

*** ЗМІСТ ***

*** БІОХІМІЯ ***

Нікітченко І.В., Павлій А.К., Бараннік Т.В., Гевоян В.Г. Вплив відновленого глутатіону на показники оксидативного стресу й обміну геміу в печінці та крові щурів при введенні хлориду геміну <i>in vivo</i>	5
--	---

*** БОТАНІКА ТА ЕКОЛОГІЯ РОСЛИН ***

Чипиляк Т.Ф. Залежність термінів цвітіння <i>Iris hybrida hort.</i> від температурного чинника в умовах степової зони України.....	13
---	----

*** ГЕНЕТИКА ***

Ведмедєва К.В. Генетичний контроль забарвлення крайових квіток мутантних ліній соняшнику	21
Гайбонюк І.Є., Макух Г.В. Аналіз низькофункціональної алелі 7(TA) гена <i>UGT1A1</i> серед вибірки практично здорових осіб західного регіону України.....	28
Герман О.Ю., Легостаєва О.В., Бабіка О.М. Індукція ефекту свідка в кореневій меристемі проростків сої після γ -опромінення.....	35
Феськов О.М., Жилкова Є.С., Руденко В.А., Чумакова Н.О., Єгунькова О.В. Особливості стану хромосомного апарату подружжя при порушенні репродуктивної функції.....	41

*** ЗООЛОГІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ ***

Ахмедова Н.А. Біорізноманіття та структура спільнот ґрунтових інфузорій Талишських лісів південно-східного Азербайджану	48
Причєпа М.В. Сучасний стан орнітофауни дендропарку Олександрія.....	55

*** КЛІТИННА БІОЛОГІЯ ***

Новікова О.Ю., Божок Г.А., Бондаренко Т.П. Морфологічні особливості первинних культур клітин наднирників неонатальних тварин різних видів.....	63
---	----

*** МІКОЛОГІЯ ***

Решетник К.С. Культивування <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.:Fr.) Kumm. за дії лазерного опромінення.....	71
---	----

*** ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН ***

Чабаненко О.О., Єршова Н.А., Орлова Н.В., Шпакова Н.М. Вплив амфифільних сполук на постгіпертонічний шок еритроцитів людини.....	84
Чака О.Г., Янко Р.В., Сафонов С.Л., Коломієць І.І., Левашов М.І. Вплив сірковмісних сполук на стресостійкість <i>Drosophila melanogaster</i>	91

*** ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН ***

Авксентьєва О.О., Зубрич О.І. Добова динаміка олігоцукрів, амілазна та інвертазна активність у ізогенних за генами <i>PPD</i> ліній пшениці в умовах різного фотоперіоду.....	99
Бойко Л.І., Зубровська О.М. Морфолого-анатомічні та фізіолого-біохімічні ознаки адаптації <i>Pittosporum tobira</i> (Thunb.) W.T.Aiton та <i>P. heterophyllum</i> Franch. до рівня освітлення.....	111
Гришко В.М., Лисенко О.І. Фітотоксичність хрому і нікелю на початковому етапі онтогенетичного розвитку кукурудзи.....	123

*** ДО 100-РІЧЧЯ З ДНЯ НАРОДЖЕННЯ О.С.ЛИСЕЦЬКОГО (1919–1991) ***

Атемасова Т.А. Олександр Сергійович Лисецький – до 100-річчя з дня народження.....	133
Дев'ятко Т.М. Зібрання Олександра Сергійовича Лисецького в орнітологічній колекції Музею природи Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна.....	142
Ільюхін Ю.В. Олександр Сергійович Лисецький і колекція кажанів Музею природи Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна.....	156

*** ІНФОРМАЦІЯ ***

Правила для авторів	161
----------------------------------	-----

••• БІОХІМІЯ ••• BIOCHEMISTRY •••

УДК: [577.127.3+57.044: 577.112.386]

Вплив відновленого глутатіону на показники оксидативного стресу й обміну гему в печінці та крові щурів при введенні хлориду геміну *in vivo* I.В.Нікітченко, А.К.Павлій, Т.В.Бараннік, В.Г.Гевоян

Гем (залізо-протопорфірин IX) бере участь у реалізації різноманітних клітинних функцій. Вивільнення гему за умов гемолізу або при пошкодженні внутрішньоклітинних гемопротейнів призводить до його накопичення в тканинах і, як наслідок, до активації вільнорадикальних процесів. Відновлений глутатіон (GSH) функціонує як ендogenous водорозчинний антиоксидант і регулятор редокс-статусу клітин, але його вплив на розвиток оксидативного стресу за дії геміну у ссавців залишається не вивченим. Метою цієї роботи було дослідження впливу хлориду геміну на активність деяких гемопротейнів та низку показників прооксидантно-антиоксидантного статусу печінки та крові щурів при модуляції рівня GSH *in vivo*. Дослідження проводили на білих щурах-самцях масою 170–280 г. Хлорид геміну і GSH вводили внутрішньочеревинно. Об'єктами дослідження були плазма крові, гомогенат та постмітохондріальна фракція печінки. За введення хлориду геміну (50 мг/кг маси тіла) встановлено зростання рівня гемовмісних продуктів у крові і вільного гему в печінці щурів, що супроводжувалось активацією вільнорадикальних процесів у цих тканинах. Про накопичення вільного гему в печінці свідчило підвищення активності холоферменту та ступеню насиченості гемом триптофан-2,3-діоксигенази (ТДО). Попереднє введення GSH (500 мг/кг маси тіла) за 0,5 год до введення хлориду геміну приводило до нормалізації вмісту GSH, але не запобігало накопиченню гему, зниженню рівня тригліцеридів та підвищенню вмісту гідропероксидів ліпідів у плазмі крові щурів під впливом геміну. У печінці введення GSH попереджало збільшення вмісту гідропероксидів ліпідів і карбонільних похідних білків, підвищення активності холоферменту ТДО, зменшувало ступінь насиченості ТДО гемом. Всі ці зміни відбувались на тлі підвищення вмісту GSH в печінці. Каталазна активність в печінці при введенні хлориду геміну та після сумісного введення глутатіону і геміну не відрізнялась від контролю. Аналіз взаємозв'язку досліджених показників виявив тісну позитивну кореляцію вмісту GSH в плазмі та печінці ($r=0,85$; $p<0,001$), що узгоджується з даними літератури про значну роль печінки у забезпеченні інших тканин відновленим глутатіоном. Крім того, виявлено негативну кореляцію вмісту продуктів ліпопероксидації й вмісту тригліцеридів у плазмі ($r=-0,52$; $p<0,05$), що свідчить про участь ненасичених жирних кислот тригліцеридів як субстратів пероксидних процесів за дії геміну. Значущою кореляцією вмісту GSH і гідропероксидів, а також вмісту GSH і рівня гемовмісних продуктів у плазмі крові не встановлено. Отже, водорозчинний антиоксидант відновлений глутатіон не є достатньо ефективним для попередження пошкоджень ліпідних компонентів крові за умов введення хлориду геміну в обраній дозі. В печінці, навпаки, введення GSH запобігало накопиченню гему і розвитку оксидативного стресу за дії геміну, що, очевидно, пов'язано зі збільшенням вмісту GSH в цьому органі.

Ключові слова: обмін гему; відновлений глутатіон; оксидативний стрес; печінка; плазма крові.

Effect of reduced glutathione on the indexes of oxidative stress and heme metabolism in liver and blood of rats under hemin chloride injection *in vivo* I.V.Nikitchenko, T.V.Barannik, A.K.Pavliy, V.G.Gevoian

Heme (iron-protoporphyrin IX) is involved in various cellular functions. The release of heme under hemolysis or under the damage of intracellular hemeproteins leads to its accumulation in tissues and, as a result, to the activation of free radical processes. Reduced glutathione (GSH) functions as an endogenous water-soluble antioxidant and a regulator of cells redox status, but its effect on the development of oxidative stress under hemin action in mammals remains not investigated. The aim of this work was to study the effect of hemin chloride on some hemeproteins activity and a number of prooxidant-antioxidant status indexes in rat liver and blood under GSH level modulation *in vivo*. White male rats weighing 170–280 g were taken for investigation. Hemin chloride and GSH were injected intraperitoneally. Blood plasma, homogenate, and postmitochondrial fraction of liver were the objects of study. Hemin chloride injection (50 mg/kg body weight) caused the increase in heme-containing products level in blood and free heme level in liver of rats, which was accompanied by the activation of free radical processes in these tissues. The accumulation of free heme in liver was proved by an increase in tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) holoenzyme activity and heme saturation. The pretreatment by GSH (500 mg/kg body weight) 0.5 h before hemin chloride injection normalized GSH content, but did not prevent heme accumulation, the decrease in triglycerides level and the

increase in lipid hydroperoxides content in rat blood plasma under hemin action. In liver, GSH injection prevented the increase in lipid hydroperoxides and protein carbonyl derivatives concentration as well as in TDO holoenzyme activity, and decreased the degree of TDO heme saturation. All these changes occurred under GSH content increase in liver. Catalase activity in liver did not differ from the control values after hemin chloride injection as well as after glutathione and hemin coadministration. The analysis of relationship between parameters studied in this work revealed the strong positive correlation between GSH content in plasma and liver ($r=0.85$; $p<0.001$), which was consistent with literature data on the significant role of liver in supplying other tissues with reduced glutathione. A negative correlation was found between lipid peroxidation products and triglycerides content in plasma ($r=-0.52$; $p<0.05$), which indicated the participation of triglycerides unsaturated fatty acids as substrates in the peroxidation processes under hemin action. No significant correlation between GSH and hydroperoxides content, as well as between GSH and heme-containing products levels in blood plasma was revealed. Thus, the water-soluble antioxidant glutathione was not effective enough to prevent damage of lipid components in blood under hemin chloride action in the selected dose. In the liver, on the contrary, GSH injection prevented heme accumulation and oxidative stress development under hemin action, which was obviously associated with an increase in the GSH content in this organ.

Key words: *heme metabolism; reduced glutathione; oxidative stress; liver; blood plasma.*

Влияние восстановленного глутатиона на показатели оксидативного стресса и обмена гема в печени и крови крыс при введении хлорида гемина *in vivo*

И.В.Никитченко, А.К.Павлий, Т.В.Баранник, В.Г.Гевоян

Гем (железо-протопорфирин IX) принимает участие в реализации различных клеточных функций. Высвобождение гема в условиях гемолиза или при повреждении внутриклеточных гемопротеинов приводит к его накоплению в тканях и, как следствие, к активации свободнорадикальных процессов. Восстановленный глутатион (GSH) функционирует как эндогенный водорастворимый антиоксидант и регулятор редокс-статуса клеток, однако его влияние на развитие оксидативного стресса при действии гемина у млекопитающих остается неизученным. Целью настоящей работы было исследование влияния хлорида гемина на активность некоторых гемопротеинов и ряд показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса печени и крови крыс при модуляции уровня GSH *in vivo*. Исследования проводились на белых крысах-самцах массой 170–280 г. Хлорид гемина и GSH вводили внутривентриально. Объектами исследования явились плазма крови, гомогенат и постмитохондриальная фракция печени. При введении хлорида гемина (50 мг/кг массы тела) установлено увеличение уровня гемосодержащих продуктов в крови и свободного гема в печени крыс, которое сопровождалось активацией свободнорадикальных процессов в этих тканях. О накоплении свободного гема в печени свидетельствовало повышение активности холофермента и степени насыщенности гемом триптофан-2,3-диоксигеназы (ТДО). Предварительное введение GSH (500 мг/кг массы тела) за 0,5 ч до введения хлорида гемина приводило к нормализации содержания GSH, но не предотвращало накопление гема, снижение уровня триглицеридов и повышение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови крыс под влиянием гемина. В печени введение GSH предупреждало увеличение содержания гидроперекисей липидов и карбонильных производных белков, повышение активности холофермента ТДО, уменьшало степень насыщенности ТДО гемом. Все указанные изменения происходили на фоне повышения содержания GSH в печени. Каталазная активность в печени при введении хлорида гемина и после совместного введения глутатиона и гемина не отличалась от контроля. Анализ взаимосвязи исследованных показателей выявил тесную положительную корреляцию содержания глутатиона в плазме и печени ($r=0,85$; $p<0,001$), что согласуется с данными литературы о значительной роли печени в обеспечении других тканей восстановленным глутатионом. Кроме того, выявлена отрицательная корреляция содержания продуктов липопероксидации и содержания триглицеридов в плазме ($r=-0,52$; $p<0,05$), что свидетельствует об участии ненасыщенных жирных кислот триглицеридов как субстратов перекисных процессов при действии гемина. Значимой корреляции содержания GSH и гидропероксидов, а также уровней GSH и гемосодержащих продуктов в плазме крови не установлено. Таким образом, водорастворимый антиоксидант восстановленный глутатион не является достаточно эффективным для предупреждения повреждений липидных компонентов крови в условиях введения хлорида гемина в выбранной дозе. В печени, наоборот, введение GSH предотвращало накопление гема и развитие оксидативного стресса при действии гемина, что, очевидно, связано с увеличением содержания GSH в этом органе.

Ключевые слова: *обмен гема; восстановленный глутатион; оксидативный стресс; печень; плазма крови.*

Вступ

Гем (залізо-протопорфірин IX) бере участь у реалізації різноманітних клітинних функцій як простетична група гемопротейнів та як алостеричний регулятор специфічних білків. В організмі ссавців значна кількість гему зосереджена у гемоглобіні крові та внутрішньоклітинних цитохромах. Руйнування гемопротейнів за умов гемолізу або порушень роботи електронтранспортних ланцюгів викликає вивільнення й накопичення молекул гему в тканинах. Вільний гем проявляє властивості ліпофільного прооксиданту, тому його надлишок спричинює пошкодження клітин через пряму дію на мембранні структури або активацію вільнорадикальних процесів (Yalamanoglu et al., 2018; Porto et al., 2007). Один із шляхів обмеження негативних ефектів вільного гему – це утворення комплексів гему з гем-зв'язувальними білками крові (гемопексин, альбумін та ін.) та інших тканин з подальшою його деградацією в гемоксигеназній реакції (Vinchi et al., 2013). Порушення метаболізму гему обумовлює розвиток низки серйозних захворювань, в тому числі деяких видів анемії та порфірії, які виникають при дефіциті або пригніченні активності ферментів біосинтезу гему (Mense, Zhang, 2006). Крім того, деякі патології можуть ускладнюватись вивільненням гему із гемопротейнів у значній кількості, як це відбувається за умов розвитку гемолітичних процесів (Chiabrando et al., 2014).

Відновлений глутатіон (GSH) належить до ендогенних водорозчинних антиоксидантів й, поряд з прямим знешкодженням вільних радикалів, функціонує як кофактор і субстрат ферментативної антиоксидантної системи. Він безпосередньо впливає на редокс-статус клітин як відновлений тіол з найбільшою (мілімолярною) концентрацією. Відомо, що введення *in vivo* відновленого глутатіону є ефективним захистом крові, печінки та деяких інших тканин від пошкоджуючої дії важких металів (Barannik et al., 2005), але вплив GSH на розвиток оксидативного стресу *in vivo* за дії геміну на ссавців залишається не вивченим. Метою цієї роботи було дослідити вплив хлориду геміну (ХГ) на активність деяких гемопротейнів та низку показників прооксидантно-антиоксидантного статусу печінки та крові щурів при модуляції рівня GSH *in vivo*.

Об'єкти та методи дослідження

Дослідження проводили на білих щурах-самцях масою 170–280 г, які знаходились на стандартному раціоні віварію. Тварини були розділені на три групи: (1) тварини, яким внутрішньочеревинно вводили хлорид геміну в дозі 50 мг/кг маси тіла; (2) тварини, яким за 0,5 год до ін'єкції геміну внутрішньочеревинно вводили відновлений глутатіон в дозі 500 мг/кг, (3) інтактні тварини (контроль). Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 2 год після введення хлориду геміну. Експерименти проведені з дотриманням Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986, Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 і наказ МОЗ України № 690 від 23.09.2009).

