра схожість насіння зменшувалася, в середньому, до 73 % в порівнянні з контролем, а у деяких генотипів схожість насіння зменшувалась до 50 %. В інших дослідженнях на пшениці (*Triticum aestivum* L.) при вирощуванні насіння в розчинах осмотика ПЕГ 6000 15 % та 25 % також спостерігали сповільнення росту проростка та кореня, в порівнянні з контролем (Bayoumi et al., 2008). У наших дослідженнях виявлено значний негативний вплив 23 % розчину ПЕГ 6000 на схожість, довжину кореня та пагона сортозразків проса: схожість насіння проса, в середньому, знижувалась до $50,12 \pm 1,53$ %. В посушливих умовах пригнічення довжини пагона відбувалося на 77,3 %, а довжини кореня – на 37,7 %. У африканського проса при осмотичному потенціалі -1,0 Мра довжина пагонів знижувалась на 44 % і при -2,0 Мра – на 84,5 %. Але на ріст і розвиток кореневої системи осмотичний тиск -2 Мра мав більш негативну дію (пригнічення відбувалося на 88,0 %) (Radhouane, 2007). Результати наших досліджень збігаються з даними М. Govindaraj et al. і підтверджують, що дефіцит ґрунтової вологи має менший вплив на розвиток кореневої системи, ніж на пагони.

У африканського проса при проростанні насіння в сприятливих погодних умовах ДК/ДП, який визначає баланс росту пагона та кореня, мав значення 2,2 і при осмотичному тиску ПЕГ 6000 -10 бар значення цього співвідношення практично не змінювалось – 2,5 (Govindaraj et al., 2010). У наших дослідженнях при сприятливих погодних умовах ДК/ДП складало в середньому $0,75 \pm 0,02$. Але при нестачі вологи в ґрунті середнє значення ДК/ДП було $2,19 \pm 0,03$. Таким чином, у рослин проса в стресових умовах відбувається різке гальмування лінійного росту пагона і навіть його припинення. У період сходів при нестачі вологи всі поживні запаси насіння проса віддає на формування, ріст і розвиток кореня. Лише п'ять сортів проса Заповітне (ДК/ДП $1,77 \pm 0,15$), Золушка ($1,54 \pm 0,09$), Олітан ($1,4 \pm 0,08$), Скадо ($1,79 \pm 0,12$), Данило ($1,79 \pm 0,16$) у стресових умовах мали здатність до нормального розвитку кореня і пагона.

Згідно з даними (Проданик та ін., 2015; Kaminskyi et al., 2020), в Україні найбільш вірулентними та агресивними расами сажки є 2, 3 і 12 раси. В наших дослідженнях лише до 10 % генотипів, що вивчались, показали високу стійкість до *Rs 2* і *Rs 12*, а *Rs 3* расою сажки уражувалися всі сортозразки. Але вдалося виявити сорти, які характеризувалися одночасно високою посухостійкістю та стійкістю до основних рас сажки. Це сорти – Олітан і Данило (стійкість до *Rs 1*, *Rs 4*, *Rs 7*, *Rs 9–Rs 11*), Новокиївське 01 і Константинівське (стійкість до *Rs 1*, *Rs 4–Rs 7*, *Rs 9–Rs 12*), сорт Біла Альтанка (*Rs 2*, *Rs 8* та *Rs 13*).

Висновки

Як показують наші дослідження, при нестачі вологи схожість насіння проса знижується до $50,12 \pm 1,53$ %. Найбільші морфологічні зміни відбуваються у пагоні (пригнічення їх довжини відбувалося на 77,3 %), ніж у кореня (зниження довжини – на 37,7 %). Ступень стійкості сортів проса до стресового чинника можна оцінювати через коефіцієнт – відношення довжини кореня до довжини пагона (ДК/ДП). Встановлено, що при сприятливих для проростання насіння погодних умовах на 6-ту добу ДК/ДП дорівнює $0,75 \pm 0,02$, а при дії 23 % розчину ПЕГ 6000 значення ДК/ДП, в середньому, було $2,19 \pm 0,03$. Таким чином, найбільш цінним генетичним матеріалом у селекції на посухостійкість слід вважати зразки, у яких баланс росту проростка та кореня наближався до одиниці, тому що такі генотипи проса при нестачі вологи в період проростання здатні формувати не тільки розвинутий корінець, але й пагін. Серед досліджених зразків високу оцінку за цим показником отримали сорти Заповітне (ДК/ДП $1,77 \pm 0,15$), Золушка ($1,54 \pm 0,09$), Олітан ($1,4 \pm 0,08$), Скадо ($1,79 \pm 0,12$), Данило ($1,79 \pm 0,16$). Нестача вологи у ґрунті не тільки негативно впливає на схожість та морфологічні зміни при проростанні насіння, але послаблює імунітет рослини в фазі проростання і тим самим провокує розвиток хвороб, особливо сажки. Результати досліджень показали, що ці зразки, в основному, стійкі до рас *Rs 1*, *Rs 5–Rs 7*, *Rs 9–Rs 11* і лише до 10 % досліджених сортозразків показали високу стійкість (9–8 балів) до вірулентних *Rs 2*, *Rs 8*, *Rs 12*, *Rs 13* рас сажки. До 3 раси сажки не було встановлено стійкого генотипа проса. Ми рекомендуємо залучати в селекційні програми проса посухостійкі сорти Олітан і Данило (стійкість до *Rs 1*, *Rs 4*, *Rs 7*, *Rs 9–Rs 11*) та Новокиївське 01 і Константинівське (стійкість до *Rs 1*, *Rs 4–Rs 7*, *Rs 9–Rs 12*) та стійкий проти найбільш вірулентних рас (*Rs 2*, *Rs 8* та *Rs 13*) сорт Біла Альтанка.

Список літератури / References

- Волкодав В.В. (1990). Довідник по апробації сільськогосподарських культур. Київ: Урожай. 496 р. [Volkodav V.V. (1990). *Guide on agricultural crop testing*. Kyiv: Urozhay. 496 p.]
- Кириченко В.В., Петренко В.П. (2012). Основи селекції стійкості до основних шкідників польових культур. Харків: Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН. 320 с. [Kirichenko V.V., Petrenkova V.P. (2012). *Fundamentals of crop breeding for resistance to pests*. Kharkiv: Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev NAAS. 320 p.]
- Проданик А.М., Перевертун Л.І., Самборська О.В., Мельник Л.А. (2015). Удосконалення методики оцінки расоспецифічної стійкості проса до сажки на штучному інфекційному фоні. Методичні рекомендації. Чабани. 13 с. [Prodanyk A.M., Perevertun L.I., Samborska O.V., Melnik L.A. (2015). *Improving the method of assessing smut resistance of millet on an artificial infectious background*. Guidelines. Chabany. 13 p.]
- Чернышева С.В. (1987). Определение относительной засухоустойчивости образцов проса способом проращивания семян в растворах сахарозы. Методические указания. Ленинград. 12 с. [Chernysheva S.V. (1987). *Determination of drought resistance of millet varieties by seeds germination in sucrose solution*. Guidelines. Leningrad. 12 p.]
- Яшовский И.В. (1987). Селекция и семеноводство проса. Москва: Агропромиздат. 255 с. [Yashovskiy I.V. (1987). *Millet breeding and seed production*. Moscow: Agropromizdat. 255 p.]
- Bayoumi T.Y., Manal H.E., Metwall E.M. (2008). Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology*, 7(14), 2341–2352.
- Blum A. (2005). Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential – are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research*, 56(11), 1159–1168. <https://doi.org/10.1071/AR05069>
- Demuyakor B., Galyon I., Kyereh S., Ahmed M. (2013). Evaluation of agronomic performance of drought-tolerant QTL introgression hybrids of millet (*Pennisetum glaucum* L. R.Br.) in the Guinea Savannah zone of Ghana. *International Journal of Agriculture Sciences*, 5(1), 354–358.
- Dyussibayeva E., Seitkhozhayev A., Rysbekova A. et al. (2020). Studying the world collection of millet with a view to select forms immune to lose smut. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 26(6), 1203–1208.