Об'єктами дослідження були плазма крові, гомогенат та постмітохондріальна фракція печінки щурів, які після виділення поміщали у пластикові ампули з кришкою (об'єм 1,5 мл) для заморожування у рідкому азоті. Перед вимірюваннями проби розморожували у термостаті (водяній бані) при 37°C. Рівень гідропероксидів ліпідів визначали спектрофотометрично за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, як описано в роботі (Ohkawa et al., 1979). Рівень карбонільювання білків визначали в постмітохондріальній фракції печінки спектрофотометрично при 360 нм та 550 нм за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином (ДНФГ) і виражали в нмоль білкових карбонільних похідних на 1 мг білка. Спонтанне утворення карбонільних груп білків визначали без, а індуковане металами утворення карбонільних груп білків – з додаванням розчину, що містив 1 мМ Fe²⁺, 1 мМ трилон Б та 10 мМ H₂O₂ (Levine et al., 1994). Накопичення гемовмісних продуктів оцінювали за оптичною густиною (ΔE) плазми крові в Soret-області 390–450 нм (Hrkal, Mueller-Eberhard, 1971). Вміст відновленого глутатіону визначали спектрофотометрично (305 нм) за кількістю утвореного комплексу з алоксаном (Patterson, Lazarow, 1955). Вміст загального холестерину та тригліцеридів в плазмі крові визначали стандартними ензиматичними методами, як описано (Tietz, 1995), й виражали в ммоль/л. Вміст протеїну визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера (Miller, 1959). Активність гем-зв'язувального білка триптофан-2,3-діоксигенази (ТДО, КФ 1.13.11.11) визначали в гомогенаті печінки спектрофотометричним методом при 365 нм за вмістом утвореного кінуреніну (Badawy, Evans, 1973) та виражали в нмоль кінуреніну/год на 1 мг білка. Насиченість ТДО гемом оцінювали за співвідношенням активності холоферменту до загальної активності ферменту, виражали у відсотках та використовували як показник вмісту вільного гему в печінці

(Badawy, Evans, 1973). Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали в постмітохондріальній фракції печінки спектрофотометрично (240 нм) за швидкістю зменшення кількості пероксиду водню, як описано (Muller et al., 1997), і виражали в мкмоль H_2O_2 /хв на 1 мг білка.

Статистичний аналіз одержаних результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Past (Hammer et al., 2001). Тип розподілу визначали за допомогою *W*-критерію Шапіро-Уїлка. Залежно від типу розподілу результати представляли як середні значення та стандартне відхилення або як медіани та квартилі, достовірність різниці між групами даних розраховували з використанням *t*-критерію Стьюдента або непараметричного *U*-критерію Манна-Уїтні. Розходження вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Кореляцію між показниками розраховували за критерієм Пірсона або Спірмена, залежно від типу розподілу.

Результати і обговорення

Показники прооксидантно-антиоксидантного статусу плазми крові при введенні хлориду геміну або сумісного введення геміну та відновленого глутатіону надані у табл. 1. Через 2 години після введення геміну *in vivo* у вибраній дозі встановлено зростання поглинання плазми крові в області Soret у два рази, що свідчить про накопичення гемовмісних продуктів у кров'яному руслі.

Таблиця 1.

Вміст відновленого глутатіону, гемовмісних продуктів, продуктів ліпопероксидації, холестерину та тригліцеридів у плазмі крові щурів після введення хлориду геміну або хлориду геміну на тлі попереднього введення відновленого глутатіону ($M \pm s$ або Me (25%; 75%), $n=5-6$, * $p < 0,05$ відносно контролю, ** $p < 0,01$ відносно контролю)

Показник	Одиниці	Контроль	Гемін	GSH + Гемін
GSH	нмоль/мг білка	2,66 ± 0,79	1,33 ± 0,71*	2,56 ± 1,00
Гемовмісні продукти	ΔA/мг білка	0,020 (0,016; 0,020)	0,040 (0,028; 0,073)*	0,043 (0,025; 0,057)*
Гідропероксиди ліпідів	нмоль МДА/ мг білка	0,043 ± 0,007	0,055 ± 0,005*	0,060 ± 0,007**
Холестерол	ммоль/л	1,42 ± 0,45	1,46 ± 0,39	1,11 ± 0,23
Тригліцериди	ммоль/л	0,44 ± 0,11	0,26 ± 0,06*	0,33 ± 0,05*

Джерелом гемовмісних продуктів у плазмі може бути як екзогенний гем, що надійшов до крові, так і гем лізованих під дією хлориду геміну еритроцитів. Введення хлориду геміну викликало зниження вмісту відновленого глутатіону на 50% і підвищення рівня гідропероксидів ліпідів на 28% у порівнянні з контрольними показниками. Вміст холестеролу не змінювався, а вміст тригліцеридів у плазмі крові знижувався на 40% відносно контролю після ін'єкції хлориду геміну. Ймовірно, ненасичені жирні кислоти тригліцеридів за цих умов залучені до реакцій вільно-радикального окислення, що і спричинило зниження рівня цих сполук у плазмі крові.

Попереднє введення відновленого глутатіону не запобігало зниженню рівня тригліцеридів (75% від контролю), накопиченню гемму (215% від контролю) та підвищенню вмісту гідропероксидів ліпідів (141% від контролю) у плазмі крові щурів під впливом геміну, але нормалізувало вміст глутатіону (табл. 1). Відомо, що не зв'язаний з білками гем виявляє прооксидантні ефекти за декількома механізмами: безпосередня участь гемму в окисно-відновних реакціях завдяки присутності іону заліза у його складі, накопичення вільного заліза внаслідок деградації гемму (Dutra, Bozza, 2014), утворення окиснених форм ліпопротеїнів низької щільності (Yalamanoglu et al., 2018), активація сигнальних шляхів, що призводить до ферментативного утворення активних форм кисню (Porto et al., 2007).

Триптофан-2,3-діоксигеназа є одним із гем-зв'язувальних білків печінки, що може блокувати прооксидантні ефекти вільного гемму за рахунок зв'язування його апоферментом ТДО (Badawy, 2017). Для оцінки накопичення вільного гемму в печінці використовували показники активності холоферменту та ступеню насиченості ТДО гемом (табл. 2). Введення геміну призводило до підвищення у 3 рази активності холоферменту в порівнянні з контрольними значеннями. Загальна активність ТДО не змінювалась після ін'єкції геміну, а ступінь насиченості ферменту гемом зростав у 3 рази. Останнє свідчить про накопичення вільного гемму в цитоплазмі клітин печінки. Джерелом

вільного гему за цих умов може бути гем, що надійшов до клітин із кров'яного русла неспецифічним шляхом, та/або гем, що вивільнився із внутрішньоклітинних гемопротеїнів (Worthington et al., 2001).

Таблиця 2.
Активність холоферменту, загальна активність та насиченість гемом ТДО в печінці щурів після введення хлориду геміну або хлориду геміну на тлі попереднього введення відновленого глутатіону (Me (25%; 75%), n=5–6, *p<0,05 відносно контролю, ** p<0,01 відносно контролю)

Показник	Одиниці	Контроль	Гемін	GSH + Гемін
Холофермент	нмоль кінуреніну/ год/мг білка	1,03 (0,79; 1,42)	3,14 (1,47; 6,77)*	1,23 (1,11; 1,60)
Загальна активність	нмоль кінуреніну/ год/мг білка	3,52 (2,54; 4,53)	4,91 (2,96; 6,98)	2,96 (2,89; 3,48)
Насиченість гемом	%	24,3 (22,1; 25,0)	70,7 (52,6; 89,0)**	46,6 (33,2; 60,5)*

Авторами роботи (Liao et al., 2007) також продемонстровано, що підвищення насиченості ТДО гемом відбувається за рахунок підвищення активності холоферменту як при введенні щурам *in vivo* геміну, так і при інкубації геміну з гомогенатом печінки *in vitro*. Попереднє введення відновленого глутатіону повністю запобігало підвищенню активності холоферменту під дією хлориду геміну і не чинило впливу на загальну активність ферменту. Ступінь насиченості ТДО гемом знижувався з 71% до 47%, але залишався достовірно вищим порівняно з контрольними тваринами (табл. 2).

Як встановлено в наших експериментах, накопичення вільного гему в печінці після ін'єкції хлориду геміну супроводжувалося збільшенням вмісту гідропероксидів ліпідів на 29% у порівнянні з контрольними тваринами (табл. 3).

Таблиця 3.
Показники прооксидантно-антиоксидантного статусу печінки щурів після введення хлориду геміну або хлориду геміну на тлі попереднього введення відновленого глутатіону (M±s, n=7–9, *p<0,05 відносно контролю, ** p<0,01 відносно контролю)

Показник	Одиниці	Контроль	Гемін	GSH + Гемін
Вміст гідропероксидів ліпідів	нмоль МДА/мг білка	0,48 ± 0,10	0,62 ± 0,10*	0,52 ± 0,14
Рівень спонтанного карбонілювання білків	нмоль білкових карбонільних похідних/мг білка	1,27 ± 0,24	1,72 ± 0,40*	1,39 ± 0,32
Рівень індукованого карбонілювання білків	нмоль білкових карбонільних похідних/мг білка	4,67 ± 0,93	5,71 ± 1,60	3,38 ± 0,82*
Вміст GSH	нмоль/мг білка	39,2 ± 8,2	54,7 ± 13,4	83,6 ± 12,4*
Каталазна активність	мкмоль H ₂ O ₂ /хв на 1 мг білка	0,132 ± 0,031	0,111 ± 0,034	0,107 ± 0,028

Підвищення рівня гідропероксидів ліпідів свідчить про активацію геміном вільнорадикальних процесів у мембранних структурах гепатоцитів. Найбільш чутливими до дії високореакційного гідроксильного радикалу, що утворюється в реакціях за участю активних метаболітів кисню та іонів заліза, є ліпіди за рахунок вмісту в них ненасичених жирних кислот, але й інші макромолекули також піддаються окисненню. Окисна модифікація білків може відбуватись як за пептидною групою, так і за боковими радикалами амінокислотних залишків (Lushchak, 2007). Треба відзначити, що введення хлориду геміну призводило до підвищення рівня спонтанного карбонілювання білків на 36% у порівнянні з контрольними значеннями, однак не впливало на рівень індукованого карбонілювання білків. Відомо, що утворення карбонільних груп може відбуватися не тільки в

результаті окиснення залишків амінокислот безпосередньо активними формами кисню, але й при взаємодії білків з продуктами окиснення ліпідів, зокрема малоновим діальдегідом (Trachootham et al., 2008; Lushchak, 2007).

Попереднє введення відновленого глутатіону повністю запобігало підвищенню вмісту гідропероксидів ліпідів і рівня спонтанного карбонілювання білків під впливом хлориду геміну. Рівень індукованого карбонілювання білків за умов спільного введення відновленого глутатіону і геміну був на 28% нижчий від цього показника у контрольних тварин. При дослідженні антиоксидантної ланки клітин печінки встановлено, що ні введення хлориду геміну, ні спільне введення відновленого глутатіону і хлориду геміну не впливає на активність каталази. Вміст відновленого глутатіону не змінюється при введенні хлориду геміну, але за умов спільного введення відновленого глутатіону і геміну цей показник підвищується і складає 213% від контрольного рівня.

Аналіз взаємозв'язку досліджених показників виявив тісну позитивну кореляцію вмісту глутатіону в плазмі та печінці ($r=0,85$, $p<0,001$), що узгоджується з даними літератури про значну роль печінки у забезпеченні інших тканин відновленим глутатіоном (Lauterburg et al., 1984). Виявлено також негативну кореляцію вмісту продуктів ліпопероксидації й вмісту тригліцеридів у плазмі ($r=-0,52$, $p<0,05$), що свідчить про участь ненасичених жирних кислот тригліцеридів як субстратів пероксидних процесів за дії геміну. Значущою кореляцією вмісту GSH і гідропероксидів, а також вмісту GSH і рівня гемовмісних продуктів у плазмі крові не встановлено, отже водорозчинний антиоксидант глутатіон не є достатньо ефективним для попередження пошкоджень ліпідних компонентів крові молекулами геміну. В печінці, на відміну від крові, введення відновленого глутатіону у вибраній дозі нормалізувало прооксидантно-антиоксидантний стан, порушений за дії геміну. Цей захисний ефект, очевидно, пов'язаний зі збільшенням в гепатоцитах концентрації GSH, який може безпосередньо взаємодіяти з деякими активними формами кисню. Крім того, GSH використовується в реакціях, каталізуємих глутатіонпероксидазами, що відновлюють гідропероксиди ліпідів, і глутатіон-S-трансферазами, що забезпечують кон'югацію GSH з електрофільними сполуками, у тому числі з вільним гемом (Espinoza-Diez et al., 2015; Powers et al., 2011). Обмеження процесів вільнорадикального окиснення також може викликати зменшення кількості пошкоджених внутрішньоклітинних гемопротеїнів, отже, вмісту вільного геміну в гепатоцитах. Іншим фактором нормалізації рівню геміну в печінці, ймовірно, є менше надходження геміну з кров'яного русла за умов введення глутатіону, що становить інтерес для подальшого дослідження.

Висновки

Через 2 години після введення геміну у дозі 50 мг/кг маси тіла спостерігалось зниження вмісту GSH в плазмі крові, зростання рівня гемовмісних сполук у крові і вільного геміну в печінці щурів. Ці зміни супроводжувались окисними пошкодженнями ліпідних й білкових молекул в крові та печінці, що є ознаками розвитку оксидативного стресу в цих тканинах.

Введення відновленого глутатіону у дозі 500 мг/кг за 0,5 год до ін'єкції геміну запобігало падінню вмісту GSH, але не чинило вираженого захисного ефекту на інші досліджені показники плазми крові. У крові зберігався підвищений під впливом геміну рівень гемовмісних сполук та продуктів ліпопероксидації й знижений вміст тригліцеридів.

У печінці, навпаки, введення GSH виявилось ефективним засобом попередження розвитку оксидативного стресу, про що свідчить нормалізація рівня гідропероксидів ліпідів та білкових карбонільних похідних, а також зниження рівня вільного геміну. Вказані зміни спостерігались на фоні підвищення в печінці вмісту GSH, що, можливо, обумовлено зменшенням його транспорту до крові за умов надходження екзогенного глутатіону.

Список літератури / References

- Badawy A.A. Kynurenine pathway of tryptophan metabolism: regulatory and functional aspects // *Int. J. Tryptophan Res.* – 2017. – Vol.10. – P. 1–20.
- Badawy A.A.-B., Evans M. The effects of chemical porphyrins and drugs on the activity of rat liver tryptophan pyrrolase // *Biochem. J.* – 1973. – Vol.136, no.4. – P. 885–892.

- Barannik T.V., Inshina N.M., Kaliman P.A. Free heme pool and activity of key enzyme of heme synthesis in the rat liver under action of agents affecting reduced glutathione level // *Ukr. Biokhim. Zh.* (1999). – 2005. – Vol.77, no.5. – P. 120–122.
- Chiabrando D., Vinchi F., Fioritoet V. *al.* Heme in pathophysiology: a matter of scavenging, metabolism and trafficking across cell membranes // *Frontiers in Pharmacology*. – 2014. – Vol.5. – 24p.
- Dutra F.F., Bozza M.T. Heme on innate immunity and inflammation // *Frontiers in pharmacology*. – 2014. – Vol.5. – 20p.
- Espinosa-Diez C., Miguel V., Mennerich D. *et al.* Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress // *Redox Biology*. – 2015. – Vol.6. – P. 183–197.
- Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P.D. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis // *Palaeontologia Electronica*. – 2001. – Vol.4, no.1. – Art.4. – 9p.
- Hrkal Z., Mueller-Eberhard U. Partial characterization of the heme-binding serum glycoproteins rabbit and human hemopexin // *Biochemistry*. – 1971. – Vol.10, no.10. – P. 1746–1750.
- Lauterburg B.H., Adams J.D., Mitchell J.R. Hepatic glutathione homeostasis in the rat: efflux accounts for glutathione turnover // *Hepatology*. – 1984. – Vol.4, no.4. – P. 586–590.
- Levine R.L., Williams J.A., Stadtman E.R., Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins // *Methods Enzymol.* – 1994. – Vol.233. – P. 346–357.
- Liao M., Pabarcus M.K., Wang Y. *et al.* Impaired dexamethasone-mediated induction of tryptophan 2,3-dioxygenase in heme-deficient rat hepatocytes: translational control by a hepatic eIF2 α kinase, the heme-regulated inhibitor // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2007. – Vol.323, no.3. – P. 979–989.
- Lushchak V.I. Free radical oxidation of proteins and its relationship with functional state of organisms // *Biochemistry (Mosc)*. – 2007. – Vol.72, no.8. – P. 809–927.
- Mense S.M., Zhang L. Heme: a versatile signaling molecule controlling the activities of diverse regulators ranging from transcription factors to MAP kinases // *Cell Research*. – 2006. – Vol.16, no.8. – P. 681–692.
- Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples // *Anal. Chem.* – 1959. – Vol.31, no.5. – P. 964–966.
- Mueller S., Riedel H.D., Stremmel W. Direct evidence for catalase as the predominant H₂O₂-removing enzyme in human erythrocytes // *Blood*. – 1997. – Vol.90, no.12. – P. 4973–4978.
- Ohkawa H., Ohahi N., Jadi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol.95, no.2. – P. 351–358.
- Patterson J.W., Lazarow A. Determination of glutathione // In: D.Glick, ed. *Methods of Biochemical analysis*. Vol. 2. – Interscience, 1955. – P. 259–279.
- Porto B.N., Alves L.S., Fernández P.L. *et al.* Heme induces neutrophil migration and reactive oxygen species generation through signaling pathways characteristic of chemotactic receptors // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol.282, no.33. – P. 4430–4436.
- Powers S.K., Ji L., Kavazis A.N., Jackson M.J. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle // *Comprehensive Physiology*. – 2011. – Vol.1, no.2. – P. 941–969.
- Tietz N.W. ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. – Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995. – P.610.
- Trachootham D., Lu W., Ogasawara M.A. *et al.* Redox regulation of cell survival // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2008. – Vol.10, no.8. – P. 1343–1374.
- Vinchi F., De Franceschi L., Ghigo A. *et al.* Hemopexin therapy improves cardiovascular function by preventing heme-induced endothelial toxicity in mouse models of hemolytic diseases // *Circulation*. – 2013. – Vol.127, no.12. – P. 1317–1329.
- Worthington M.T., Cohn S.M., Miller S.K. *et al.* Characterization of a human plasma membrane heme transporter in intestinal and hepatocyte cell lines // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2001. – Vol.280, no.6. – P. G1172–G1177.
- Yalamanoglu A., Deuel J.W., Hunt R.C. *et al.* Depletion of haptoglobin and hemopexin promote hemoglobin-mediated lipoprotein oxidation in sickle cell disease // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2018. – Vol.315, no.5. – P. L765–L774.

Представлено: В.В.Соколік / Presented by: V.V.Sokolik
Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky
Подано до редакції / Received: 10.10.2019

Про авторів: І.В.Нікітченко – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, irina.v.nikitchenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-5858-3382>

А.К.Павлій – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, akpavliy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5760-0224>

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

В.Г.Гевоян – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, gevoyan@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7256-898X>

About the authors: I.V.Nikitchenko – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, irina.v.nikitchenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-5858-3382>

A.K.Pavliy – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, akpavliy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5760-0224>

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>

V.G.Gevoian – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, gevoyan@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7256-898X>

Об авторах: И.В.Никитченко – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, irina.v.nikitchenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-5858-3382>

А.К.Павлий – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, akpavliy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5760-0224>

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>

В.Г.Гевоян – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, gevoyan@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7256-898X>

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

УДК: 582.579.2:581.145.1(477.63)

Залежність термінів цвітіння *Iris hybrida hort.* від температурного чинника в умовах степової зони України
Т.Ф.Чипиляк

Півники є однією з найбільш розповсюджених у світі квіткових культур і широко використовуються в оформленні весняних ландшафтних композицій. Науковцями підтверджені широкі адаптаційні можливості представників родового комплексу *Iris L.* в різноманітних кліматичних умовах, але у зелених насадженнях м. Кривий Ріг (степова зона України) зустрічається дуже обмежений асортимент сортів. Актуальним є вивчення особливостей розвитку культури в наших кліматичних умовах, з огляду на те, що на Криворіжжі за останні 30 років середньорічна температура повітря підвищилася на 2°C. Мета досліджень – визначення впливу температурного чинника на генеративний розвиток гібридних півників за кліматичних змін у степовій зоні України. Об'єктом дослідження були сорти бородатих півників, які відпізняються за терміном початку цвітіння: ранньоквітучі (початок квітвання на початку травня), середньоквітучі (друга декада травня) та пізньоквітучі (третя декада травня). Опрацьовано матеріал щодо проходження окремих фаз генеративного розвитку протягом останніх 17 років дослідження (2002–2018 роки): початок квітвання, масове цвітіння та загальна його тривалість. З'ясовано, що в умовах Криворізького ботанічного саду в 2002–2018 роках *Iris hybrida hort.* раннього цвітіння починали квітвати в середньому на 68 день весни (7 травня), середньоквітучі – на 74 день (13 травня), а пізньоквітучі на 80 день весни (19 травня). В наших кліматичних умовах гібридні півники починали цвітіння за різноманітних температурних показників: за середньодобової температури повітря від 9°C до 24°C, при накопиченні суми ефективних температур вище 5°C – для ранніх в межах 170–340°C, для середніх від 260 до 440°C, для пізніх від 310 до 500°C. Розрахунки регресійної залежності початку фази квітвання від суми ефективних температур повітря вище 5°C показали наявність прямого зв'язку середньої сили (коефіцієнт кореляції 0,48). Група середньоквітуючих сортів є досить умовною, і за змін погодних умов такі сорти по термінам квітвання наближувалися до ранньоквітучих або пізньоквітучих зразків. Терміни початку цвітіння середньоквітучих і пізньоквітучих сортів протягом 2002–2018 років достовірно не змінилися, тоді як ранньоквітучі в останнє п'ятиріччя почали цвісти на 5–7 діб раніше (28 квітня – 5 травня) і зменшували тривалість декоративного ефекту у 1,5 рази. Сорти середнього терміну при зменшенні тривалості загального цвітіння (у 1,2 рази) останні 17 років масово починали незмінно квітвати наприкінці другої декади травня. Пізні сорти за даний період досліджень не виявляють значних відмінностей у розвитку генеративної сфери, значуще не змінюється і тривалість цвітіння сортів даної групи.

Ключові слова: *Iris hybrida hort.*; Криворіжжя; початок цвітіння; масове цвітіння; температурний чинник.

Dependence of terms of *Iris hybrida hort.* flowering on a temperature factor in the conditions of the steppe zone of Ukraine
T.F.Chyrylyak

Iris hybrida hort. is one of the most common flower cultures in the world and is widely used in the design of spring landscape compositions. Researchers have confirmed the wide adaptive capabilities of representatives of the genus *Iris L.* under various climatic conditions, but a very limited number of varieties has been found in the green plantations of Kryviy Rih (steppe zone of Ukraine). It seems important to study the characteristics of the development of irises in our climatic conditions, taking into account the fact that over the past 30 years the average annual air temperature in Kryviy Rih has increased by 2°C. The purpose of the research is to analyze the influence of the temperature factor on the generative development of *Iris hybrida hort.* during climatic changes in the steppe area of Ukraine. The objects of research were varieties of irises, which differed in terms of the beginning of flowering: early-flowering (beginning of flowering in early May), middle-flowering (second decade of May) and late-flowering (third decade of May). Passing of the phases of generative development (beginning of flowering, mass flowering and its total duration) for the last 17 years (2002–2018) has been analyzed. It was revealed that in conditions of the Kryviy Rih Botanical Garden, in 2002–2018, early-flowering *Iris hybrida hort.* began to flower on the average on 68th day of spring (on May 7), middle-flowering – on 74th

day (on May 13), and late-flowering – on 80th day of spring (on May 19). In our climatic conditions, *Iris hybrida hort.* began flowering at various temperature indices: average daily temperature of air – from 9°C to 24°C, at the accumulation of the sum of effective temperatures above 5°C – for the early-flowering irises within 170–340°C, for the middle-flowering within 260 to 440°C, for the late-flowering within 310 to 500°C. Calculations of the regression dependence of the beginning of the flowering phase on the sum of effective air temperatures above 5°C showed the presence of a direct relationship of moderate degree (correlation coefficient is 0.48). A group of middle-flowering varieties was rather conditional and at the changes of weather, such varieties may correspond to early-flowering or late-flowering plants by the terms of flowering. The terms of the beginning of flowering of the middle-flowering and late-flowering varieties did not significantly change during 2002–2018, whereas early-flowering in the last five years began flowering 5–7 days earlier (April 28 – May 5) and reduced the duration of the decorative effect by 1.5 times. The middle-flowering varieties while reducing the total duration of flowering (by 1.2 times) for the last 17 years began to bloom massively at the end of the second decade of May invariably. The late-flowering varieties for the period of research do not show significant differences in the generative development, duration of flowering does not change in this group.

Key words: *Iris hybrida hort.*; Kryviy Rih region; beginning of flowering; mass flowering; temperature factor.

Зависимость сроков цветения *Iris hybrida hort.* от температурного фактора в условиях степной зоны Украины

Т.Ф.Чипиляк

Ирисы являются одной из наиболее распространенных в мире цветочных культур и широко используются в оформлении весенних ландшафтных композиций. Исследователями подтверждены широкие адаптационные возможности представителей родового комплекса *Iris L.* в разнообразных климатических условиях, но в зеленых насаждениях г. Кривой Рог (степная зона Украины) встречается очень ограниченный ассортимент сортов. Представляется актуальным изучение особенностей развития культуры с учетом того, что на Криворожье за последние 30 лет среднегодовая температура воздуха увеличилась на 2°C. Цель исследований – определение воздействия температурного фактора на генеративное развитие гибридных ирисов при климатических изменениях в степной зоне Украины. Объектом исследований были сорта бородатых ирисов, которые отличались сроками начала цветения: раннецветущие (начало цветения в первых числах мая), среднецветущие (вторая декада мая) и поздноцветущие (третья декада мая). Обработан материал о прохождении отдельных фаз генеративного развития за последние 17 лет наблюдений (2002–2018 гг.): начало цветения, массовое цветение и общая его продолжительность. Выяснено, что в условиях Криворожского ботанического сада в 2002–2018 гг. ранние сорта *Iris hybrida hort.* начинали цветение в среднем на 68 день весны (7 мая), среднецветущие – на 74 день (13 мая), а поздноцветущие – на 80 день весны (19 мая). В наших климатических условиях гибридные ирисы начинали цветение при разнообразных температурных показателях: среднесуточной температуре воздуха от 9°C до 24°C, при накоплении суммы эффективных температур воздуха выше 5°C – для ранних в пределах 170–340°C, для средних от 260 до 440°C, для поздних от 310 до 500°C. Расчеты регрессионной зависимости начала фазы цветения от суммы эффективных температур воздуха выше 5°C показали наличие прямой связи средней силы (коэффициент корреляции 0,48). Группа среднецветущих сортов является достаточно условной, и под влиянием изменений погодных условий такие сорта по срокам цветения приближались к ранне- или поздноцветущим образцам. Сроки начала цветения среднецветущих и поздноцветущих сортов в течение 2002–2018 гг. значимо не изменились, в то время как раннецветущие в последние пять лет начинали цвести на 5–7 дней раньше (28 апреля – 5 мая) и уменьшали продолжительность декоративного эффекта в 1,5 раза. Сорта среднего срока при уменьшении общей продолжительности цветения (в 1,2 раза) последние 17 лет массово начинали цвести неизменно в конце второй декады мая. Поздние сорта за данный период исследований не выявляли значительных отличий в развитии генеративной сферы, значимо не изменяется и продолжительность цветения сортов данной группы.

Ключевые слова: *Iris hybrida hort.*; Криворожье; начало цветения; массовое цветение; температурный фактор.

Вступ

Одним з критеріїв широкого використання рослин у ландшафтній архітектурі є тривалість декоративного ефекту, який вони створюють. Особливий інтерес у цьому зв'язку представляють бородаті півники – представники роду *Iris L.* Завдяки широкій кольоровій гамі забарвлення, різноманітному габітусу, тривалому цвітінню півники є однією з найбільш розповсюджених у світі квіткових культур (створено до 80 тис. культиварів), яка широко використовується в оформленні

весняних ландшафтних композицій (Ирисы..., 1981; Родионенко, 1988). Проведені дослідження особливостей росту та розвитку представників родового комплексу *Iris* у різноманітних кліматичних умовах підтвердили їх широкі адаптаційні можливості (Швець, 2006; Кирпичева, 2013; Шевченко, 2013). Натомість, обстеження наявного асортименту квітничково-декоративних рослин у зелених насадженнях м. Кривий Ріг показали, що у квітниках міста він представлений тільки *Iris tenuifolia* Pall. та близько 10 сортами *Iris hybrida hort.*, застарілих в сортовому і декоративному відношенні (Чипиляк та ін., 2014). Однією з причин цього є відсутність результатів дослідження розвитку культури з урахуванням його залежності від кліматичних умов степової зони України. В своїх дослідженнях ми скористалися концепцією кліматичної аналогії за Г.М.Зайцевим (Зайцев, 1983), який виділяв два головні екологічні чинники, коливання яких в значному ступені визначаються географічною широтою місцевості – середньомісячна температура повітря та довгота дня, з якими корелятивно пов'язані екологічні умови в цілому. Визначення термінів настання та морфологічних змін в основні фази розвитку в залежності від, зокрема, температурного режиму дасть можливість оцінювати зміни в рослинному організмі, успішно виконувати апробацію нових сортів, селекційну роботу тощо.

Місто Кривий Ріг, на території якого проводилися дослідження, знаходиться на південному заході Дніпропетровської області і входить до складу посушливої зони – зони обмеженої інтродукції рослин (Казаков та ін., 2005; Шипунова, Маханько, 2006). На фоні потепління клімату в світовому масштабі, в Україні за останні 10 років середньорічна температура повітря підвищилася на 0,3–0,6°C, а на Криворіжжі за останні 30 років – на 2°C (Друге національне повідомлення ..., 2006; Сайт погоди ... <http://rp5.ua>). Осінній перехід середньодобової температури повітря через 0°C зараз припадає на 30 листопада (раніше на 24 листопада), а в травні спостерігаються стійкі приморозки з температурою до мінус 1–4°C у повітрі і до 3–8°C морозу на поверхні ґрунту. З огляду на це, актуальним є вивчення особливостей розвитку видів та культиварів за впливу змін температурного режиму, що, в свою чергу, допоможе впровадженню інтродуцентів в якості об'єктів для практичного використання.

Мета дослідження – визначення впливу температурного чинника на генеративний розвиток гібридних півників за кліматичних змін в степовій зоні України.

Методика

Інтродукція півників у Криворізький ботанічний сад НАН України (далі КБС) була розпочата у 1985 році, і за цей час до акліматизаційного випробування було залучено майже 300 культиварів, які були отримані з наукових установ та приватних колекцій. На сьогодні маємо 142 сорти *Iris hybrida hort.* закордонної та вітчизняної селекції. Колекційні зразки демонструють різноманіття культури, тенденції змін морфологічних ознак та фенотипічних особливостей сортів за майже 150 років селекційних досягнень. Інтродуценти представляють 6 відомих садових груп: стандартні карлики (SDB), інтермедія (IB), бордюрні (BB), високі бородаті (TB), сибірські (SIB) та спурія (SPU) (Родионенко, 2002). Переважна більшість інтродуцентів (92,5%) – це бородаті півники, тому основна увага в дослідженнях приділена квітуванню саме цих сортів.