- Farsiani A., Ghobadi M.E. (2009). Effects of PEG and NaCl stress on two cultivars of corn (*Zea mays* L.) at germination and early seedling stage. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 57, 382–385.
- Gorlachova O.V., Lyutenko V.S., Antsyferova O.V., Gorbachova S.N. (2020). Seed germination of millet genotypes influenced by PEG 6000 on days 3 and 6. *Plant Varieties Studying*, 16(2) <https://doi.org/10.21498/2518-1017.16.2.2020.209226>
- Govindaraj M., Shanmugasundaram P., Sumathi P., Muthiah Ar. (2010). Simple, rapid and cost effective screening method for drought resistant breeding in pearl millet, *Electronic Journal of Plant Breeding*, 4, 590–599.
- Kalefetoğlu M.T., Turan Ö., Ekmekçi Y. (2010). Effects of water deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars and lines at early seedling stages. *Gazi University Journal of Science*, 22(1), 5–14.
- Kalinova J., Moudry J. (2006). Content and quality of protein in proso millet (*Panicum miliaceum* L.) varieties. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 61(1), 45–49. <https://doi.org/10.1007/s11130-006-0013-9>
- Kaminskyi V.F., Prodanyk A.M., Samborska O.V., Gorlachova O.V., Gorbachova S.N. (2020). Smut resistance in millet (*Panicum miliaceum* L.) genotypes and control of this disease in Ukraine. *Agricultural Science Research Journal*, 10(2), 31–37.
- Keshavars L., Farahbakhsh H., Golkar P. (2012). The effect of drought stress and super absorbent polymer on morpho-physiological traits of pear millet (*Pennisetum glaucum*). *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 3(1), 148–154.
- McSweeney M.B., Seetharaman K., Ramdath D.D., Duizer L.M. (2017). Chemical and physical characteristics of proso millet (*Panicum miliaceum*)-based products. *Cereal Chemistry*, 4(2), 357–362. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-07-16-0185-R>
- Mikulíková D., Čičová I., Antalíková G., Kraic J. (2005). Grains of nontraditional crops as sources of retrograded resistant starch. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 41, 96–104.
- Mitra J. (2001). Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants. *Current Science*, 80(6), 758–763.
- O'Donnell N.H., Møller B.L., Neale A.D. et al. (2013). Effects of PEG-induced osmotic stress on growth and dhurrin levels of forage sorghum. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.09.001>
- Radhouane L. (2007). Response of Tunisian autochthonous pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. *African Journal of Biotechnology*, 6(9), 1102–1105.
- Seghatoleslami M.J., Kafi M., Majini E. (2008). Effect of drought stress at different growth stages on yield and water use efficiency of five proso millet (*Panicum miliaceum* L.) genotypes. *Pac. J. Bot.*, 40, 1427–1432.
- Shen R., Ma Y., Jiang L. et al. (2018). Chemical composition, antioxidant, and antiproliferative activities of nine Chinese proso millet varieties. *Food and Agricultural Immunology*, 29(1), 625–637. <https://doi.org/10.1080/09540105.2018.1428283>
- Sikora R.A., Schonbeck F. (1975). Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza (*Endogone mosseae*) on the population dynamics of the root knot nematodes (*Meloidogyne incognita* and *M. hapla*). *8th Intern. Plant Protection Cong.* P. 158–166.
- Vetriventhan M., Upadhyaya H.D. (2018). Diversity and trait-specific sources for productivity and nutritional traits in the global proso millet (*Panicum miliaceum* L.) germplasm collection. *The Crop Journal*, 6(5), 451–463. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.04.002>
- Wang R., Hunt H.V., Qiao Z. et al. (2016). Diversity and cultivation of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) in China: a review. *Econ. Bot.*, 70, 332–342. <https://doi.org/10.1007/s12231-016-9357-8>
- Tadele Z. (2016). Drought adaptation in millets, abiotic and biotic stress in plants. In: *Recent Advances and Future Perspectives*. Ed. A.K. Shanker, C. Shanker, IntechOpen. P. 639–662. <https://doi.org/10.5772/61929>

Drought and smut resistance of millet (*Panicum miliaceum* L.) seedlings
O.V. Gorlachova, S.N. Gorbachova, D.K. Yegorov, O.V. Ansyferova, A.M. Prodanyk,
O.V. Samborska

The aim of the work was to study the impact of drought on the millet (*Panicum miliaceum* L.) seed germination and morphological parameters of seedlings and to identify millet genotypes with balanced rhizo- and organogenesis under arid conditions. Since the soil drought weakens plant immunity during seed germination and provokes development of various diseases, especially smut (*Sorosporium destruens* (Schlecht) Yanki), it is necessary to identify plant genotypes with high resistance to virulent smut races. We studied resistance of 28 millet varieties to 13 smut races registered in Ukraine. The osmotic PEG 6000 (23 %) was used to simulate soil drought during the seed germination. After six days of incubation, seed germinability was assessed and the length of shoots and roots of seedlings was measured. The stress resistance of millet varieties was evaluated by the root length/shoot length ratio (R/S). Water deficit in the soil decreased seed germinability to 50.12 %. Morphological changes were more pronounced in shoots (decrease in length by 77.3 %) than in roots (decrease by 37.7 %). Under favorable weather conditions, the rhizo- and organogenesis in seedlings was even (R/S=0.75±0.02). In case of soil drought, the ratio R/S dropped to 2.19±0.03. Most of the varieties were resistant to smut races *Rs 1*, *Rs 5–Rs 7*, and *Rs 9–Rs 11*; in addition, around 10 % of the studied varieties was highly resistant (9–8 points) to smut races *Rs 2*, *Rs 8*, *Rs 12*, and *Rs 13*. Millet genotypes resistant to *Rs 3* smut race were not found. Thus, the varieties with R/S ratio around one and higher should be considered the most valuable genetic material in selection for drought resistance. High R/S ratios were observed in the varieties Zapovitne (1.77), Zolushka (1.54), Olitan (1.4), Skado (1.79) and Danilo (1.79). The varieties Olitan and Danilo were highly resistant to the smut races *Rs 1*, *Rs 4*, *Rs 7*, *Rs 9–Rs 11*, while the varieties Novokyivske 0.1 (2.17) and Konstantynivske (2.22) to the smut races *Rs 1*, *Rs 4–Rs 7*, *Rs 9–Rs 12*. The variety Bila Altanka was not affected by the most virulent smut races *Rs 2*, *Rs 8* and *Rs 13*. We recommend to include these millet genotypes in selection for drought and smut resistance.

Key words: millet, drought resistance, PEG 6000, germination, shoot length, root length, smut resistance.

About the authors:

O.V. Gorlachova – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, dr_forester@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1234-8368>

S.N. Gorbachova – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, gorbachovasvetlana1960@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7835-822x>

D.K. Yegorov – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, yuriev1908rye@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0218-3827>

O.V. Ansyferova – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, antsyferova.olya@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1466-1294>

A.M. Prodanyk – NSC Institute of Agriculture of NAAS of Ukraine, Mashinobudivnykiv Str., 2B, Chabany, Ukraine, 08163, prodanyk.a@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1712-5064>

O.V. Samborska – NSC Institute of Agriculture of NAAS of Ukraine, Mashinobudivnykiv Str., 2B, Chabany, Ukraine, 08163, elenasamborskay@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9345-2433>

Устойчивость проростков проса (*Panicum miliaceum* L.) к засухе и головне
О.В. Горлачева, С.Н. Горбачева, Д.К. Егоров, О.В. Анцыферова, А.М. Проданик,
О.В. Самборская

Целью исследований было изучить влияние засухи на всхожесть семян и морфологические параметры проростков проса (*Panicum miliaceum* L.) и выделить генотипы проса, имеющие нормальный ризо- и органогенез в засушливых условиях. Так как недостаток влаги в почве ослабляет иммунитет растения в фазе прорастания и провоцирует развитие болезней, особенно головню (*Sorosporium destruens* (Schlecht) Yanki), необходимо определить генотипы, не утрачивающие стойкости к вирулентным расам головни. Изучена устойчивость 28 генотипов проса к идентифицированным в Украине 13 расам головни. Для моделирования почвенной засухи в период прорастания проса использовали осмотик ПЕГ 6000 в концентрации 23 %. Оценку всхожести семян и параметров проростков проводили на 6-е сутки. Степень устойчивости сортов проса к стрессовому фактору оценивали по отношению длина корня/длина побега (ДК/ДП). При недостатке влаги всхожесть семян проса снижается до 50,12 %. Большие изменения происходят в побегах, чем в корнях (длина побега уменьшается на 77,3 %, корня – на 37,7 %). При благоприятных погодных условиях наблюдали равномерный ризо- и органогенез у проростков (ДК/ДП – 0,75±0,02). При засухе значение ДК/ДП равно 2,19±0,03. Исследуемые образцы, в основном, устойчивы к расам *Rs 1*, *Rs 5–Rs 7*, *Rs 9–Rs 11*, и только у

10 % сортообразцов наблюдали высокую устойчивость (9–8 баллов) к вирулентным *Rs 2*, *Rs 8*, *Rs 12*, *Rs 13* расам головни. К *Rs 3* расе головни не было установлено устойчивого генотипа проса. Таким образом, наиболее ценным генетическим материалом в селекции на засухоустойчивость следует считать образцы, у которых отношение ДК/ДП приближается к единице. Это сорта Заповитне (1,77), Золушка (1,54), Олитан (1,4), Скадо (1,79), Данило (1,79). Сорта Олитан и Данило показали высокую устойчивость к *Rs 1*, *Rs 4*, *Rs 7*, *Rs 9–Rs 11* расам головни; сорта Новокиевское 01 (ДК/ДП – 2,17) и Константиновское (ДК/ДП – 2,22) имели высокую устойчивость к *Rs 1*, *Rs 4–Rs 7*, *Rs 9–Rs 12*. Сорт Белая Альтанка (ДК/ДП – 2,68) не поражался наиболее вирулентными расами *Rs 2*, *Rs 8* и *Rs 13*. Эти генотипы проса мы рекомендуем привлекать в селекционные программы на засухоустойчивость и устойчивость к головне.