Для визначення найвищого декоративного ефекту в наших кліматичних умовах сорти поділено за терміном початку цвітіння: ранньоквітучі (початок квітування на початку травня), середньоквітучі (друга декада травня) та пізньоквітучі (третья декада травня). Спостереження за колекційними рослинами проводилося за методикою фенологічних спостережень у ботанічних садах (Рекомендації ..., 1990). Опрацьовано матеріал щодо проходження окремих фаз генеративного розвитку протягом останніх 17 років дослідження (2002–2018 роки): початок квітування (коли до неї вступило 10–15 % рослин), масове цвітіння (70–75 % рослин) та загальна його тривалість. Термін фенофаз відзначали позначенням доби від початку календарної весни: 1 березня – 1 доба, 1 квітня – 32 доба тощо (Зайцев, 1981). Суму ефективних температур, яка є показником кількості теплової енергії, необхідної для проходження рослинами повного розвитку або розвитку окремих стадій (сума середньодобових температур вище за +5°C), розраховували за даними Лозоватської метеостанції м. Кривий Ріг (Екологічна енциклопедія, 2008). Результати дослідження проаналізовано за допомогою методів варіаційної статистики (Доспехов, 1985; Румшинский, 1971). Оцінка коефіцієнтів кореляції здійснювалась за стандартними методиками – при $r < 0,3$ сила зв'язку незначна, при $0,3 < r < 0,7$ – сила зв'язку середня, при $r > 0,7$ – наявність сильного зв'язку, при $r > 0,9$ – дуже сильного зв'язку. У всіх розрахунках рівнем значущості був

прийнятий $p=0,95$.

Результати та обговорення

Аналіз блоку даних фенологічних спостережень показав, що в умовах Криворіжжя терміни початку цвітіння гібридних півників відрізнялися значною варіабельністю. Так, ранні півники (сортів груп стандартних карликів та інтермедіа) в останні 17 років дослідження починали квітування на 68 ± 7 (2–14 травня) день весни. При цьому температурний режим відрізнявся значною різноманітністю. Так, середньодобова температура повітря в 2011 році на початок даної фази становила 9°C , у 2003 році – 24°C . Відповідно, сума ефективних температур повітря вище $+5^\circ\text{C}$ на початок квітування варіювала в широких межах – $170\text{--}340^\circ\text{C}$ (рис. 1). Але зауважимо, що середньомісячна температура повітря квітня у 2002–2008 рр. складала $7,6\text{--}10,9^\circ\text{C}$, тоді як у 2014–2018 рр. – $9,7\text{--}14,1^\circ\text{C}$.

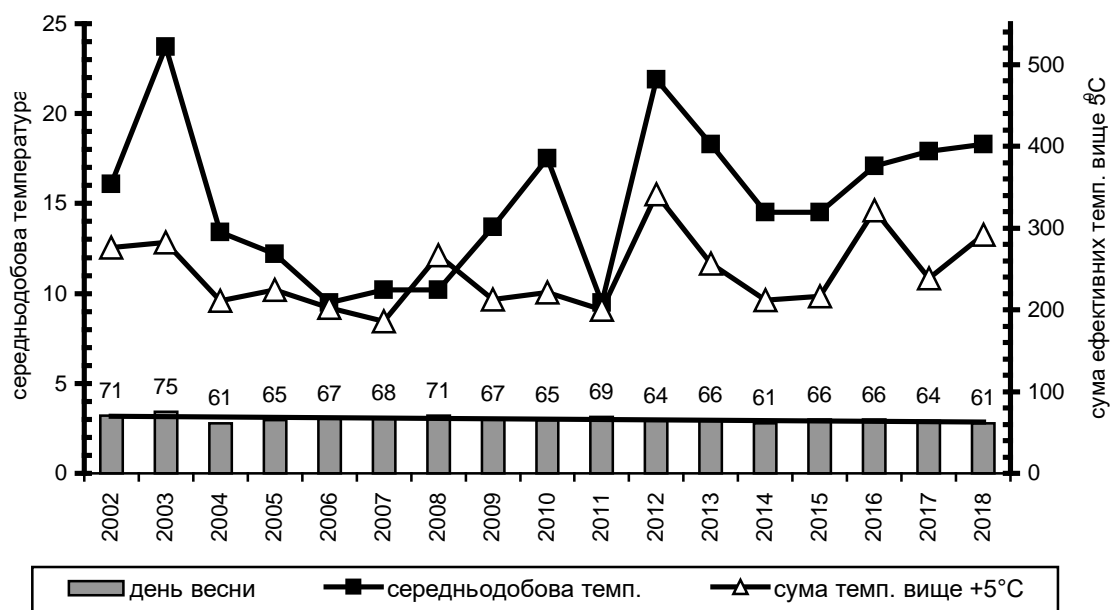


Рис. 1. Температурні показники на початок цвітіння ранньоквітучих *Iris hybrida hort.* в умовах Криворіжжя протягом 2002–2018 років

Необхідно звернути увагу, що останні п'ять років ранні півники квітувати починали раніше на 5–7 діб, а саме 28 квітня – 5 травня, при цьому межі коливання температурних показників значно зменшувалися: середньодобова температура повітря коливалася від 14 до 18°C , сума ефективних температур від 210 до 320°C .

Сорти групи середньоквітучих (бордюрні і високі бородаті півники) у 2002–2018 роках за середніми показниками починали квітування на 74 ± 5 день весни (10–18 травня). Початок фази фіксували як при середньодобовій температурі повітря 11°C , так і, досить часто, при температурі повітря $17\text{--}21^\circ\text{C}$ (рис. 2). Сума ефективних температур вище $+5^\circ\text{C}$ на початок цвітіння також відрізнялася значною різноманітністю ($260\text{--}440^\circ\text{C}$), але при цьому показник $350\text{--}400^\circ\text{C}$ і вище було зафіксовано саме в останні сім років (2012–2018 рр.). Аналіз отриманих даних доводить, що сорти півників, які зацвітають в середні терміни впродовж останніх 17 років дослідження, не виявляли достовірної зміни термінів початку цвітіння, але відрізнялися досить широкою варіабельністю температурних показників розвитку генеративної сфери.

Початок цвітіння пізньоквітучих сортів у наших кліматичних умовах припадав на 80 ± 6 (20–28 травня) день весни, і терміни початку даної фази останні 17 років дослідження значуще не змінилися (рис. 3). Початок фази, як і для двох попередніх груп, фіксували за різноманітних показників: у 2002–2008 рр. за середньомісячної температури травня $14,2\text{--}18,9^\circ\text{C}$ та середньодобової температури повітря $12,6\text{--}21,3^\circ\text{C}$, у 2014–2018 рр. – $16,1\text{--}19,5^\circ\text{C}$ та $15,1\text{--}20,3^\circ\text{C}$

відповідно. Сума ефективних температур вище +5°C варіювала в межах – 330–480°C.

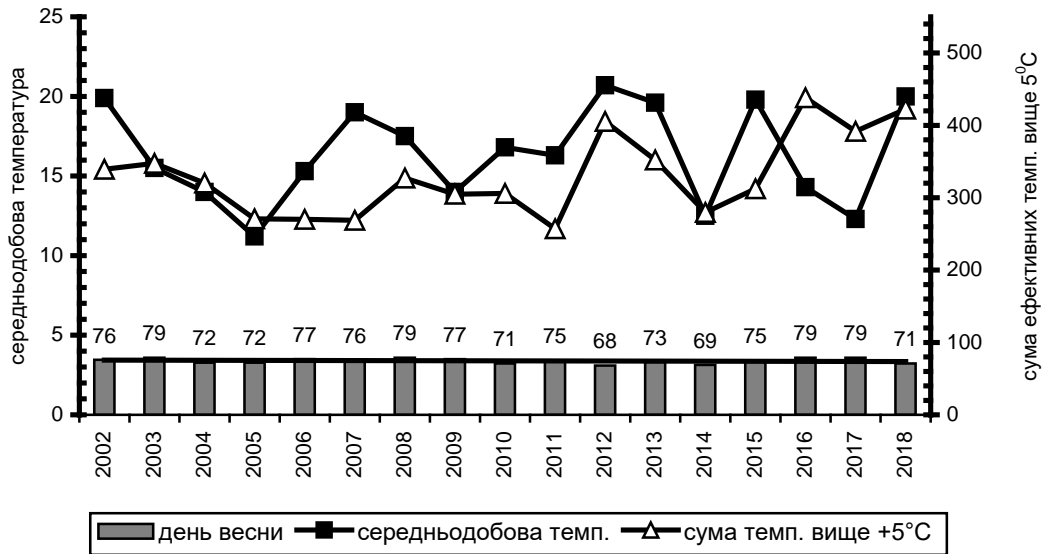


Рис. 2. Температурні показники на початок цвітіння середньоквітучих *Iris hybrida hort.* в умовах Криворіжжя протягом 2002–2018 років

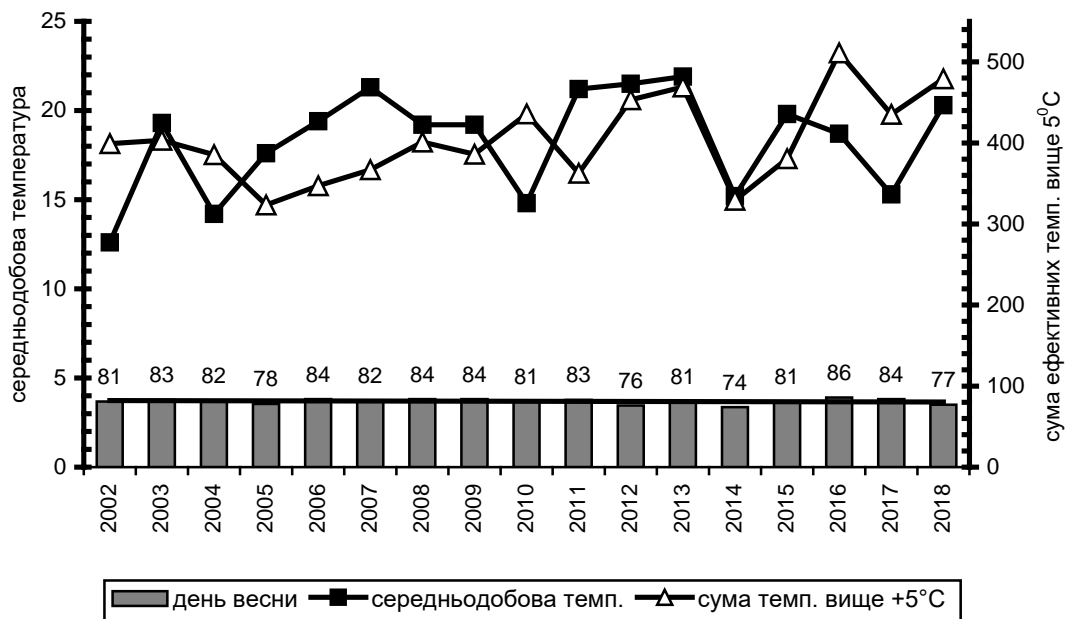


Рис. 3. Температурні показники на початок цвітіння пізньоквітучих *Iris hybrida hort.* в умовах Криворіжжя протягом 2002–2018 років

Отримані дані свідчать, що гібридні півники в кліматичних умовах Криворіжжя в 2002–2018 роках починали квітнути з III декади квітня по III декаду травня, що залежало від терміну (ранньо-, середньо- або пізньоквітучий) цвітіння сорту. Сорти групи ранньоквітучих протягом 2014–2018 рр. починали квітнути на 5–7 дів раніше, ніж у 2002–2008 рр., і відрізнялися найбільш широкими

межами варіюванням показників температурного режиму на початок цвітіння. Суми ефективних температур для даної фази генеративного розвитку значуще відрізнялися між групами сортів раннього (170–340°C) і пізнього квітування (330–480°C), тоді як середньоквітучі сорти за змін погодних умов наближувалися до ранньо- або пізньоквітучих зразків. Таким чином, найбільший консерватизм у розвитку виявляли сорти пізнього квітування, які за змін температурного режиму на Криворіжжі незмінно починали квітнути в останню декаду травня. Розрахунки регресійної залежності початку фази квітування від суми ефективних температур повітря вище 5°C показали наявність прямого зв'язку середньої сили (коефіцієнт кореляції 0,48).

Визначення періоду найвищого декоративного ефекту (початок масового квітування, тривалість цвітіння) дало можливість констатувати, що найбільш значними змінами за період дослідження відрізнявся розвиток ранньоквітучих сортів (табл. 1).

Таблиця 1.
Особливості цвітіння *Iris hybrida hort.* у різні роки (2002–2018 рр.), Криворізький ботанічний сад НАНУ

Показник	Період спостережень, роки		
	2002–2008	2009–2013	2014–2018
Ранньоквітучі сорти			
Початок цвітіння, дата	3.05	30.04	28.04
День весни*	64 ± 4	59 ± 4	59 ± 2
Масове цвітіння, дата	8.05	4.05	1.05
День весни*	68 ± 3	65 ± 2	62 ± 5
Тривалість цвітіння, діб	15 ± 7	13 ± 6	11 ± 4
Середньоквітучі сорти			
Початок цвітіння, дата	13.05	11.05	13.05
День весни*	74 ± 6	72 ± 5	74 ± 3
Масове цвітіння, дата	18.05	17.05	19.05
День весни*	80 ± 5	78 ± 7	81 ± 3
Тривалість цвітіння, діб	20 ± 6	18 ± 5	16 ± 5
Пізньоквітучі сорти			
Початок цвітіння, дата	22.05	19.05	20.05
День весни*	83 ± 4	80 ± 7	81 ± 2
Масове цвітіння, дата	27.05	23.05	25.05
День весни*	88 ± 5	84 ± 6	86 ± 6
Тривалість цвітіння, діб	18 ± 4	18 ± 4	16 ± 5

Примітка: * день весни – кількість днів від 1.03 до початку і масового цвітіння.

Так, масове квітування сортів даної групи за середніми показниками у 2014–2018 роках починалося раніше на 7 діб, ніж у 2002–2008 роках. При цьому зменшується період квітування: у 2002–2008 роках цей показник найбільше становив 22 доби, у 2014–2018 роках – тільки 15 діб. На відміну від ранніх, пізньоквітучі сорти за даний період досліджень не виявляють значних відмінностей у термінах настання масового квітування. Достовірно не змінюється і тривалість цвітіння сортів даної групи. Сорти середнього терміну, при зменшенні тривалості загального цвітіння в 1,2 рази, останні 17 років масово квітнути починали незмінно наприкінці другої декади травня. Тривалість квітування дещо скорочується різким підвищенням денних температур повітря, однак сила їх впливу незначна (коефіцієнт кореляції 0,17).

Незважаючи на виявлені окремі негативні наслідки розвитку гібридних півників за кліматичних змін на Криворіжжі (зменшення загального декоративного ефекту), були визначені сорти різного терміну квітування з різноманітними декоративними ознаками, які протягом довготривалого інтродукційного дослідження відрізнялися найбільшою тривалістю цвітіння. Так, ранні сорти, висотою 30–40 см – Ballet Lesson (персиково-рожевий), Bright White (білий), Lenen Lemont (двоколірний жовтий з бузковим), Jazzamatazz (двоколірний лимонний з коричневим), Stockholm (жовто-коричневий), Bright White (темно-пурпуровий), Star Shine (ніжно-блакитний) –

суттєво не зменшили цвітіння і здатні створити в наших кліматичних умовах декоративний ефект до 18 діб. Середньоквітучі сорти, висотою 65–90 см – Blue Baron (біло-блакитний), Chardotta (чорно-фіолетовий), Bazaar (буряковий з великою білою плямою), Bronze Shield (золотисто-коричневий), Ultrapolse (насичено-жовтий), Богдан Хмельницький (рожево-малиновий), Ленинградские Ночи (аквамариновий), Румяное Утро (лососево-рожевий) – квітуть 21–23 доби. Пізні сорти, висотою 60–80 см, такі як: Brasilia (коричнево-буряковий), Rippling Rose (білий з фіолетовою облямівкою), Siva-Siva (золотисто-коричневий), Blue Shimmer (блакитний з білою плямою), Grand Canyon (фіолетово-коричневий), Белый Сфинкс (чисто-білий), Ветер Пустыни (ніжно-коричневий) – загалом квітуть до 24 діб.

Гібридні півники в кліматичних умовах Криворіжжя характеризуються значним адаптивним потенціалом та здатністю пристосовуватись до змін температурного режиму, фенологічні ритми вивчених видів і культиварів відповідають вегетаційному періоду степової зони України, але температура не є головним фактором, що обумовлює розвиток їх генеративної сфери. Проведена робота свідчить про необхідність подальших досліджень з метою поглиблення одержаних даних та визначення чинника з можливим лімітуючим впливом на ріст рослин. Це допоможе в подальшому розробити детальний агротехнічний догляд за культурою в умовах степової зони України і скласти районований список сортів з найкращими показниками декоративних якостей.

Висновки

1. В наших кліматичних умовах гібридні півники починали цвітіння за різноманітних показників середньодобової температури повітря (від 9°C до 24°C) та накопичення суми ефективних температур вище 5°C: для ранніх в межах 170–340°C, для середніх – від 260 до 440°C, для пізніх – від 310 до 500°C. Розрахунки регресійної залежності початку фази квітіння від суми ефективних температур повітря вище 5°C показали наявність прямого зв'язку середньої сили (коефіцієнт кореляції 0,48).

2. Сорти раннього цвітіння у 2014–2018 роках масово почали квітнути на 7 діб раніше, ніж 17 років тому, при зменшенні тривалості декоративного ефекту у 1,5 рази. Сорти середнього терміну квітіння при зменшенні загального цвітіння (у 1,2 рази) останні 17 років масово починали незмінно квітнути наприкінці другої декади травня. Пізні сорти за даний період досліджень не виявляють значних відмінностей у розвитку генеративної сфери, значуще не змінюється і період цвітіння сортів даної групи.

3. При використанні сортів гібридних півників з різними термінами цвітіння в умовах Криворіжжя можна отримати декоративний ефект з останньої декади квітня до початку червня протягом 30–40 діб. З урахуванням широкої гами декоративних ознак, які притаманні нашим колекційним зразкам, є можливість збагатити різноманіття весняних ландшафтів культурфітоценозів нашого регіону інтродуцентами з найвищим рівнем адаптації та широкою амплітудою декоративних ознак.

Список літератури / References

- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – Москва: Агропромиздат, 1985. – 351с. /Dospikhov B.A Field experiment method (with the basics of statistical processing of research results). – Moscow: Agropromizdat, 1985. – 351p./
- Друге національне повідомлення України з питань зміни клімату. – Київ: Інтерпрес ЛТД, 2006. – 79с. /The second national report of Ukraine on climate change. – Kyiv: Interpres LTD, 2006. – 79p./
- Екологічна енциклопедія / За ред. А.В.Толстоухова. – Київ: ТОВ «Центр екологічної освіти та інформації», 2008. – Т.3. – С. 283–284. /Environmental Encyclopedia. – Kyiv: Center for Environmental Education and Information, 2008. – Vol.3. – P. 283–284./
- Зайцев Г.Н. Фенология древесных растений. – Москва: Наука, 1981. – 120с. /Zaitsev G.N. Phenology of tree plants. – Moscow: Nauka, 1981. – 120p./
- Зайцев Г.Н. Оптимум и норма в интродукции растений. – Москва: Наука, 1983. – 269с. /Zaitsev G.N. Optimum and norm in the introduction of plants. – Moscow: Nauka, 1983. – 269p./
- Ирисы / Под ред. Г.И.Родионенко. – Москва: Колос, 1981. – 156с. /Iris / Ed. G.I.Rodionenko. – Moscow: Kolos, 1981. – 156p./
- Казakov В.Л., Паранько І.С., Сметана М.Г. Природнична географія Кривбасу. – Кривий Ріг: КДПУ, 2005. – 156с. /Kazakov V.L., Paranko I.S., Smetana M.H. Natural geography of Kryvbas. – Kryvyi Rig: KDFU, 2005. – 156p./
- Кирпичева Л.Ф. Біоморфологічні особливості *Iris hybrida* hort. в умовах Передгірної зони Криму. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Ялта, 2013. – 21с. /Kirpicheva L.F. Biomorphological features of *Iris hybrida*

hort. in the conditions foothills of the Crimea. Abstract of the dissertation of the candidate of biological sciences. – Yalta, 2013. – 21p./

Рекомендації Совета ботсадов СССР. – Київ: Наукова думка, 1990. – 184с. /Recommendations of the Council of the USSR Botanical Gardens. – Kiev: Naukova dumka, 1990. – 184p./

Родионенко Г.И. Ирисы. – Ленинград: Агропромиздат, 1988. – 159с. /Rodionenko G.I. Irises. – Leningrad: Agropromizdat, 1988. – 159p./

Родионенко Г.И. Ирисы. – Санкт-Петербург: ООО «Диамант», 2002. – 190с. /Rodionenko G.I. Irises. – St.-Petersburg: Diamant Ltd., 2002. – 190p./

Румшинский Л.З. Математическая обработка результатов эксперимента. – М.: Наука, 1971. – 192с. /Rumshinsky L.Z. Mathematical processing of experimental results. – Moscow: Nauka, 1971. – 192p./

Сайт погоди. Електронний ресурс. (<http://rp5.ua>). /Weather site. Electronic resource./

Чипиляк Т.Ф., Мазура М.Ю., Береславська О.О., Лещенюк О.М. Квітничково-декоративне оформлення парків та скверів м. Кривий Ріг. Рекомендації щодо його поліпшення // Науковий вісник НЛТУ України: збірник науково-технічних праць. – 2014. – Вип.24.4. – С. 164–169. /Chypylyak T.F., Mazura M.Yu., Bereslavska O.O., Leshchenyuk O.M. Flower design of parks and squares in the city of Kryvyi Rih. Recommendations for improvement // Scientific Herald of NLTU of Ukraine: Collection of scientific and technical works. – 2014. – Vol.24.4. – P. 164–169./

Швец Т.А. Біологічні особливості видів роду *Iris* L. у зв'язку з інтродукцією в умови Правобережного Лісостепу України. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 2006. – 20с. /Shvets T.A. Biological features of species of the genus *Iris* L. in connection with introduction in the conditions of the Right-bank Forest-steppe of Ukraine. Abstract of the dissertation of the candidate of biological sciences. – Kiev, 2006. – 20p./

Шевченко І.В. Биоморфологические особенности видов и сортов *Iris* L. в культуре на юге Среднерусской возвышенности. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Белгород, 2013. – 19с. /Shevchenko I.V. Biomorphological features of species and varieties of *Iris* L. in culture in the south of the Central Russian Upland. Abstract of the dissertation of the candidate of biological sciences. – Belgorod, 2013. – 19p./

Шипунова В.О., Маханько І.В. Прояв глобального потепління на території Криворіжжя. Географічні дослідження Кривбасу. Фізична географія, економічна і соціальна географія, геоекологія, історична географія, викладання географії: матеріали кафедральних науково-дослідних тем. – 2006. – Вип.1. – С. 7–11. /Shipunova V.O., Makhan'ko I.V. The manifestation of global warming in the territory of Kryvorizhya. Geographical studies of Krivbass. Physical geography, economic and social geography, geoeecology, historical geography, geography teaching: materials of the Department's researches. – 2006. – Vol.1. – P. 7–11./

Представлено: Л.П.Лисогор / Presented by: L.P.Lysogor

Рецензент: В.В.Жмурко / Reviewer: V.V.Zhmurko

Подано до редакції / Received: 13.05.2019

Про автора: Т.Ф.Чипиляк – Криворізький ботанічний сад НАН України, вул. Маршака, 50, Кривий Ріг, Україна, 50089, chipiljak@i.ua, <https://orcid.org/0000-0003-2193-5350>

About the author: T.F.Chypylyak – Kryvyi Rih Botanical Garden of NAS of Ukraine, Marshak Str., 50, Kryvyi Rih, Ukraine, 50089, chipiljak@i.ua, <https://orcid.org/0000-0003-2193-5350>

Об авторе: Т.Ф.Чипиляк – Криворожский ботанический сад НАН Украины, ул. Маршака, 50, Кривой Рог, Украина, 50089, chipiljak@i.ua, <https://orcid.org/0000-0003-2193-5350>

••• ГЕНЕТИКА ••• GENETICS •••

УДК: 575.113.3:633.854.78

Генетичний контроль забарвлення крайових квіток мутантних ліній соняшнику К.В.Ведмедєва

Кошик соняшнику (*Helianthus annuus* L.) має різні за формою, призначенням і забарвленням квітки. Метою нашої роботи було проведення генетичної ідентифікації нових джерел світлих типів забарвлення та встановлення генетичного контролю ознаки. Мутант MV4 було схрещено з лініями соняшнику, які мали жовте забарвлення крайових квіток. У другому поколінні було отримано розщеплення за забарвленням крайових квіток 3 : 1. Це вказує на моногенний рецесивний контроль ознаки світлого забарвлення квіток. Для ідентифікації гену, який обумовлює світле забарвлення квіток у мутанта MV4, проведено ряд схрещувань з лініями: КГ108 (ген «*su*» – сірчисте забарвлення), ВА1Б (ген «*ly*» – світло-жовте забарвлення) та КГ107 (ген «*l*» – лимонне забарвлення). У комбінації схрещування КГ108 × MV4 гібриди першого та другого покоління мали світле забарвлення, як і у батьківських ліній. Це свідчить про ідентичність генетичного контролю ознаки сірчисте забарвлення в лініях КГ105 та MV4. У результаті схрещувань MV4 × ВА1 та MV4 × КГ107 отримано у першому поколінні звичайне жовте забарвлення крайових квіток. У другому поколінні комбінації MV4 × ВА1 спостерігали розщеплення за забарвленням крайових квіток у співвідношенні 9 жовтих : 7 світло-жовтих. Отримане співвідношення за забарвленням крайових квіток свідчить про наявність двох окремих генів, що контролюють ці типи забарвлення. У другому поколінні комбінації MV4 × КГ107 спостерігали чотири класи рослин за забарвленням крайових квіток: жовті, оранжеві, світлі та світло-оранжуваті. Розщеплення статистично значуще відповідало співвідношенню 9 : 3 : 3 : 1. Це підтверджує незалежний контроль цих двох забарвлень різними генами з комплементарною взаємодією. Мутант MV5 з лимонним забарвленням крайових квіток схрещено з лінією ЛВО7, рослини якої мають звичайне жовте забарвлення крайових квіток. У першому поколінні було отримано рослини із жовтим забарвленням крайових квіток. У другому поколінні спостерігали розщеплення на два класи: з жовтим та лимонним забарвленням квіток. Це підтверджує гіпотезу моногенного рецесивного контролю ознаки лимонного забарвлення крайових квіток соняшнику в лінії MV5. Проведено ідентифікаційні схрещування ліній з лимонним забарвленням, де материнським компонентом була лінія ЗЛ678, а батьківськими: MV5, Temp234, КГ107, ЛГ11-2, Сл2349, І4RHA274. В усіх нащадків спостерігали лише лимонне забарвлення крайових квіток, що свідчить про однаковий генетичний контроль ознаки геном «*l*».

Ключові слова: лимонне, сірчане, світло-жовте забарвлення крайових квіток; успадкування; лінія; соняшник.

Genetic control of the color of ray flowers in sunflower mutant lines K.V.Vedmedeva

Sunflower (*Helianthus annuus* L.) inflorescences have flowers of various shapes, role and colors. The aim of our work was to study genetic identification of new sources of light types of colors and genetic control of traits. The mutant MV4 was crossed with the lines, which had a yellow color of ray flowers. In the second generation, segregation of colors was obtained, which corresponds to the ratio 3 yellow to 1 light. This indicates monogenic recessive control of the trait of light color. To identify the gene that caused the light color, the mutant MV4 was crossed with the line: KG108 (“*su*” gene – sulfurous color), BA1B (“*ly*” gene – light yellow color), and KG107 (“*l*” gene – lemon color). In the KG108 × MV4 crossing combination, the first and second generation hybrids had a light color that was not visually different from the parents. This testifies to the identity of the genetic control of the trait sulfurous coloration in lines KG105 and MV4. In the crossings MV4 × BA1 and MV4 × KG107 usual yellow coloration of the ray flowers was obtained in the first generation. In the second generation of MV4 × BA1 combination, splitting of colors of ray flowers with a ratio of 9 yellow to 7 light yellow was observed. This ratio indicates the presence of two separate genes that control these types of color. In the second generation of MV4 × KG107 combination, four classes of plants were observed in the coloration of ray flowers: yellow, orange, light and light orange. Splitting reliably corresponded to a ratio of 9 : 3 : 3 : 1. This confirms the independent control of two colors by different genes with complementary interaction. Mutant MV5 with lemon-colored ray flowers was crossed with the line LVO7, the plants of which have the usual yellow color of ray flowers. In the first generation, hybrid plants were obtained with the usual yellow color of ray flowers. In the second generation, splitting into two classes was observed: with yellow and lemon colors of

flowers. This confirms the hypothesis of a monogenic recessive control of the trait of lemon coloration of ray flowers of sunflower in MV5 line. Crossings of lines with lemon coloration was carried out, where the mother component was the line ZL678, and the father ones: MV5, Temp234, КГ107, ЛГ11-2, Sl2349, I4RNA274. In all descendants, only lemon coloration of ray flowers was observed, which indicates the same genetic control of the trait by the gene "l".

Key words: *lemon, sulfurous, light yellow color of ray flowers; inheritance; line; sunflower.*

Генетический контроль окраски краевых цветков мутантных линий подсолнечника К.В.Ведмедева

Соцветие подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) имеет различные по форме, назначению и окраске цветы. Целью нашей работы была генетическая идентификация новых источников светлых типов окраски и установление генетического контроля признака. Мутант MV4 скрещен с линиями подсолнечника, которые имели желтую окраску краевых цветков. Во втором поколении получено расщепление по окраске краевых цветков 3 : 1. Это указывает на моногенный рецессивный контроль признака светлой окраски в этой комбинации. Для идентификации гена, который обуславливает светлую окраску цветков мутанта MV4 проведен ряд скрещиваний с линиями: КГ108 (ген «su» – сернистая окраска), ВА1Б (ген «ly» – светло-желтая окраска) и КГ107 (ген «l» – лимонная окраска). В комбинации скрещивания КГ108 x MV4 гибриды первого и второго поколений имели светлую окраску, которая визуально не отличалась от родителей. Это свидетельствует об идентичности генетического контроля признака сернистая окраска в линиях КГ105 и MV4. В результате скрещиваний MV4 x ВА1 и MV4 x КГ107 получены в первом поколении растения с желтой окраской краевых цветков. Во втором поколении комбинации MV4 x ВА1 наблюдалось расщепление по окраске краевых цветков в соотношении 9 желтых : 7 светло-желтых. Полученное соотношение свидетельствует о наличии двух отдельных генов, контролирующих эти типы окраски. Во втором поколении комбинации MV4 x КГ107 наблюдалось четыре класса растений по окраске краевых цветков: желтые, оранжевые, светлые и светло-оранжеватые. Расщепление статистически значимо соответствовало соотношению 9 : 3 : 3 : 1. Это подтверждает независимый контроль двух типов окраски различными генами с комплементарным взаимодействием. Мутант MV5 с лимонной окраской краевых цветков скрестили с линией ЛВ07, растения которой имеют обычную желтую окраску краевых цветков. В первом поколении получены гибридные растения с желтой окраской краевых цветков. Во втором поколении наблюдали расщепление на два класса: с желтой и лимонной окраской цветков. Это подтверждает гипотезу моногенного рецессивного контроля признака лимонного окрашивания краевых цветков подсолнечника в линии MV5. Проведены идентифицирующие скрещивания линий с лимонной окраской, где материнским компонентом была линия ЗЛ678, а отцовскими: MV5, Temp234, КГ107, ЛГ11-2, Sl2349, I4RNA274. У всех потомков наблюдали лишь лимонную окраску краевых цветков, что свидетельствует об одинаковом генетическом контроле признака геном «l».