Ключевые слова: просо, засухоустойчивость, ПЭГ 6000, всхожесть, длина побега, длина корня, головня.

Об авторах:

О.В. Горлачева – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, dr_forester@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1234-8368>

С.Н. Горбачева – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, gorbachovasvetlana1960@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7835-822x>

Д.К. Егоров – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, yuriev1908rye@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0218-3827>

О.В. Анциферова – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, antsyferova.olya@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1466-1294>

А.М. Проданик – НСЦ Институт земледелия НААН Украины, ул. Машиностроителей, 2Б, Чабаны, Украина, 08163, prodanyk.a@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1712-5064>

О.В. Самборская – НСЦ Институт земледелия НААН Украины, ул. Машиностроителей, 2Б, Чабаны, Украина, 08163, elenasamborskay@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9345-2433>

Подано до редакції / Received: 18.05.2021

Прорецензовано / Revised: 30.05.2021

Прийнято до друку / Accepted: 04.06.2021

Cite this article: Relina L.I., Suprun O.H., Bohuslavskiy R.L., Vecherska L.A., Leonov O.Yu., Antsyferova O.V., Golik O.V. Comparison of common wheat and spelt by total lipids and fatty acid levels. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology"*, 2021, 36, 94–104.

UDC: 633.11:581.16

Comparison of common wheat and spelt by total lipids and fatty acid levels L.I. Relina, O.H. Suprun, R.L. Bohuslavskiy, L.A. Vecherska, O.Yu. Leonov, O.V. Antsyferova, O.V. Golik

Nowadays the interest of breeders, producers and consumers is going back to ancient wheat species, such as *Triticum spelta*, which are often considered as more valuable for healthy nutrition. In this light, we compared spelt cultivars and breeding lines with commercial common wheat cultivars by total lipid content, fatty acid levels and unsaturated/saturated ratio in grain. Lipids were extracted by Soxhlet procedure. Fatty acid composition was determined by gas chromatography. On average, the total lipid content was higher in the spelt cultivars than in the breeding spelt lines (3.04 ± 0.24 % vs. 2.23 ± 0.69 %, $p < 0.05$). There was a significant difference between the average content of total lipids in the spelt cultivars, but not the breeding spelt lines, and the common wheat cultivars (3.04 ± 0.24 % vs. 2.44 ± 0.57 %, $p < 0.05$). Six major fatty acids were found in hexaploid wheat species, with linoleic acid being the most abundant. They are ranked in order of decreasing levels as follows: linoleic > oleic > palmitic > linolenic > stearic > palmitoleic. We also detected trace amounts of 3 minor fatty acids: eicosanoic (arachidic), eicosenoic and behenic acids. Common wheat is not inferior to spelt in terms of unsaturated fatty acid levels, because the ratios of unsaturated acids to saturated ones in grain of *T. spelta* accessions were similar to those in commercial common wheat cultivars. The oleic acid content was higher in spelt accessions; though the linoleic acid content was higher in *T. aestivum* cultivars. Spring common wheat cultivar Heroinia had the most beneficial unsaturated/saturated ratio of 4.5. We detected no differences in unsaturated acid amounts between spring and winter hexaploid wheats. We observed no patterns in variability of fatty acid contents across the accessions under investigation, because the same accession can be characterized by a wide variability in one fatty acid and by a narrow range for another, and, at the same time, the same fatty acid can be very variable within one accession and little variable in another. There were no significant differences in the total lipid content and fatty acid levels between the study years for the same accession.

Key words: fatty acids, total lipids, unsaturated/saturated ratio, *Triticum spelta*, *Triticum aestivum*.

About the authors:

L.I. Relina – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, lianaisaakovna@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2833-5841>

O.H. Suprun – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, oleg.suprun@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-7708-093X>

R.L. Bohuslavskiy – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, boguslavr@meta.ua, <https://orcid.org/0000-0003-3145-4788>

L.A. Vecherska – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, lyudmila_vecherska@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-3513-6701>

O.Yu. Leonov – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, oleleo@i.ua, <https://orcid.org/0000-0001-9191-8658>

O.V. Antsyferova – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, antsyferova.olya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1466-1294>

O.V. Golik – Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the NAAS of Ukraine, Moskovskiy Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, golik.oleg.vi@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9893-8037>

Introduction

The value of lipids for human and animal health lies in fatty acids being precursors of important classes of biomolecules in the body, which are involved in metabolic processes like regulation of blood lipid levels. Several unsaturated fatty acids (UFAs) are defined as 'essential fatty acids', because they are able to prevent some pathologies. Wheat is the main cereal crop used for humans' and animals' consumption worldwide, and despite the fact that it does not belong to oil crops, the contribution of wheat products to the intake of UFAs can be tangible. In addition, wheat germ oil is widely used in cosmetics industry. Such by-product as bran is also evaluated for fatty acid contents (Durante et al., 2012). Most of studies in this area are conducted on traditional commercial wheat cultivars. However, there is an opinion that the value of wheat oil reduced in the course of domestication. Beleggia et al. (2016) reported about a reduction in unsaturated fatty acids associated with selection during domestication of emmer (primary

domestication). At the same time, nowadays the interest of breeders, producers and consumers is going back to ancient wheats (einkorn, emmer, spelt) as well as to domestic, but underutilized species (Gabrovská et al., 2002).

In this respect, it is prudent to analyze fatty acid contents in commercial common wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars and spelt (*Triticum spelta* L.) accessions.

Our purpose was to study the fatty acid composition in grain of different hexaploid wheat accessions.

Materials and methods

Test accessions

Common wheat cultivars and spelt lines were kindly provided by the Laboratory of Wheat Breeding and Physiology of the Plant Production Institute (PPI) named after V.Ya. Yuriev of NAAS. Cultivars of *Triticum spelta* Frankenkorn (UA0300103, DEU), Lohnauer Sommerspelz (IU067152, Austria), Tridentina (UA0300218, Italia), CDC Bavaria (UA0300391, Canada), CDC Zorba (UA0300392, Canada) were kindly provided by the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine (NCPGRU).

Wheat accessions were grown in the PPI's experimental plots in compliance with conventional farming techniques. Grain was harvested in 2015, 2016, 2017, 2018 and 2019. Whole kernels were milled on a laboratory mill LZM.

Total lipid content

Lipids were extracted from dried (to the constant weight) whole wheat kernels (5 g, in two replications) by Soxhlet procedure (Juhaimi et al., 2019). Oil was repeatedly washed (percolated) with petroleum ether of boiling range between 40–60°C (Haltermann GmbH, Germany). The Soxhlet extractor was heated to 40°C (hot extraction). After 6-hour incubation at 40°C, the solvent was evaporated under vacuum using a rotary evaporator. The oil percentage in the initial sample was calculated using the following formula:

$$\text{Total lipids (crude oil), \%} = \frac{\text{weight of obtained oil} \times 100}{\text{weight of absolutely dry milled kernels used in a run}}$$

Fatty acids

Two samples were analyzed for each year. Fatty acid methyl esters were prepared by the modified Peisker method (Peisker, 1964). Chloroform (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) – methanol (Honeywell Research Chemicals, Romania) – 96 % sulfuric acid (Dneprochem, Ukraine) mixture in a ratio of 100 : 100 : 1 was used for methylation. 30–50 microliters of lipid extract was placed in a glass ampoule; 2.5 milliliters of methylation mixture was added, and the ampoule was sealed. Ampoules were incubated in a thermostat at 105°C for 3 hours. After methylation, ampoules were opened, the contents were transferred to test tubes, a pinch of powdered zinc sulfate (ChemElements, Ukraine) was added, and then 2 milliliters of distilled water and 2 milliliters of hexane (MOL Group, Hungary) were poured to extract methyl esters. After thoroughly stirring and settling, the hexane extracts were filtered and analyzed by gas chromatography (Prokhorova, 1982).