Ключевые слова: *лимонная, сернистая, светло-желтая окраска краевых цветков; наследование; линия; подсолнечник.*

Вступ

Соняшник (*Helianthus annuus* L.) – головна олійна культура України. В світі соняшник вирощують і відповідно вивчають вже кілька століть. Найбільш яскрава і помітна ознака – забарвлення квіток. Суцвіття соняшнику – кошик має різні за формою, призначенням і забарвленням квітки. Зовнішній край квіток несе функцію маркеру для комах і відповідно до функції – яскраве забарвлення. Науковці описують різні типи забарвлення, максимально в одному дослідженні до п'яти типів забарвлення (Лобачев и др., 2013). Найчастіше мова йде про два або три типи (Svejić et al., 2016; Шарыпина и др., 2008). Класичним «диким» типом забарвлення, яке домінує над усіма іншими, є жовте. У більшості дослідників встановлено моногенне рецесивне успадкування забарвлень: оранжеве (Leclerg, 1968), лимонне, світло-жовте, сірчане, блідо-жовте (Škorić et al., 2012), абрикосове (Толмачёв, 1998), кремове (Ведмедева, 2011). Часто лінії з встановленим успадкуванням не приймають участі у подальшій генетичній ідентифікації з матеріалом ліній інших досліджень.

Для створення яскравих декоративних форм соняшнику знання генетики цієї ознаки й отримання нових забарвлень квіток вкрай необхідні (Mladenovic et al., 2017). Для селекції гібридів господарського напряму використання цієї ознаки має велике значення, як морфологічний маркер.

Вже відомі приклади використання лимонного та оранжевого типів забарвлення, які дозволяють покращити чистоту насінництва ліній та гібридів (Пимахин, Лобачев, 1994).

З використанням фізичного мутагенезу В.А.Васіним та співавт. (Lyakh et al., 2005) було отримано мутанти за ознакою забарвлення крайових квіток: MV4 зі світло-жовтим забарвленням та MV5 з лимонним забарвленням за візуальним спостереженням.

Мета роботи: генетична ідентифікація нових джерел світлих типів забарвлень та встановлення їх генетичного контролю.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єкт дослідження: закономірності успадкування забарвлення крайових квіток соняшнику. Наявна колекція ліній соняшнику з різними типами забарвлення слугувала матеріалом для проведення генетичної ідентифікації. Мутантні лінії MV4 та MV5, отримані шляхом фізичного мутагенезу (Lyakh et al., 2005), було залучено до системи схрещувань з лініями інших типів забарвлень, успадкування яких вже було встановлено (Толмачев, 1998; Ведмедєва, 2011). У якості джерел звичайного жовтого забарвлення квіток соняшнику були використані селекційні лінії КЛВ80/1, ЗЛ22, ЛВО7, Сх1012 та колекційні ІпК630, ІпК404, Л3138, оранжевого забарвлення крайових квіток – селекційну лінію Л13Б. У якості джерел світлих забарвлень використані лінії зі світло-жовтим забарвленням ВА1 та КГ109, із сірчистим забарвленням КГ108 та КГ105, з лимонним забарвленням КГ107 та ін.

Дослідження проводили у польових умовах за звичайною агротехнологією. У період цвітіння рослини ізолювали, проводили ручну кастрацію упродовж 4–6 діб та схрещували, застосовуючи пилок ізолюваних рослин. Насіння кожної комбінації висівали окремою ділянкою. Гібридні рослини ізолювали нетканими ізоляторами та самозапильовали. Отримане насіння кожного кошику на наступний рік висівали окремою ділянкою. Проводили підрахунок рослин за забарвленням квіток під час цвітіння. Забарвлення квіток визначали візуально, порівнюючи з батьківськими лініями. Підтвердження гіпотез встановлювали за допомогою критерію узгодженості Пірсона (Доспехов, 1985).

Результати та обговорення

Лінія MV4 за візуальною оцінкою забарвлення крайових квітів була описана як така, що має світло-жовте забарвлення. Для встановлення успадкування типу забарвлення крайових квітів мутанту MV4 він схрещений з жовтою багатокошиковою формою КЛВ80/1, яка використовувалась у якості материнського компонента. Оскільки наявність гілкування в цій лінії відома як рецесивна ознака (Vedmedeva, 2019), прояв у першому поколінні багатокошикових рослин дозволив би відбракувати усі негібридні рослини. У першому поколінні від цієї комбінації схрещування було отримано всі рослини з жовтим забарвленням крайових квіток, як у материнської лінії КЛВ80/1, та відсутністю гілкування, як у батьківської лінії MV4. У другому поколінні було отримано розщеплення за обома ознаками і отримано меншу частину рослин із світлим забарвленням крайових квіток. Отримані результати розщеплення представлені у табл. 1. В другому поколінні розщеплення статистично відповідає співвідношенню жовтого та світлого типів забарвлення 3 : 1. Це вказує на моногенний рецесивний контроль ознаки світлого забарвлення крайових квітів соняшнику в цій комбінації.

Для підтвердження отриманих даних було проведено пряме та зворотне схрещування мутанту MV4 з лінією ІпК630, яка мала темно-жовте забарвлення крайових квіток. У цих комбінаціях рослини першого покоління мали звичайне жовте забарвлення, а у другому поколінні чітко виділявся клас рослин зі світлими за забарвленням крайовими квітками. Кількість рослин у другому поколінні з жовтим забарвленням квіток і тих, які мали світле забарвлення квіток, відповідала співвідношенню 3 : 1.

Для встановлення конкретного гена світлого забарвлення було проведено схрещування мутанта MV4 з лініями, які мали світлі забарвлення: КГ108 (ген «*su*» – сірчисте), ВА1Б (ген «*ly*» – світло-жовте), КГ107 (ген «*l*» – лимонне). У комбінації схрещування КГ108 x MV4 гібрид першого покоління мав світле забарвлення, яке візуально не відрізнялось від батьків, хоча рослини були гібридні, на що вказує більша висота і крупність кошику, ніж у батьківських ліній. У другому поколінні розщеплення у рослин цієї комбінації за забарвленням крайових квіток не спостерігалось. Це свідчить про ідентичність генетичного контролю ознаки сірчистого забарвлення в лініях КГ108 та

MV4. У першому поколінні від схрещування MV4 × BA1 отримано звичайне жовте забарвлення крайових квіток. У другому поколінні спостерігали розщеплення за жовтим та світлим забарвленнями крайових квіток у співвідношенні 9 : 7 (табл. 2).

Таблиця 1.

Успадкування світлого і жовтого забарвлення квіток мутанта MV4 при схрещуванні з лініями із жовтим забарвленням

Комбінація схрещування	Фенотип батьків	Фенотип F1	Розщеплення за фенотипом забарвлення в F2		Гіпотеза співвідношення	χ^2
			жовте	світле		
КЛВ80/1 × MV4	жовте × світле	жовте	255	88	3 : 1	0,08
InK630 × MV4	жовте × світле	жовте	201	70	3 : 1	0,10
MV4 × InK630	світле × жовте	жовте	147	43	3 : 1	0,57

Примітка: $\chi^2_{05(k=1)}=3,84$.

Таблиця 2.

Успадкування світлого забарвлення крайових квіток у MV4 при схрещуванні з лініями зі світлим забарвленням квіток

Комбінація схрещування	Фенотип батьків	Фенотип F1	Розщеплення за фенотипом забарвлення в F2			Гіпотеза співвідношення	χ^2
			жовте	світле	лимонне		
MV4 × BA1	світле × світло-жовте	жовте	47	31	-	9 : 7	0,51
КГ107 × MV4	лимонне × світле	жовте	24	10	6	9 : 4 : 3	0,40

Примітка: $\chi^2_{05(k=1)}=3,84$; $\chi^2_{05(k=2)}=5,99$.

Світло-жовте і сірчисте забарвлення візуально відрізнити складно. Кількість нащадків для встановлення чотирьох класів розщеплення потрібна більша, тому за наявною кількістю рослин ми обмежили опис двома класами. Раніше вже було наведено результати взаємодії генів «*su*» та «*ly*» (Толмачев, 1998). Ця взаємодія описана як комплементарна, з виділенням ще більш світлого за забарвленням крайових квіток класу рослин. Отримане співвідношення світлих та жовтих за забарвленням крайових квіток рослин у другому поколінні свідчить про наявність двох окремих генів, що контролюють ці типи забарвлень.

Для повноти досліджень було проаналізовано схрещування з лінією КГ107, яка має ще один тип світлого забарвлення квіток – лимонне, обумовлене геном «*l*». Отримані рослини першого покоління мали жовте забарвлення крайових квіток. У другому поколінні серед нащадків спостерігали три класи рослин за забарвленням крайових квіток: жовте, світле та лимонне у співвідношенні 9 : 4 : 3. Отримане співвідношення свідчить про наявність двох окремих генів, що контролюють ці типи забарвлень.

Серед основних типів забарвлення крайових квіток багато дослідників доповідали про оранжеве забарвлення. Тому до схрещувань з лінією MV4 залучено лінію Л13, яка мала оранжеве забарвлення крайових квіток. При схрещуванні MV4 × Л13 отримано гібриди першого покоління з жовтим забарвленням крайових квіток. У другому поколінні спостерігали розщеплення з чотирма типами забарвлення крайових квіток: жовті, оранжеві, світлі та світло-оранжуваті. Розщеплення статистично значуще відповідало співвідношенню 9 : 3 : 3 : 1 (табл. 3). Це підтверджує незалежний

контроль світло-жовтого та оранжевого забарвлення різними генами з комплементарною взаємодією.

Мутант MV5 мав більш світле забарвлення крайових квіток, тому визначений як зразок з лимонним забарвленням. Крім цієї лінії, в нашій колекції були наявні лінії, створені в селекційній та колекційній роботі з таким самим забарвленням. Успадкування ознаки в лініях M19 та КГ107 описано в наукових публікаціях (Ведмедева, 2009). Для встановлення характеру успадкування забарвлення крайових квіток мутанта MV5 було проведено схрещування з лінією ЛВО7, рослини якої мають звичайне жовте забарвлення крайових квіток. У першому поколінні отримано рослини зі звичайним жовтим забарвленням крайових квіток. У другому поколінні спостерігали розщеплення нащадків на два класи: з жовтим та лимонним забарвленням квіток. Отримані результати статистично значуще відповідають співвідношенню 3 : 1 (табл. 4). Це підтверджує гіпотезу про моногенний рецесивний контроль ознаки лимонного забарвлення крайових квіток соняшнику в лінії MV5.

Таблиця 3.

Успадкування світлого забарвлення крайових квітів MV4 при схрещуванні з лінією Л13 з оранжевим забарвленням квіток

Комбінація схрещування	Фенотип батьків	Фенотип F1	Розщеплення за фенотипом забарвлення в F2				Гіпотеза співвідношення	χ^2
			жовте	оранжеве	світло-жовте	світло-оранжевате		
Л13 x MV4	оранжеве x світле	жовте	82	21	25	8	9 : 3 : 3 : 1	1,23

Примітка: $\chi^2_{05(k=3)}=7,81$.

Таблиця 4.

Успадкування лимонного забарвлення у схрещуваннях з лініями з жовтим забарвленням квіток

Комбінація схрещування	Фенотип батьків	Фенотип F1	Розщеплення за фенотипом забарвлення в F2		Гіпотеза співвідношення	χ^2
			жовте	лимонне		
ЛВО7 x MV5	жовте x лимонне	жовте	57	17	3 : 1	0,16
Сх1012 x І4RHA274	жовте x лимонне	жовте	129	32	3 : 1	2,25
І4RHA274 x ІnK404	лимонне x жовте	жовте	59	23	3 : 1	0,41
L3138 x M19	жовте x лимонне	жовте	95	42	3 : 1	2,34
КГ107 x КЛВ80	лимонне x жовте	жовте	207	60	3 : 1	0,91
ЗЛ22 x ЗЛ678	жовте x лимонне	жовте	52	20	3 : 1	0,30

Примітка: $\chi^2_{05(k=1)}=3,84$.

Проведено схрещування між лініями, які мали лимонне забарвлення квіток, і лініями зі звичайним жовтим забарвленням. Це комбінації схрещувань: Сх1012 x І4RHA274, І4RHA274 x

InK404, L3138 × M19, KГ107 × КЛВ80, ЗЛ22 × ЗЛ678. Отримані розщеплення у другому поколінні усі статистично значуще відповідали співвідношенню рослин з жовтим та лимонним забарвленням крайових квіток як 3 : 1. Усі лінії з лимонним забарвленням крайових квіток разом з лінією-мутантом MV5 були включені в ідентифікаційні схрещування, проведені виключно між рослинами з лимонним забарвленням крайових квіток. Було отримано потомство першого та другого покоління від комбінацій схрещування, де материнським компонентом була лінія ЗЛ678, а батьківськими: MV5, Temp234, KГ107, ЛГ11-2, Сл2349, I4RNA274. В усіх нащадків спостерігали лише лимонне забарвлення крайових квіток, що свідчить про однаковий генетичний контроль цієї ознаки у лінії MV5 та п'яти інших ліній, включених до схрещування. Раніше була проведена ідентифікація ще ряду ліній з таким самим лимонним забарвленням крайових квіток з використанням лінії I4RNA274 в якості материнської. Було отримано такі самі результати (Ведмедева, 2009). Це свідчить про досить широке розповсюдження цього типу забарвлення у колекціях. В колекції ІОК НААН наявні кілька ліній з лимонним забарвленням крайових квіток, створених із застосуванням мутагенезу. Лінія MV5 отримана шляхом фізичного мутагенезу з лінії ЗЛ102, яка мала жовте забарвлення крайових квіток. Лінія ЗЛ678 отримана з використанням фізичного мутагенезу з американської лінії. Лінія соняшнику M19 є спонтанним мутантом, який виявлено на ділянці розмноження селекційної лінії КЛВ80/1. Практично в усіх дослідженнях, пов'язаних з мутагенезом соняшнику, було виділено лінії зі зміненим забарвленням крайових квіток, і більшість дослідників називають цю ознаку лимонним забарвленням (Lyakh et al., 2005; Svejić et al., 2016; Лобачев и др., 2013).

Висновок

Встановлено моногенний рецесивний генетичний контроль ознаки світлого забарвлення крайових квіток мутантної лінії соняшнику MV4. Шляхом ідентифікаційних схрещувань встановлено, що світле забарвлення крайових квіток лінії MV4 обумовлено геном, позначеним як «su» – сірчисте забарвлення крайових квіток. Встановлено, що рецесивний алель гену «su» має комплементарну взаємодію з генами, рецесивний стан яких обумовлює світло-жовте, оранжеве та лимонне забарвлення крайових квіток соняшнику.

Встановлено моногенний рецесивний контроль ознаки лимонного забарвлення крайових квіток соняшнику в лінії мутантного походження MV5. Встановлено ідентичність рецесивного алелю гену «l», якій обумовлює лимонне забарвлення крайових квіток, у лініях MV5, Temp234, KГ107, ЛГ11-2, Сл2349, I4RNA274, ЗЛ678.

Список літератури / References

- Ведмедева К.В. Успадкування відмінностей за забарвленням крайових квіток соняшнику // Збірник наукових праць СГП – НЦНС. – Одеса, 2011. – Вип.17 (57). – С. 120–125. /Vedmedeva K.V. Inheritance of the color differences of sunflower ray flowers // Collection of scientific papers of PBGI – NCSCI. – Odessa, 2011. – Issue 17 (57). – P.120–125./
- Ведмедева К.В. Вплив окремих мутацій забарвлення крайових квіток соняшнику на морфологічні та селекційно-цінні ознаки ліній соняшнику // Генетичні ресурси. – 2009. – №7. – С. 150–156. /Vedmedyeva K.V. The influence of individual mutations in the coloration of ray flowers of sunflower on the morphological and selectively valuable characteristics of sunflower lines // Genetic Resources. – 2009. – No.7. – P. 150–156./
- Доспехов В.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Агропромиздат, 1985. – 351с. /Dospikhov V.A. Methods of field experiment (with the basics of statistical processing of research results). – M.: Agropromizdat, 1985. – 351p./
- Лобачев Ю.В., Курасова Л.Г., Иманова Д.И. Наследование окраски и формы язычковых цветков и окраски листа у подсолнечника // Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – №3. – С. 63–64. /Lobachev Yu.V., Kurasova L.G., Imanova D.I. Inheritance of color and shape of ray flowers and leaves color in sunflower // International Journal of Experimental Education. – 2013. – No.3. – P. 63–64./
- Пимахин В.Ф., Лобачев Ю.Г. Использование маркерных признаков у подсолнечника // Генетика. – 1994. – Т.30. Приложение. – С.121. /Pimakhin V.F., Lobachev Yu.G. The use of marker features in sunflower // Genetics. – 1994. – Vol.30. Appendix. – P.121./
- Толмачёв В.В. Наследование и взаимодействие генов неантоциановой пигментации язычковых цветков подсолнечника // Научно-техн. бюл. Института олійних культур УААН. – 1998. – Вип.3. – С. 75–81. /Tolmachov V.V. Inheritance and interaction of genes of non-anthocyan pigmentation of reed flowers of sunflower // Scientific and Technical Bulletin of the Institute of Oilseed Crops of NAAS. – 1998. – Issue 3. – P. 75–81./
- Шарыпина Я.Ю., Попов В.Н., Долгова Т.А., Кириченко В.В. Изучение наследования морфологических признаков подсолнечника 1. Генетический контроль окраски ложноязычковых

- цвєткєв, вєтвистєстє и вєстєновлєнєя фєртєлєнєстє пылєцы // Цитєлєгєя и гєнєтєкє. – 2008. – Т.42, №5. – С. 47–53. /Sharypina Ya.Yu., Popov V.N., Kirichenko V.V. Study of inheritance of morphological traits in sunflower. 1. Genetic control of sunflower flower pigmentation, branchiness and restoration of pollen fertility // Cytology and Genetics. – 2008. – Vol.42, no.5. – P. 47–53./
- Cvejić S., Jocić S., Mladenović E. Inheritance of floral color and type in four new inbred lines of ornamental sunflower (*Helianthus annuus* L.) // The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. – 2016. – No.91 (1). – P. 30–35.
- Leclerg P. Heredity de quelques caracteres qualitatifs chez le tournesol // Ann. Amelior. Plants. – 1968. – No.18. – P. 307–315.
- Lyakh V., Soroka A., Vasin V. Influence of mature and immature sunflower seed treatment with ethylmethanesulphonate on mutation spectrum and frequency // Helia. – 2005. – Vol.28, no.43. – P.87–98.
- Mladenovic E., Cvejic S., Jovic S. et al. Variability of morphological characters among ornamental sunflower collection // Genetika. – 2017. – No.49 (2). – P. 573–582.
- Škorić D., Seiler G. J., Zhao L. et al. Sunflower breeding. – Novi Sad, Serbia: Serbian Academy of Science and Arts, 2012. – P. 165–354.
- Vedmedeva K. Inheritance of top branching in sunflower (*Helianthus annuus* L.) collection samples // Helia. – 2019. – Ahead of print. – Published online: 02/28/2019.

Представлено: В.О.Лях / Presented by: V.O.Lyakh
Рецензент: О.Ю.Герман / Reviewer: O.Yu.German
Подано до редакції / Received: 13.04.2019

Про автора: К.В.Ведмедева – Інститут олійних культур Національної академії аграрних наук України, вул. Інститутська, 1, с. Сонячне, Запорізька обл., Україна, 69093, vedmedeva.katerina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4571-2960>

About the author: K.V.Vedmedeva – Institute of Oil Cultures of the National Academy of Sciences of Ukraine, Institutskaya Str., 1, Sonyachne, Zaporizhzhia Region, Ukraine, 69093, vedmedeva.katerina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4571-2960>

Об авторе: К.В.Ведмедева – Институт масличных культур Национальной академии аграрных наук Украины, ул. Институтская, 1, пос. Солнечный, Запорожская обл., Украина, 69093, vedmedeva.katerina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4571-2960>

УДК: 575.224.2+575.113.2]:616.36-008.51

Аналіз низькофункціональної алелі 7(TA) гена *UGT1A1* серед вибірки практично здорових осіб західного регіону України

І.Є.Гайбонюк, Г.В.Макух

Синдром Жильбера (негемолітична анемія) – патологічний стан, зумовлений порушенням здатності ферменту (уридиндифосфат-глюкуронозилтрансфераза) розщеплювати білірубін на нетоксичні сполуки, який спричинений мутаціями в гені *UGT1A1*, найпоширенішими з яких є інсерції TA повторів у промоторній ділянці. Такі порушення спричиняють постійно високий рівень прямого білірубину в крові, який є високотоксичним, що і зумовлює прояви симптомів. Патологія не потребує терапії, але збільшує ризик розвитку багатьох супутніх захворювань та вимагає особливого підходу при призначенні терапії будь-якими препаратами. Частота захворювання у різних країнах коливається в межах від 0,6% до 43%. В Україні таких генетичних досліджень ще не проводили, тому частота не відома. Таким чином, метою роботи є на основі аналізу даних літератури зробити висновки про поширеність алелей ризику синдрому Жильбера у світі, їх асоціацію із різними патологічними станами, а також встановити частоту низькофункціональної алелі та різних генотипів локусу TA[A(TA)₆TAA] гена *UGT1A1* серед жителів західного регіону України. Матеріалом дослідження була тотальна ДНК 130 практично здорових жителів західного регіону України, виділена методом висолювання. Ампліфікацію ДНК проводили в автоматичному режимі методом ПЛР з подальшим аналізом у 10% ПААГ та HRM аналізом (плавлення з високою роздільною здатністю). У результаті досліджень виявлено, що частота алелі ризику 7(TA) становить 34,3%, частота алелі предкового типу 6(TA) – 65,7%. Частота мутантного генотипу в гомозиготному стані становить 14,6%, що співпадає з даними літератури. Для країн Європи частота мутантного генотипу знаходиться в межах 8–18 %, отже, дані наших досліджень співпадають з результатами популяційних досліджень жителів європейських країн. Також слід зазначити, що у цих 14,6% осіб є високий ризик розвитку супутніх захворювань, таких як колоректальний рак у чоловіків, рак молочної залози у жінок, захворювання шлунково-кишкового тракту, біліарний калькульоз та утворення каменів у нирках. Таким чином, є доцільним проведення молекулярно-генетичного аналізу 7(TA) алелі (алелі ризику розвитку синдрому Жильбера) гена *UGT1A1* серед пацієнтів з гіпербілірубінемією невстановленого ґенезу для діагностики синдрому Жильбера.

Ключові слова: синдром Жильбера; ген *UGT1*; глюкуронозилтрансфераза; негемолітична анемія; білірубін.

Analysis of the low functional allele 7(TA) of the *UGT1A1* gene in healthy population in the Western region of Ukraine

I.Ye.Haiboniuk, H.V.Makukh

Gilbert's syndrome, GS (non-hemolytic anemia) is a pathological condition caused by enzyme (uridine diphosphate glucuronosyltransferase) failure to degrade bilirubin because of *UGT1A1* gene mutations, which generally are TA insertions in the promoter region. Disorder entails constantly high level of bilirubin in the blood, and its toxicity causes symptoms manifestation. The pathology doesn't require therapy, but it increases the risk of concomitant disorders and requires a special approach when prescribing therapy with drugs. The frequency of Gilbert's syndrome ranges from 0.6% to 43% worldwide, the frequency in Ukraine is not known exactly. Thus, the aim of the work was, based on analysis of published data, to study the world distribution of Gilbert's syndrome risk alleles, to find their associations with other pathological conditions, and to establish the frequency of the low-functional allele and various genotypes in TA [A(TA)₆TAA] locus of *UGT1A1* gene among residents of the Western region of Ukraine. Blood samples from 130 healthy residents of the Western region of Ukraine were collected, DNA samples were isolated by salting method. DNA amplification was performed by PCR followed by 10% PAG analysis and HRM analysis (high resolution melting). The pathogenic allele frequency was 34.3%, the frequency of the ancestral allele was 65.7%. The frequency of the mutant homozygous genotype was 14.6%, which coincides with published data. The frequency of the mutant genotype equals 8–18% for European countries, so our data coincide with results of population studies of European countries residents. It should be noted that these 14.6% of population are of high risk of concomitant disorders, such as colorectal cancer in men, breast cancer in women, diseases of the gastrointestinal tract, biliary calculus and formation of kidney stones. Thus, it is advisable to analyze 7(TA) alleles (risk alleles for Gilbert's syndrome) of the *UGT1A1* gene in patients with hyperbilirubinemia of undetermined origin to diagnose Gilbert's syndrome.

Key words: Gilbert's syndrome; *UGT1* gene; glucuronosyltransferase; non-hemolytic anemia; bilirubin.

Анализ низкофункциональной аллели 7(TA) гена *UGT1A1* среди здоровых людей западного региона Украины И.Е.Гайбонюк, Г.В.Макух

Синдром Жильбера (негемолитическая анемия) – патологическое состояние, обусловленное нарушением способности фермента (уридиндифосфат-глюкуронозилтрансфераза) расщеплять билирубин до нетоксичных соединений, которое вызвано мутациями в гене *UGT1A1*, самыми распространенными из которых являются инсерции TA повторов в промоторной области. Такие нарушения приводят к постоянно высокому уровню прямого билирубина в крови, который является высокотоксичным, что и обуславливает проявление симптомов. Патология не требует терапии, но увеличивает риск развития многих сопутствующих заболеваний и требует особого подхода при назначении терапии любыми препаратами. Частота заболевания в разных странах колеблется от 0,6% до 43%. В Украине таких генетических исследований еще не проводили, потому частота не известна. Таким образом, целью работы является на основе анализа данных литературы сделать выводы о распространенности аллелей риска синдрома Жильбера в мире, их ассоциации с различными патологическими состояниями, а также установить частоту низкофункциональной аллели и различных генотипов локуса TA[A(TA)₆TAA] гена *UGT1A1* среди жителей западного региона Украины. Материалом для исследования была тотальная ДНК 130 практически здоровых жителей западного региона Украины, выделенная методом высаливания. Амплификацию ДНК проводили методом ПЦР с последующим анализом в 10% ПААГ и анализом HRM (плавление с высоким разрешением). В результате исследований выяснено, что частота аллели риска 7(TA) составляет 34,3%, частота аллели предкового типа составляет 65,7%. Частота мутантного генотипа в гомозиготном состоянии составляет 14,6%, что совпадает с данными литературы. Для стран Европы частота мутантного генотипа находится в пределах 8–18 %; данные наших исследований совпадают с результатами популяционных исследований жителей европейских стран. Также следует отметить, что у 14,6% лиц имеется высокий риск развития сопутствующих заболеваний, таких как колоректальный рак у мужчин, рак молочной железы у женщин, заболевания желудочно-кишечного тракта, билиарный калькулез и образование камней в почках. Таким образом, целесообразно проводить молекулярно-генетический анализ 7(TA) аллели (аллели риска развития синдрома Жильбера) гена *UGT1A1* среди пациентов с гипербилирубинемией неустановленного генеза для диагностики синдрома Жильбера.

Ключевые слова: синдром Жильбера; ген *UGT1*; глюкуронозилтрансфераза; негемолитическая анемия; билирубин.

Вступ

Ген *UGT1* розташований на короткому плечі 2-ї хромосоми. Він кодує уридиндифосфат-глюкуронозилтрансферази (UGT) – сімейство ферментів, відповідальних за глюкуронідацію численних ендобіотиків, ксенобіотиків та лікарських засобів. Глюкуронідація – це процес біотрансформації субстрату до водорозчинних, переважно нетоксичних продуктів, готових до виведення з організму. Надсімейство UGT людини поділено на чотири сім'ї: UGT1A, UGT2, UGT3 та UGT8. Сімейство UGT1A кодується геном *UGT1A*, розташованим на хромосомі 2q37. Цей ген на 5'-кінці має 13 змінних екзонів та чотири консервативні екзони на 3'-кінці. Кожен з 13 екзонів має свої ТАТА бокси промотору (місця приєднання транскрипційних факторів). Чотири перших екзони з 13 є псевдоекзонами, а решта дев'ять з 5'-кінця можуть піддаватись альтернативному сплайсингу, внаслідок чого утворюються дев'ять транскриптів (UGT1A1, UGT1A3 до UGT1A10) з різними N-термінальними та консервативними C-термінальними кінцями. Змінений перший екзон забезпечує специфічність субстрату, тоді як висококонсервативні екзони кодуєть послідовності для взаємодії з глюкуроноювою кислотою UDP як загальним субстратом. Ген *UGT1A1* експресується в печінці, товстій кишці, кишечнику та шлунку. Фермент UGT1A1 відіграє головну роль у глюкуронідації білірубину. Не існує альтернативних метаболічних шляхів для ефективної детоксикації та виведення білірубину.

В даний час описано понад 130 варіантів *UGT1A1*, які можуть спричиняти синдром Жильбера (GS), синдром Кріглера-Найджара 1 та 2 типу. Патогенні варіанти описані як в кодуючій, так і промоторній ділянках генів, але найпоширенішими є різна кількість повторів TA в промоторі гена *UGT1A1* (положення 53 (*28; A(TA)₆TAA до A(TA)₇TAA)). Транскрипційна активність гена *UGT1A1* і, отже, активність ферменту UGT1A1, залежить від кількості цих повторів. Предковий тип *UGT1A1* містить шість повторень TA[A(TA)₆TAA] у своїй промоторній області. Більша кількість TA повторів (7 чи 8, найчастіше 7 TA-повторів) спричиняє зниження активності ферментів. Ці алелі називають ще

*UGT1A1**28. Наявність алелі *UGT1A1**28 в гетерозиготному стані призводить до зниження експресії гена на 25%, а гомозиготний стан цього варіанту знижує активність транскрипції на 70%. Це призводить до розвитку легкої форми переривчастої некон'югованої гіпербілірубінемії, при якій немає гемолізу або гепатоцелюлярного ушкодження. Тому шість повторів TA в промоторі гена *UGT1A1* вважаються нормою, а сім або вісім повторів TA відповідають за розвиток GS (алель GS ризику). Синдром Жильбера не потребує терапії, але носіям алелей ризику в гомо- чи гетерозиготному стані не рекомендується голодування, стреси, сильні фізичні навантаження, та є певні особливості щодо фармакокінетики ряду лікарських засобів. Для встановлення етіологічного чинника гіпербілірубінемії у людини, діагностика та наявність низькофункціональної алелі 7(TA) гена *UGT1A* допомагає встановити причину порушень та уникнути зайвих медикаментозних втручань у пацієнта.

Синдром Жильбера – поширена патологія в світі. Вона зустрічається у 2–10 % європейців, кожного 30-го азіата, а найчастіше виявляється у африканців (у кожного третього). Частота різних алелей гена *UGT1A* значно різниться в різних популяціях та етнічних групах. Так, серед жителів європейських країн частота коливається від 3 до 18%, для східних країн складає 11–20 %, а серед жителів Великобританії варіює від 0,6 до 4%. Маніфестація захворювання припадає на 12–30 років, коли в організмі відбувається спалах продукції статевих гормонів. Чоловіки хворіють в 5–7 разів частіше, що пояснюється впливом чоловічих статевих гормонів на білірубін.

В літературі немає даних щодо поширення різних мутацій та алельних варіантів гена серед українців. Частота низькофункціональних алелей *UGT1A1**28 в популяції впливає на частоту синдрому Жильбера.