Fatty acid composition was determined using a gas chromatograph Selmikhrom 1 (OAO SELMI, Ukraine) equipped with a flame ionization detector (FID). The stainless steel column, 2.5 m length × 4 mm i.d., was packed with a stationary phase, Inerton AW-DMCS (0.16–0.20 mm) (Lachema, Czechia) processed with 10 % diethylene glycol succinate (BOC Sciences, USA). 2 microliters of hexane solution of fatty acid methyl esters was injected. Gas chromatography was operated under the following conditions: nitrogen flow 30 milliliters/min; hydrogen flow 30–35 milliliters/min; air flow 300 milliliters/min; column temperature 180°C; injector temperature 230°C and FID temperature 220°C. The fatty acids were identified by comparing the retention time of sample with those of reference fatty acid methyl esters (Sigma-Aldrich, USA).

Data processing

The percentages of fatty acid methyl esters were calculated by internal normalization. The data were statistically processed in STATGRAPHICS PLUS, using ANOVA method or the Mann–Whitney *U*-test for small samples with an unknown distribution, as appropriate. The results are presented as mean ± standard deviation (SD) and reported to three significant figures.

Results and discussion

Total lipids

Triticum spelta

The total lipid content in spelt accessions ranged from 1.16 ± 0.14 % dry basis (d.b.) in spelt cultivar (cv.) Yevropa to 3.37 ± 0.39 % d.b. in cv. Tridentina. This is in line with published data: Suchowilska et al. (2009) reported that the crude fat content in *T. spelta* grain was 2.4 %; in a study of hexaploid wheat species the total lipid content varied within 2.57–3.08 %, depending on the cultivar and averaging 2.92 % across the cultivars (Ruibal-Mendieta et al., 2005). In our experiments, differences between years for the same accession were not significant. Narducci et al. (2019) came to a similar conclusion in their study of tetraploid wheat. On average, the total lipid content was higher in the spelt cultivars than in the breeding spelt lines (3.04 ± 0.24 % vs. 2.23 ± 0.69 %, $p < 0.05$). Not being an oil crop, wheat is unlikely to be bred for oil content, but involvement of collection spelt accessions in wheat breeding can bring an additional benefit in terms of the lipid content.

Triticum aestivum

The total lipid content in common wheat cultivars ranged from 1.23 ± 0.14 % d.b. in cv. Podolianka to 3.53 ± 0.41 % d.b. in cv. Doridna. Other researchers report similar values: common wheat cv. Gerek-79 contained 1.44 % of crude oil (Kan, 2016); *T. aestivum* cultivars contained 2.24 % to 2.61 % of total lipids (Ruibal-Mendieta et al., 2005). Like in spelt, there were no significant differences between years for the same accession.

Fatty acid composition

Six major fatty acids were detected in all the wheat accessions under investigation. They are ranked in order of decreasing levels as follows: linoleic > oleic > palmitic > linolenic > stearic > palmitoleic. This distribution remains unchanged from year to year and is slightly different from the rankings reported by other authors. Research by Ruibal-Mendieta et al. (2004, 2005) demonstrated the following ranking for spelt and common wheat: linoleic > oleic > palmitic > linolenic > stearic and linoleic > palmitic > oleic > linolenic > stearic, respectively. Grela (1996) found more fatty acids in spelt and common wheat: linoleic > oleic > palmitic > linolenic > stearic > eicosenoic > myristic > palmitoleic and linoleic > palmitic > oleic > linolenic > stearic > eicosenoic > myristic > palmitoleic, respectively. Suchowilska et al. (2009) studied *T. spelta* and arranged fatty acids in decreasing order of percentages: linoleic, oleic, palmitic, α -linolenic and stearic acids. We also detected trace amounts of 3 minor fatty acids: eicosanoic (arachidic) acid, eicosenoic acid and behenic acid. Their contents were 0.1 % in most of the species under investigation (below 0.5 % in all the species) and characterized by wide variability. However, the greatest variability was intrinsic to palmitoleic acid (its content was also very low – 0.14 % in cv. *T. spelta* CDC Zorba or lower in the other hexaploid wheat accessions): the peak variation coefficients amounted to 58.2 % in common wheat cvs. Doskonala and Pryvitna. Fig. 1A, B shows a typical chromatogram of two of the best (in terms of UFA contents) hexaploid wheat accessions.

We found no patterns in variability of fatty acid contents across the species under investigation. The same cultivar (e.g. common wheat cv. Podolianka with variation coefficients of 23.6 % and 0.50 % for palmitoleic and oleic acids, respectively) can be characterized by a wide variability in one fatty acid and by a narrow range for another. At the same time, the same fatty acid (e.g. stearic acid) can be very variable within one accession (*T. spelta* cv. Lohnauer Sommerspelz; variation coefficient = 9.78 %) and demonstrate a relatively stable content in another (*T. spelta* line 1145-16; variation coefficient = 0.49 %).

Triticum spelta

Spelt accessions had the unsaturated/saturated ratios within 3.9 (*T. spelta* cv. CDC Bavaria due to an increased palmitic acid content of 19.3 ± 0.04 %) – 4.4 (cv. Frankenkorn due to an increased linoleic acid content of 52.7 ± 0.07 % and an decreased palmitic acid content of 16.8 ± 0.03 %; spelt breeding lines 1139-16 and 1140-16 due to an increased content of oleic acid of 27.4 ± 0.12 % and 27.7 ± 0.06 %, respectively, and a decreased palmitic acid content of 16.8 ± 0.02 % and 16.6 ± 0.05 %, respectively) (Table 1). These ratios are comparable with the literature data: 4.7 and 5.0 with a high content of linoleic acid of 61.0 % and 63.2 %, respectively, and a relatively low content of palmitic acid (16.7 % and 16.8 %, respectively) (Ruibal-Mendieta et al., 2004, 2005), 4.0 as calculated from the data published in (Suchowilska et al., 2009) and 4.4 with unusually high levels of linolenic and eicosenoic acids (5.98 % and 0.87 %, respectively) as calculated from the USDA's data (USDA, 2019). The linoleic acid content was the highest in cv. CDC Bavaria and cv. Lohnauer Sommerspelz grain (53.1 ± 0.06 % and 53.1 ± 0.13 %, respectively) and significantly higher than in cv. CDC Zorba grain. The oleic acid content

was the highest in grain of spelt breeding line 1140-16 – 27.7 ± 0.06 % and the lowest in cv. CDC Bavaria grain (22.7 ± 0.06 %), which is significantly lower than in most of the other spelt accessions. The palmitoleic acid content was the highest in cv. CDC Zorba grain (0.14 ± 0.02 %), though there were no significant differences between cv. CDC Zorba and the other spelt accessions. The linolenic acid content was the highest in cv. Lohnauer Sommerspelz grain (3.82 ± 0.09 %), though there were no significant differences between cv. Lohnauer Sommerspelz and the other spelt accessions. The eicosenoic acid content was the highest in grain of spelt breeding line 1139-16 – 0.18 ± 0.01 %. No significant differences were found in the eicosenoic acid content. The palmitic acid content was the highest in cv. CDC Bavaria grain (19.3 ± 0.04 %), significantly higher than in grain of cv. CDC Zorba, cv. Lohnauer Sommerspelz and cv. Tridentina.

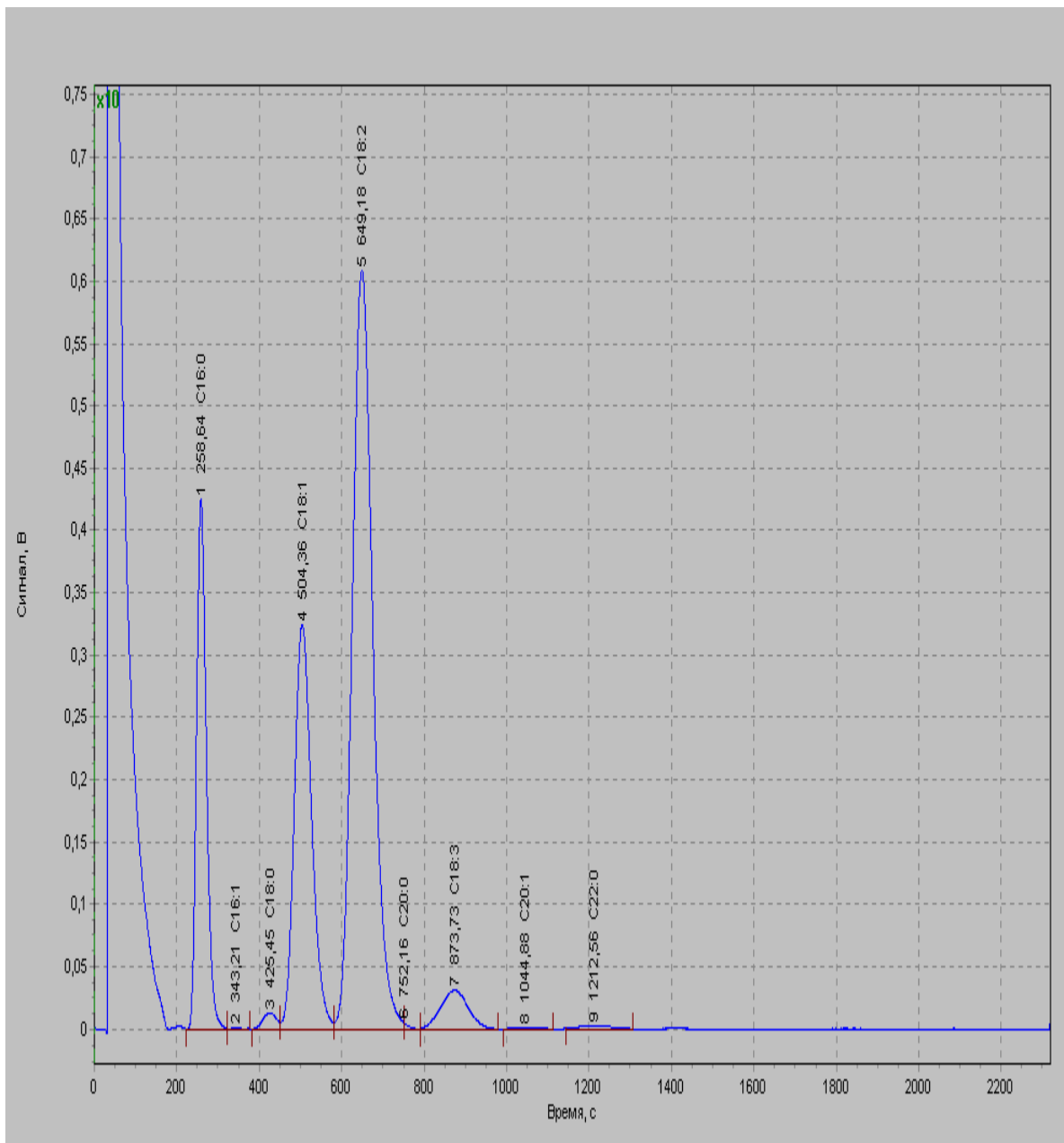


Fig. 1. A. Chromatograms of fatty acid methyl esters. *T. spelta* Lohnauer Sommerspelz, harvested in 2019. Y – Signal, V; X – Retention time, sec

When it comes to comparison between the breeding lines of spelt and original spelt accessions from the NCPGRU's collection, they differed in 3 unsaturated acids (oleic, linoleic and linolenic) and 1 saturated acid (palmitic) (Table 2). There were no differences in fatty acid contents between the breeding lines of spelt, which is attributed to their close origin. The breeding lines were richer in oleic only, and their unsaturated/saturated ratios were not superior to that of *T. spelta* cv. Frankenkorn. Check spelt cv. Yevropa did not have the best unsaturated/saturated ratio 4.0); its oleic content was lower than that of the breeding lines, on the contrary, the palmitic acid content was higher than in the breeding lines, and the only unsaturated acid that was more abundant in Yevropa grain was linoleic.

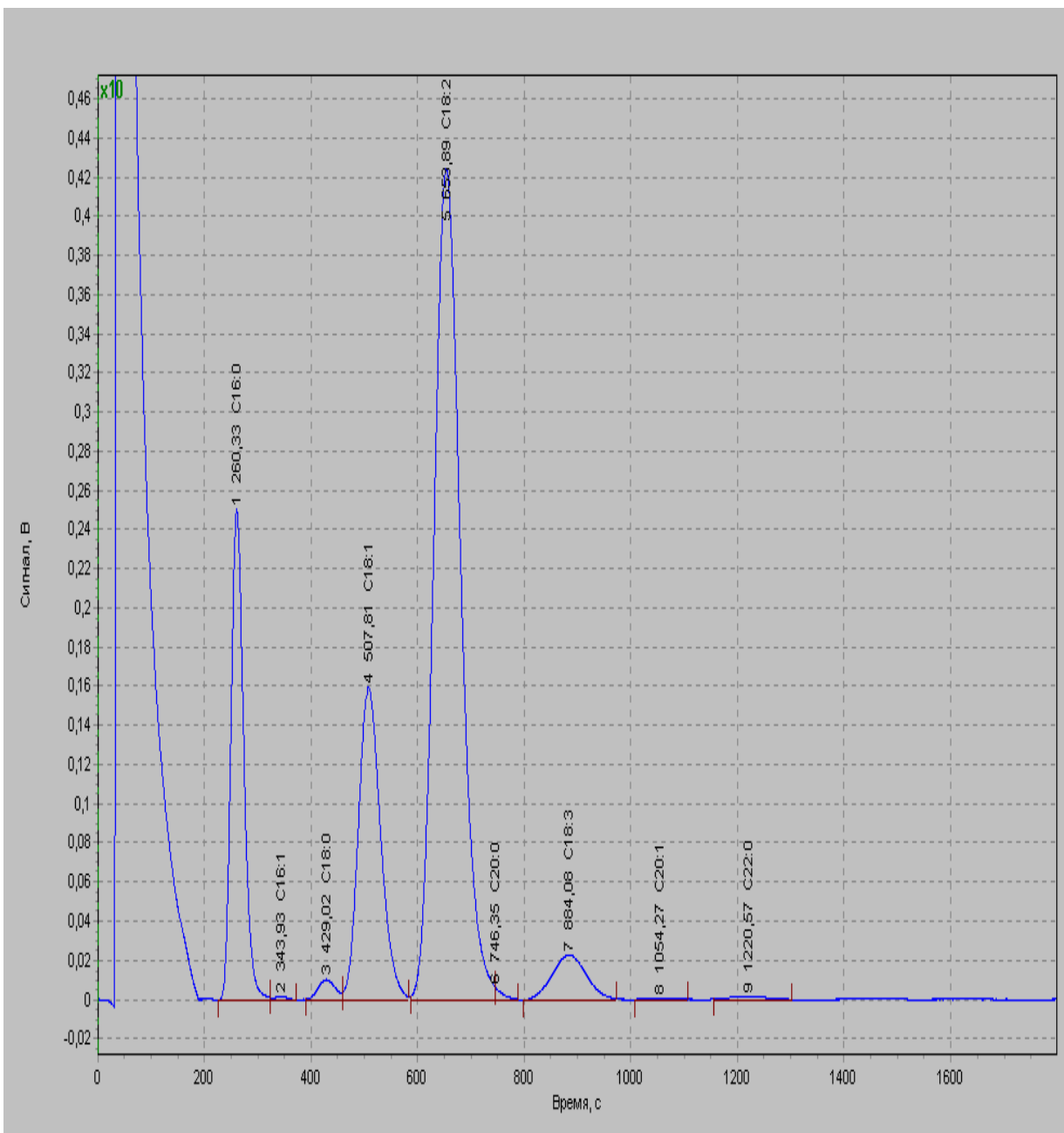


Fig. 1. B. Chromatograms of fatty acid methyl esters. Spring common wheat Heroinia, harvested in 2019. Y – Signal, V; X – Retention time, sec

Table 1. Fatty acid composition in grain of hexaploid wheat accessions (relative content, %)

Source	Palmitic C16:0	Stearic C18:0	Oleic C18:1	Linoleic C18:2	Linolenic C18:3	Behenic C22:0	Unsaturated/ Saturated Ratio
<i>Triticum spelta</i>							
Based on the National Nutrient Database of the US of Agriculture (USDA, 2019)	17.0	1.10	19.5	54.9	5.98	0.37	4.4
Ruibal-Mendieta et al. (2004)	16.7	0.7	17.3	61.0	4.00	Not detected	4.7
Ruibal-Mendieta et al. (2005)	16.8	Not detected	16.1	63.2	3.90	Not detected	5.0
Suchowilska et al. (2009)	18.8	1.1	19.4	55.9	3.5	Not detected	4.0
Our data. Species or cultivar/growth habit							
<i>T. spelta</i> line 1139-16/winter	16.8±0.02	1.32±0.09	27.4±0.12	50.8±0.06	2.84±0.20	0.45±0.01	4.4
<i>T. spelta</i> line 1140-16/winter	16.6±0.05	1.42±0.03	27.7±0.06	50.8±0.11	2.83±0.04	0.36±0.01	4.4
<i>T. spelta</i> line 1145-16/winter	16.9±0.11	1.46±0.01	27.2±0.02	50.9±0.14	2.82±0.06	0.40±0.11	4.3
<i>T. spelta</i> Franken Korn/winter	16.8±0.03	1.15±0.07	25.5±0.05	52.7±0.07	3.25±0.08	0.35±0.07	4.4
<i>T. spelta</i> Yevropa	18.0±0.09	1.38±0.11	24.4±0.09	52.3±0.33	3.01±0.06	0.49±0.02	4.0
<i>T. spelta</i> Lohnauer Sommerspelz/spring	17.8±0.09	0.80±0.08	23.9±0.04	53.1±0.13	3.82±0.09	0.37±0.02	4.3
<i>T. spelta</i> Tridentinal/spring	18.0±0.03	1.14±0.02	24.7±0.04	52.4±0.07	3.34±0.09	0.24±0.01	4.1
<i>T. spelta</i> CDC Bavaria/spring	19.3±0.04	0.87±0.02	22.7±0.06	53.1±0.06	3.63±0.18	0.19±0.02	3.9
<i>T. spelta</i> CDC Zorba/spring	17.5±0.14	1.06±0.07	24.9±0.16	52.5±0.26	3.31±0.09	0.34±0.05	4.3
<i>Triticum aestivum</i>							
Ruibal-Mendieta et al. (2004)	19.1	0.9	11.6	63.5	5.11	Not detected	4.0
Ruibal-Mendieta et al. (2005)	19.3	Not detected	10.7	64.6	5.3	Not detected	4.2
Kan (2015)	18.3	1.20	14.9	59.1	3.81	Not detected	4.0

Table 1 – Continued

Our data. Species or cultivar/growth habit							
Common wheat Doskonala/winter	17.3±0.18	1.20±0.08	23.2±0.18	53.7±0.13	3.97±0.10	0.41±0.08	4.3
Common wheat Pryvablyva/winter	17.0±0.14	1.09±0.02	23.2±0.23	54.3±0.33	3.85±0.10	0.32±0.03	4.4
Common wheat Pryvitna/winter	17.0±0.04	1.12±0.12	22.5±0.18	55.0±0.35	3.80±0.07	0.34±0.02	4.4
Common wheat Doridna/winter	18.2±0.35	1.31±0.04	23.0±0.11	53.6±0.40	3.25±0.07	0.41±0.01	4.0
Common wheat Podolianka/winter	18.2±0.14	1.26±0.06	22.5±0.11	53.4±0.25	3.8±0.07	0.47±0.02	4.0
Common wheat Heroinia/spring	16.9±0.22	0.95±0.04	18.9±0.24	58.5±0.40	4.12±0.06	0.31±0.02	4.5
Common wheat Uliublana/spring	18.0±0.17	0.90±0.56	19.1±0.12	57.7±0.18	3.72±0.12	0.35±0.05	4.2
Common wheat Barvysta/spring	18.1±0.23	0.88±0.08	19.2±0.09	57.6±0.37	3.54±0.05	0.37±0.05	4.1

Triticum aestivum

The common wheat cultivars under investigation had the unsaturated/saturated ratios within 4.0 (winter common wheat cv. Podolianka) – 4.5 (spring common wheat cv. Heroinia), which is in accordance with the literature data (4.0 (Kan, 2015), 4.0 and 4.2 (Riubal-Mendieta et al., 2004, 2005) (Table 1). The highest contents of linoleic and linolenic acids were recorded in spring common wheat Heroinia – 58.5±0.40 % and 4.12±0.06 %, respectively. The highest content of oleic acid was observed in common wheat cultivars Doskonala (23.2±0.18 %) and Pryvablyva (23.2±0.23 %). The content of eicosenoic and palmitoleic acids little differed between the common wheat cultivars.

Among the winter common cultivars under investigation, Pryvablyva and Pryvitna had the best unsaturated/saturated ratios – 4.4, mainly due to higher contents of oleic and linoleic acids and a lower content of palmitic acid (Table 1). Among the spring common cultivars under investigation, Heroinia was distinguished by the unsaturated/saturated ratio of 4.5 due to highest contents of linoleic and linolenic acids and the lowest content of palmitic acid (16.9±0.22 %), while grain of cultivars Uliublana and Barvysta contained slightly more of oleic acid.

Triticum spelta vs. *Triticum aestivum*

Analysis of wholemeal samples demonstrated that the total lipid content was, on average, significantly higher (by 18 %) in spelt grain than in common wheat grain (Riubal-Mendieta et al., 2005). In contrast to our assumption, we detected no significant differences in the total lipid content between the breeding lines of spelt and the common wheat cultivars under investigation. However, there was a significant difference between the average total contents of lipids in the spelt cultivars and the common wheat cultivars (3.04±0.24 % vs. 2.44±0.57 %, $p < 0.05$), indicating deterioration in the grain quality in terms of oil content in the process of spelt breeding for high yield capacity, easy threshing, etc.

Although spelt is praised owing to its high nutritional value, including UFA levels (the unsaturated/saturated ratios were 4.7 and 5.0 in spelt and 4.0 and 4.2 in common wheat; calculated from the data published in (Riubal-Mendieta et al., 2004, 2005), our spelt accessions did not best modern common wheat cultivars in terms of UFA contents, judging from the unsaturated/saturated ratios. The oleic acid content was higher in spelt accessions, though the linoleic (contributing to higher unsaturated acid levels) acid content was higher in *T. aestivum* cultivars (Table 2).

Table 2. Averaged amounts of fatty acids in spelt and common wheat (relative content, %)

Palmitic C16:0	Stearic C18:0	Oleic C18:1	Linoleic C18:2	Linolenic C18:3	Behenic C22:0
Collection spelt cultivars					
17.1±0.63	1.40±0.06	26.7±1.53*	51.2±0.74*	2.89±0.09	0.43±0.06
Breeding spelt lines					
17.9±0.92	1.00±0.16	24.3±1.08*	52.8±0.33*	3.47±0.25	0.30±0.09
Commercial common wheat cultivars					
17.4±0.74	1.11±0.17	21.7±2.05	55.3±2.04	3.79±0.27	0.37±0.05

Note: * significant difference between spelt and common wheat, $p < 0.05$.

Winter cultivars vs. spring cultivars

Previously (Relina et al., 2020), we found no differences in UFA contents between spring and winter tetraploid wheat cultivars, and this study on hexaploid accessions confirmed this conclusion (Table 3). The spring and winter hexaploid accessions differed in oleic and linoleic acids: the winter accessions contained more oleic acid than the spring ones (22.9±0.35 % vs. 19.1±0.20 %, respectively), while linoleic acid was more abundant in grain of the spring accessions (54.0±0.64 % vs. 57.9±0.52 %, respectively).

Table 3. Averaged amounts of fatty acids in wheat cultivars of different growth habits (relative content, %)

Palmitic C16:0	Stearic C18:0	Oleic C18:1	Linoleic C18:2	Linolenic C18:3	Behenic C22:0
Spring growth habit					
17.7±0.59	0.91±0.06*	19.1±0.20*	57.9±0.52*	3.79±0.26	0.34±0.05
Winter growth habit					
17.5±0.58	1.19±0.10	22.9±0.35	54.0±0.64	3.73±0.27	0.39±0.06

Note: * - significant difference between spring and winter cultivars, $p < 0.05$.

Conclusions

1) On average, the total lipid content was higher in the spelt cultivars than in the breeding spelt lines (3.04±0.24 % vs. 2.23±0.69 %, $p < 0.05$); 2) There was a significant difference between the average content of total lipids in the spelt cultivars, but not the breeding spelt lines, and the common wheat cultivars, indicating deterioration in the grain quality in terms of oil content in the process of spelt breeding; 3) Six major fatty acids were found in hexaploid wheat species, with linoleic acid being the most abundant; 4) Common wheat is not inferior to spelt in terms of unsaturated fatty acid levels, as the ratios of unsaturated acids to saturated ones in grain of *T. spelt* accessions were similar to those in commercial common wheat cultivars; 4) Common wheat cultivar Heroinia had the most beneficial unsaturated/saturated ratio of 4.5; 5) We detected no differences in unsaturated acid amounts between spring and winter hexaploid wheat accessions; 6) We observed no patterns in variability of fatty acid contents across the accessions under investigation, because same accession can be characterized by a wide variability in one fatty acid and by a narrow range for another, and, at the same time, the same fatty acid can be very variable within one accession and little variable in another; 7) There were no significant differences in the total lipid content and fatty acid levels between the study years for the same accession.

References

- Beleggia R., Rau D., Laidò G. et al. (2016). Evolutionary metabolomics reveals domestication-associated changes in tetraploid wheat kernels. *Mol. Biol. Evol.*, 33(7), 1740–1753. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw050>
- Durante M., Lenucci M.S., Rescio L. et al. (2012). Durum wheat by-products as natural sources of valuable nutrients. *Phytochem. Rev.*, 11(2–3), 255–262. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9232-x>
- Gabrovská D., Fiedlerová V., Holasová M. et al. (2002). The nutritional evaluation of underutilized cereals and buckwheat. *Food Nutr. Bull.*, 23(3 Suppl), 246–249. <https://doi.org/10.1177/15648265020233S148>
- Grela E.R. (1996). Nutrient composition and content of antinutritional factors in spelt (*Triticum spelta*) cultivars. *Sci. Food Agr.*, 71(3), 399–404. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199607\)71:3<399::AID-JSFA609>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199607)71:3<399::AID-JSFA609>3.0.CO;2-Q)
- Juhaimi F.A.I., Uslu N., Babiker E.E. et al. (2019). The effect of different solvent types and extraction methods on oil yields and fatty acid composition of safflower seed. *J. Oleo Sci.*, 7, 68(11), 1099–1104. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19131>
- Kan A. (2015). Characterization of the fatty acid and mineral compositions of selected cereal cultivars from Turkey. *Rec. Nat. Prod.*, 9(1), 124–134.
- Peisker K.V. (1964). A rapid semi-micro method for preparation of methyl esters from triglycerides using chloroform, methanol, sulphuric acid. *J. Am. Oil Chem. Sci.*, 41, 87–88. <https://doi.org/10.1007/BF02661915>
- Narducci V., Finotti E., Galli V. et al. (2019). Lipids and fatty acids in Italian durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars. *Foods*, 8(6), 1–9. <https://doi.org/10.3390/foods8060223>
- Prokhorova M.I. (1982). Methods of biochemical studies (lipid and energy metabolism). Leningrad: Publishing House of Leningrad University. 271 p. (in Russian)
- Relina L.I., Suprun O.H., Boguslavskiy R.L. et al. (2020). Fatty acid composition of oil from grain of some tetraploid wheat species. *Biotechnologia Acta*, 13(2), 56–64. <https://doi.org/10.15407/biotech13.02.056>
- Ruibal-Mendieta N.L., Dekeyser A., Delacroix D.L. et al. (2004). The oleate/palmitate ratio allows the distinction between wholemeals of spelt (*Triticum spelta* L.) and winter wheat (*T. aestivum* L.). *J. Cer. Sci.*, 39(3), 413–415. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2004.02.003>
- Ruibal-Mendieta N.L., Delacroix D.L., Mignolet E. et al. (2005). Spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) as a source of breadmaking flours and bran naturally enriched in oleic acid and minerals but not phytic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 53(7), 2751–2759. <https://doi.org/10.1021/jf048506e>
- Suchowilska E., Wiwart M., Borejszo Z. et al. (2009). Discriminant analysis of selected yield components and fatty acid composition of chosen *Triticum monococcum*, *Triticum dicoccum* and *Triticum spelta* accessions. *J. Cer. Sci.*, 49, 310–315. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.12.003>
- USDA (2019): National Nutrient Database. Nutrient data for product 20140 (available at <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169745/nutrients>)

Порівняння м'якої пшениці та спельти за вмістом загальних ліпідів та рівнем жирних кислот

Л.І. Реліна, О.Г. Супрун, Р.Л. Богуславський, Л.А. Вечерська, О.Ю. Леонов, О.В. Анциферова, О.В. Голік

Сьогодні інтерес селекціонерів, виробників та споживачів повертається до стародавніх пшениць, таких як *Triticum spelta*, які часто вважають більш цінними для здорового харчування. В світлі цього ми порівняли сорти, зразки та селекційні лінії спельти з комерційними сортами м'якої пшениці за вмістом загальних ліпідів, рівнем жирних кислот та співвідношенням ненасичені/насичені жирні кислоти в зерні. Ліпіди екстрагували в апараті Сокслета. Склад жирних кислот визначали методом газової хроматографії. В середньому вміст загальних ліпідів був вище в сортах спельти, ніж в селекційних лініях ($3,04 \pm 0,24$ % проти $2,23 \pm 0,69$ %, $p < 0,05$). Виявлена істотна різниця за середнім вмістом загальних ліпідів між сортами спельти та сортами м'якої пшениці ($3,04 \pm 0,24$ % проти $2,44 \pm 0,57$ %, $p < 0,05$), проте селекційні лінії спельти не відрізнялись від сортів м'якої пшениці. У гексаплоїдних видах пшениці було виявлено 6 головних жирних кислот, серед яких переважала лінолева кислота. Вони розташовуються у порядку зниження вмісту наступним чином: лінолева > олеїнова > пальмітинова > ліноленова > стеаринова > пальмітолеїнова. Ми також виявили 3 мінорні жирні кислоти у слідовій кількості: ейкозанова (арахінова), ейкозенова та бегенова кислоти. М'яка пшениця не

поступається спелті за рівнем ненасичених жирних кислот, оскільки відношення ненасичених кислот до насичених у зерні зразків *T. spelta* подібне до такого у комерційних сортах м'якої пшениці. Вміст олеїнової кислоти вищий у зразках спелти, тоді як вміст лінолевої кислоти був вищим у сортах *T. aestivum*. Сорт ярої м'якої пшениці Героїня мав найкраще відношення ненасичених кислот до насичених – 4,5. Ми не виявили відмінностей у кількості ненасичених жирних кислот між зразками ярої та озимої гексаплоїдної пшениці. Ми не спостерігали закономірностей варіабельності вмісту жирних кислот у досліджених зразках, оскільки один і той же зразок характеризувався широкою варіабельністю вмісту однієї жирної кислоти і вузькою варіабельністю вмісту іншої, і у той же самий час одна і та ж сама жирна кислота могла відрізнитись дуже варіабельним вмістом у одному зразку і маловаріабельним в іншому. Не виявлено істотної різниці у вмісті загальних ліпідів та рівнями жирних кислот за роками в межах одного зразка.

Ключові слова: жирні кислоти, загальні ліпіди, відношення ненасичених кислот до насичених, *Triticum spelta*, *Triticum aestivum*.

Про авторів:

Л.І. Реліна – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, lianaisaakovna@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2833-5841>

О.Г. Супрун – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, oleg.suprun@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-7708-093X>

Р.Л. Богуславський – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, boguslavr@meta.ua, <https://orcid.org/0000-0003-3145-4788>

Л.А. Вечерська – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, lyudmila_vecherska@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-3513-6701>

О.Ю. Леонов – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, oleleo@i.ua, <https://orcid.org/0000-0001-9191-8658>

О.В. Анциферова – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, antsyferova.olya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1466-1294>

О.В. Голик – Інститут рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААН України, Московський пр., 142, Харків, Україна, 61060, golik.oleg.vi@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9893-8037>

Сравнение мягкой пшеницы и спелты по содержанию общих липидов и уровню жирных кислот

Л.И. Релина, О.Г. Супрун, Р.Л. Богуславский, Л.А. Вечерская, О.Ю. Леонов, О.В. Анциферова, О.В. Голик

Сегодня интерес селекционеров, производителей и потребителей возвращается к древним пшеницам, таким как *Triticum spelta*, которые часто считают более ценными для здорового питания. В свете этого мы сравнили сорта, образцы и селекционные линии спелты с коммерческими сортами мягкой пшеницы по содержанию общих липидов, уровню жирных кислот и соотношению ненасыщенные/насыщенные жирные кислоты в зерне. Липиды экстрагировали в аппарате Сокслета. Состав жирных кислот определяли методом газовой хроматографии. В среднем содержание общих липидов был выше в сортах спелты, чем в селекционных линиях ($3,04 \pm 0,24$ % против $2,23 \pm 0,69$ %, $p < 0,05$). Обнаружена существенная разница по среднему содержанию общих липидов между сортами спелты и сортами мягкой пшеницы ($3,04 \pm 0,24$ % против $2,44 \pm 0,57$ %, $p < 0,05$), однако селекционные линии спелты не отличались от сортов мягкой пшеницы. У гексаплоидных видов пшеницы было выявлено 6 главных жирных кислот, среди которых преобладала линолевая кислота. Они располагаются в порядке убывания содержания следующим образом: линолевая > олеиновая > пальмитиновая > линоленовая > стеариновая > пальмитолеиновая. Мы также обнаружили 3 минорные жирные кислоты в следовом количестве: эйкозановая (арахиновая), эйкозеновая и бегеновая кислоты. Мягкая пшеница не уступает спелте по уровню ненасыщенных жирных кислот, поскольку отношение ненасыщенных кислот к насыщенным в зерне образцов *T. spelta* подобно таковому в коммерческих сортах мягкой пшеницы. Содержание олеиновой кислоты выше в образцах спелты, тогда как содержание линолевой кислоты было выше в сортах *T. aestivum*. Сорт яровой мягкой пшеницы Героиня имел лучшее отношение ненасыщенных кислот к насыщенным – 4,5. Мы не обнаружили различий в количестве ненасыщенных жирных кислот между образцами яровой и озимой гексаплоидной пшеницы. Мы не наблюдали закономерностей вариабельности содержания жирных кислот в исследованных образцах, поскольку один и тот же образец характеризовался широкой вариабельностью содержания одной жирной кислоты и узкой вариабельностью содержания другой, и в то же время одна и та же жирная кислота могла отличаться очень

вариабельным содержанием в одном образце и маловариабельным в другом. Не выявлено существенной разницы в содержании общих липидов и уровнях жирных кислот по годам в пределах одного образца.

Ключевые слова: *жирные кислоты, общие липиды, отношение ненасыщенных кислот к насыщенным, Triticum spelta, Triticum aestivum.*

Об авторах:

Л.И. Релина – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, lianaisaakovna@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2833-5841>

О.Г. Супрун – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, oleg.suprun@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-7708-093X>

Р.Л. Богуславский – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, boguslavr@meta.ua, <https://orcid.org/0000-0003-3145-4788>

Л.А. Вечерская – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, lyudmila_vecherska@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-3513-6701>

О.Ю. Леонов – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, oleleo@i.ua, <https://orcid.org/0000-0001-9191-8658>

О.В. Анцыферова – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, antsyferova.olya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1466-1294>

О.В. Голик – Институт растениеводства имени В.Я. Юрьева НААН Украины, Московский проспект, 142, Харьков, Украина, 61060, golik.oleg.vi@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9893-8037>

Подано до редакції / Received: 10.05.2021

Прорецензовано / Revised: 02.06.2021

Прийнято до друку / Accepted: 08.06.2021

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ
журналу «Вісник Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія»

У журналі публікуються результати досліджень за всіма напрямками біологічних наук. До публікації приймаються:

- закінчені оригінальні роботи, що досі ніде не видавалися;
- описи оригінальних методів та приладів;
- теоретичні та оглядові статті;
- матеріали та повідомлення про події наукового життя;
- рецензії на книги.

Статті друкуються українською та англійською мовами.

Текст експериментальної статті має складатися з наступних розділів: «Вступ», «Методика» («Об'єкти та методи дослідження»), «Результати», «Обговорення» (можливий об'єднаний розділ «Результати та обговорення»), «Перелік посилань». Тексти статей повинні бути виконані у редакторі Ms Word з використанням шрифту Arial – 10 pt; абзац – 1 см; міжрядковий інтервал – одинарний; поля: верхнє та нижнє – 3,5 см; лівє – 2,5 см, правє – 2 см. Текст статті починається з індексу УДК, далі заголовок (Arial – 12 pt), ініціали та прізвища авторів (Arial – 10 pt), повні назви наукових установ, адреси електронної пошти (Arial – 9 pt). Анотація розміщується під «шапкою» статті мовою оригіналу (Arial – 9 pt). Під анотацією друкується список ключових слів (не більше 10). Далі друкуються анотації (Arial – 9 pt) англійською і російською (якщо стаття написана українською) мовами разом із транскрипціями прізвищ авторів, перекладом назви роботи і відповідними списками ключових слів. Обсяг кожного з трьох резюме – не менш ніж 1800 фонетичних символів. Таблиці і рисунки розміщуються у тексті. Назви таблиць і рисунків та примітки до них подаються українською та англійською мовами. Посилання на літературу у тексті подаються у круглих дужках із вказуванням прізвища автора та року видання. Список використаних джерел оформлюється за алфавітом (спочатку – джерела кирилицею, потім – латиницею), без нумерації.

Бібліографічний опис джерел та посилань у тексті виконується відповідно до вимог МОН України, зокрема – ДСТУ 8302:2015, але у варіанті, наближеному до норм стилю APA (American Psychological Association). При описі друкованого джерела обов'язково слід зазначити місце видання (місто), видавництво, рік видання, загальну кількість сторінок (у періодичних виданнях – сторінки статті). Бібліографічний опис джерел англійською мовою (References) оформлюється відповідно до норм стилю APA (American Psychological Association). Джерела після слова «References» розташовуються за англійським алфавітом, без нумерації. До посилань обов'язково треба додавати DOI, якщо він присвоєний.

Електронні версії статей надсилаються до редакції електронною поштою. Разом з електронною версією до редакції надсилається друкована копія, підписана авторами. На окремій сторінці вказують прізвища та ініціали усіх авторів, повні назви наукових установ та поштові адреси установ, адреси електронної пошти авторів та посилання на їх профілі у мережі ORCID. Ця інформація наводиться українською, англійською та російською мовами.

Стаття, яка надходить до редакції, реєструється та направляється до рецензента, який підписує статтю до друку або відхиляє її. При наявності зауважень статтю повертають авторам для доопрацювання.

*** CONTENT ***

*** BIOCHEMISTRY ***

- Barannik T.V., Lebedieva M.E.** Search for putative heme binding sites in the integrated membrane protein of human erythrocytes SLC4A1 and protein kinases SYK and LYN 4
- Sokolik V.V., Levicheva N.O., Geiko V.V., Berchenko O.G., Shulga S.M.** Modulating effect of liposomal miR-101 on the processes of amyloidogenesis, smell, sleep and neuroinflammation in experimental Alzheimer's disease..... 16

*** BOTANY AND PLANT ECOLOGY ***

- Pleskach L.Ya., Virchenko V.M.** Investigation of the flora of epigeal bryobionta of the Olexandria Dendrological Park 28

*** GENETICS ***

- Atramentova L., Ehyakonandeh H.** Molecular genetic data in terms of associative and population genetics 35

*** ZOOLOGY AND ECOLOGY ***

- Hajiyeva N.A.** Association of *Balantidium coli* and intestinal coccidia (*Eimeria*, *Cryptosporidium*, *Isospora*) in domestic pigs in Azerbaijan 41
- Ibrahimov Sh.R., Mamedova S.N.** Ecological analysis of the fish cestode fauna of the mouth of Kura River 48
- Rzayev F.H., Nasirov A.M., Gasimov E.K.** A systematic review of the parasites (Plathelminthes: Cestoda) of the domestic goose (*Anser anser dom.*) 58

*** PLANT PHYSIOLOGY ***

- Vasylenko A.O., Vus N.O., Bezuhlyi I.N., Bezuhla O.N., Shevchenko L.N., Kucherenko Ye.Yu., Hliantsev A.V.** Donors of valuable breeding traits of pea (*Pisum sativum* L.) 74
- Gorlachova O.V., Gorbachova S.N., Yegorov D.K., Ansyferova O.V., Prodanyk A.M., Samborska O.V.** Drought and smut resistance of millet (*Panicum miliaceum* L.) seedlings 83
- Relina L.I., Suprun O.H., Bohuslavskiy R.L., Vecherska L.A., Leonov O.Yu., Antsyferova O.V., Golik O.V.** Comparison of common wheat and spelt by total lipids and fatty acid levels 94

*** INFORMATION ***

- Author guidelines** 105