Таким чином, метою роботи є на основі аналізу даних літератури зробити висновки про поширеність алелей ризику синдрому Жильбера у світі, їх асоціацію із різними патологічними станами, а також встановити частоту низькофункціональної алелі та різних генотипів локусу TA[A(TA)₆TAA] гена *UGT1A1* серед жителів західного регіону України.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження слугували зразки банку ДНК лабораторії генетичних досліджень ДУ «Інститут спадкової патології НАМНУ» практично здорових осіб, жителів західного регіону. Молекулярно-генетичне дослідження алелей A(TA)₆TAA\A(TA)₇TAA гена *UGT1A1* проведено у 130 практично здорових осіб віком від 18 до 35 років, серед них 70 жінок, 60 чоловіків.

Виділення та очищення геномної ДНК з лейкоцитів периферійної крові виконано методом висолювання (Макух та ін., 2008). Ампліфікацію специфічних послідовностей проводили методом ПЛР з такими температурно-часовими параметрами:

I – початкова активація ДНК-полімерази – 95°C, 15 хв.

II – денатурація – 95°C, 30 с, відпал праймерів – 55°C, 30 с, елонгація – 72°C, 30 с x 35 циклів

III – елонгація – 72°C, 7 хв.

Використовували суміш dNTP та термостійку DreamTaq Green ДНК полімерази, суміш для HRM аналізу Eva Green (ThermoFisher scientific, USA) та наступні олігонуклеотиди: F5' – TGT TGC ATG AGA AAA CGC CA, R5' – GTC GCC TGT TCA CCA AGG AT (Vukovic et al., 2018).

Аналіз ампліфікованих продуктів проводили у 10% ПААГ, який містив бромистий етидид. Отримані сигнали порівнювали з маркерами довжин і на основі цього детектували розміри отриманих фрагментів. Результати сканування агарозних гелів знімали цифровою камерою «Gel Imager» (HELICON, Росія) та опрацьовували за допомогою програми Gel Explorer 2.0.

Проводили аналіз HRM (плавлення з високою роздільною здатністю) в автоматичному режимі на приладі CFX-96 (Bio-Rad, USA). Методика HRM аналізу базується на різниці температур плавлення водневих зв'язків. Для аналізу результатів плавлення фрагмента ДНК з високою роздільною здатністю потрібно використовувати спеціально створене програмне забезпечення, яке дозволяє зафіксувати та проаналізувати кожен точку розходження ДНК. Виявлення різниці у температурі розходження ланцюгів ДНК дозволяє зробити висновки про генотипи зразків. Метод використовується як скринінговий для виявлення перебудов у цілих екзонах (Rolf et al., 2009).

Результати та обговорення

Проведено молекулярно-генетичний аналіз алелей A(TA)₆TAA\A(TA)₇TAA гена *UGT1A1* серед здорових осіб. Наявність на електрофореграмі фрагмента розміром 98 bp відповідає

генотипу дикого типу A(TA)₆TAA гена *UGT1A1*. Додаткова копія TA повтору в промоторній ділянці гена відповідає фрагменту розміром 100 bp. Наявність низькофункціональної алелі A(TA)₇TAA в гетерозиготному стані відповідає двом фрагментам 98 та 100 bp, а також характеризується появою гетеродуплексів. Електрофореграму гетеродуплексного аналізу алелей A(TA)₆TAA\A(TA)₇TAA гена *UGT1A1* наведено на рис. 1.

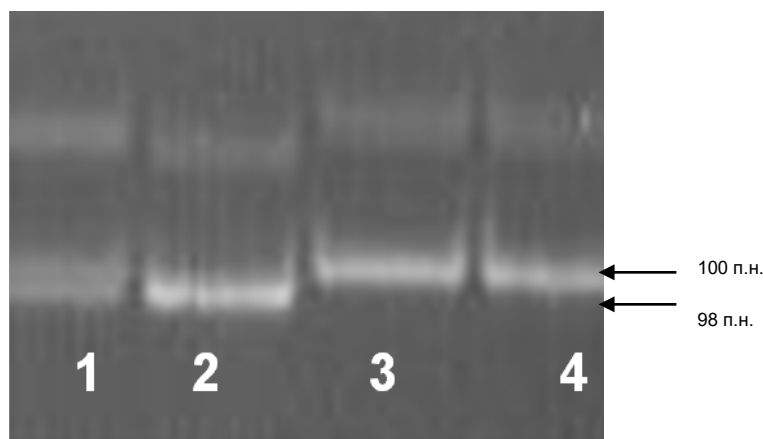


Рис. 1. Електрофореграма гетеродуплексного аналізу алелей A(TA)₆TAA\A(TA)₇TAA гена *UGT1A1*. 1 – генотип 6(TA)\7(TA), 2 – генотип 6(TA)\6(TA), 3–4 – генотип 7(TA)\7(TA)

Паралельно проведено HRM аналіз кривих плавлення продуктів ампліфікації фрагмента гена, що містить промоторну послідовність. На основі різних температур плавлення кривих, що порівнювались відносно контролів, мали встановити генотипи досліджуваних зразків, проте видимої різниці між піками плавлення виявлено не було. Методика потребує доопрацювання: синтез інших праймерів, зміна параметрів ПЛР, зміна кроку плавлення ДНК. Криві плавлення наведено на рис. 2.

У результаті проведеного дослідження алель предкового типу в гомозиготному стані виявили у 58 осіб серед 130 обстежених. У 19 осіб виявлено 7(TA) алель – алель ризику в гомозиготному стані та 53 особи були гетерозиготами. Результати генотипування наведено в табл. 1. Як видно з наведених даних, частота алелі ризику 7(TA) становить 34,3%, частота алелі предкового типу становить 65,7%, що є подібним до жителів Словаччини, Сербії, Ірану. Отримані частоти генотипів відповідають рівновазі Харді-Вайнберга.

**Таблиця 1.
 Частота алелей та генотипів гена *UGT1A1* серед жителів західного регіону України**

Генотипи	Частоти генотипів та алелей	
	n	%
6(TA)\6(TA)	58	44,6
7(TA)\7(TA)	19	14,6
6(TA)\7(TA)	53	40,7
Загальна кількість	130	100
Алелі		
6(TA)	169	65,7
7(TA)	91	34,3
Загальна кількість	260	100

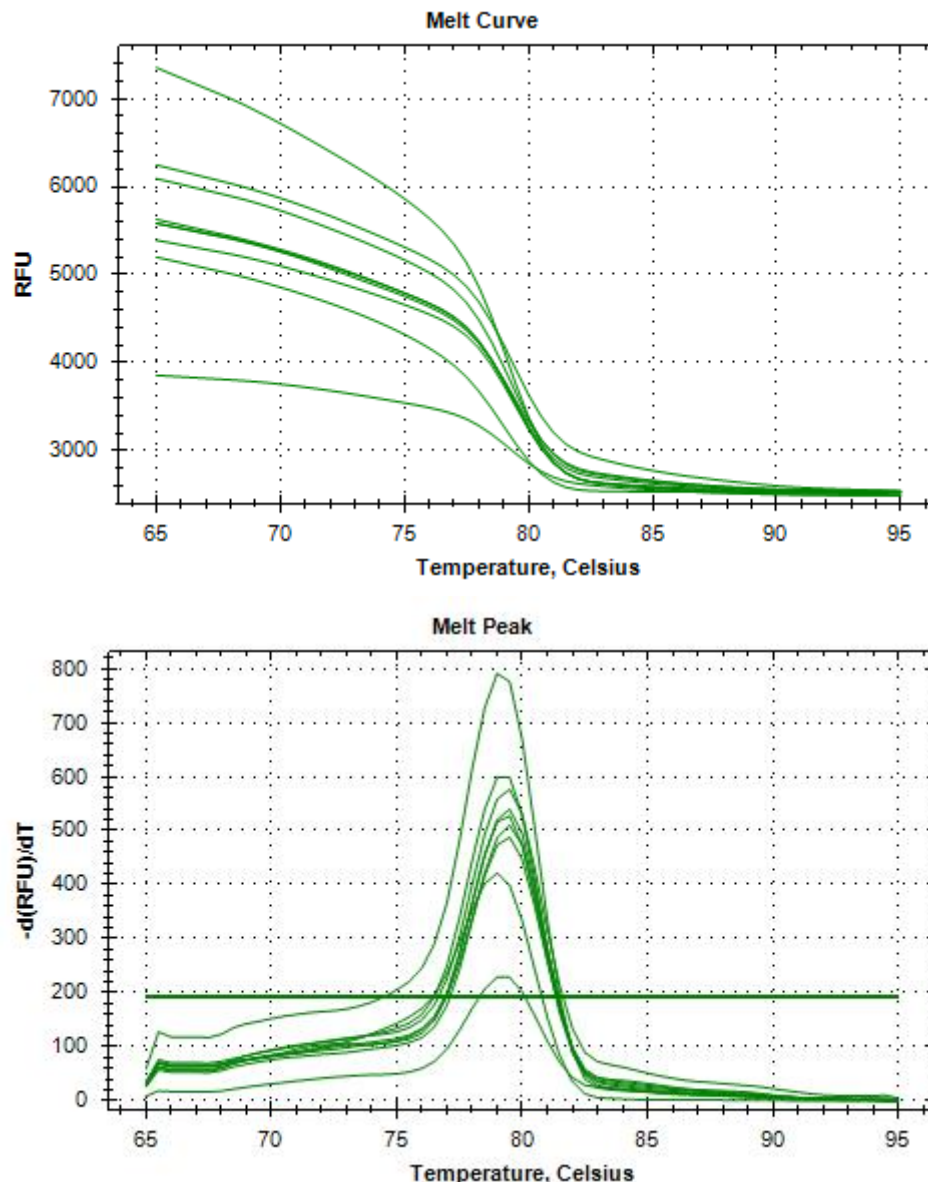


Рис. 2. Криві плавлення для алелей $A(TA)_6TAA$ та $A(TA)_7TAA$ гена *UGT1A1*

Аналіз опублікованих даних свідчить, що гомозиготні носії алелі 7(TA), окрім синдрому Жильбера, мають підвищений ризик щодо розвитку ряду патологічних станів протягом усього життя. У табл. 2 наведено асоціації низькофункціональних алелей гена *UGT1A1* з різними патологічними станами. Як видно з наведених даних, синдром Жильбера може спричиняти розвиток багато супутніх захворювань. За літературними даними (Radlović et al., 2011), у дітей з генотипом 7(TA)/7(TA) на 45,5% частіше розвивається біліарний калькульоз. Патогенний генотип в 1,5 рази збільшує ризик розвитку колоректального раку у чоловіків (Vajro et al., 2012), на 21% збільшує частоту шлунково-кишкових захворювань (Buch et al., 2010), на 30% збільшує ризик розвитку раку молочної залози тощо (Starlard-Davenport et al., 2012).

Небезпека таких супутніх патологій полягає в складності лікування, що зумовлена особливостями фармакодинаміки певних препаратів при синдромі Жильбера. Відповідно до рекомендацій <https://www.nhs.uk/conditions/gilberts-syndrome/>, особам з синдромом Жильбера слід уникати прийому будь-яких препаратів без консультації лікаря, піддаватись сильним фізичним навантаженням та постійним стресам, споживати надміру жирну їжу та вживати продукти, які

чинять сильне навантаження на печінку, зокрема алкоголь. Також рекомендують позбутись шкідливих звичок, підтримувати водний баланс та регулярний сон.

Таблиця 2.
Асоціація низькофункціональних алелей гена *UGT1A1* з різними патологічними станами за опублікованими даними

Патологія	Підвищення ризику	Опубліковані дані
Розвиток колоректального раку у чоловіків	в 1,5 рази	Bajro et al., 2012
Біліарний калькульоз	на 45,5%	Radlović et al., 2011
Захворювання ШКТ	на 21,2%	Buch et al., 2010
Утворення каменів в нирках	на 57,7%	Wasmuth et al., 2006
Розвиток раку молочної залози	на 30,5%	Starlard-Davenport et al., 2012

Дані, наведені в табл. 3, вказують на значну варіабельність частоти поширення синдрому Жильбера в різних популяціях та етнічних групах. Частота патогенного генотипу коливається в широких межах: від 0,6 до 43%. Низька частота мутантного генотипу спричинена високою гетерогенністю популяції, а висока частота (43%) зумовлена легким перебігом захворювання та відсутністю селективного ефекту. Для країн Європи частота мутантного генотипу знаходиться в межах 8–18 %. Дані наших досліджень співпадають з результатами популяційних досліджень жителів європейських країн.

Отже, частота гомозигот за низькофункціональною алеллю 7(TA) гена *UGT1A1* серед практично здорових жителів західного регіону України становить 14,6%. Таким чином, доцільним є проведення аналізу наявності алелі 7(TA) серед пацієнтів з гіпербілірубінемією невстановленого ґенезу для діагностики синдрому Жильбера.

Таблиця 3.
Частота генотипів гена *UGT1A1* у світі за опублікованими даними

Країна	Частота 7(TA)/7(TA) генотипу, %	Опубліковані дані
Чехія	6,7	Kadlcikova et al., 2014
Німеччина	8,6	Sieg et al., 1987
Іран	19,1	Hemmati et al., 2010
Великобританія	0,6–3,0	Claridge et al., 2011
Сербія	18,2	Vukovic et al., 2018
Хорватія	9,8	Marinković et al., 2008
Словаччина	13,6	Mlakar, Ostanek, 2011
Африка	43	Kaniwa et al., 2005
Україна (західний регіон)	14,6	Haiboniuk, 2019

Висновки

- 1) Апробовано різні підходи та налагоджено методику молекулярно-генетичного тестування низькофункціональної алелі 7(TA) гена *UGT1A1* методом ПЛР.
- 2) Частота алелі ризику синдрому Жильбера 7(TA) гена *UGT1A1* серед практично здорових осіб західного регіону України становить 34,3% і співпадає з даними європейських країн.
- 3) Частота гомозигот за алеллю гена *UGT1A1* в Україні становить 14,6%.
- 4) Доцільним є проведення аналізу локусу 7(TA) алелі гена *UGT1A1* серед пацієнтів з гіпербілірубінемією невстановленого ґенезу для діагностики синдрому Жильбера.

Список літератури / References

Макух Г., Заставна Д., Тиркус М. Спосіб виділення ДНК з лейкоцитів периферійної крові. Патент 32044 UA, МПК G01N33/49 (2006.01). ДУ «Інститут спадкової патології НАМНУ». №u200801896. Заявл. 14.02.2008. Опубл. 25.04.2008. Бюл. №8. /Makukh H., Zastavna D., Tyrkus M. A method of isolating DNA from peripheral blood leukocytes. Patent 32044 UA, MPK G01N33/49 (2006.01). SI Institute of Hereditary Pathology NAMSU. No. u200801896. Declared 14.02.2008. Published 25.04.2008. Byul. No.8./

- Bajro M., Josifovski T., Panovski M. et al. Promoter length polymorphism in *UGT1A1* and the risk of sporadic colorectal cancer // *Cancer Genet.* – 2012. – Vol.205 (4). – P. 163–167.
- Buch S., Schafmayer C., Volzke H. et al. Loci from a genome-wide analysis of bilirubin levels are associated with gallstone risk and composition // *Gastroenterology.* – 2010. – Vol.139 (6). – P. 1942–1951.
- Hemmati F., Saki F., Saki N., Haghghat M. Gilbert syndrome in Iran, Fars Province // *Annals of Saudi Medicine.* – 2010. – Vol.30 (1). – P.84.
- Kadlcikova L., Danzig V., Cifkova R. Prevalence of Gilbert syndrome and *UGT1A1**28 status in the Czech population, and their relationship to ischemic heart disease // *Atherosclerosis.* – 2014. – Vol.235 (2). – e285–e286.
- Kaniwa N., Kurose K., Jinno H. et al. Racial variability in haplotype frequencies of *UGT1A1* and glucuronidation activity of a novel single nucleotide polymorphism 686C>T (P229L) found in an African-American // *Drug Metab. Dispos.* – 2005. – Vol.33. – P. 458–465.
- Claridge L.C., Armstrong M.J., Booth C., Gill P.S. Gilbert's syndrome // *BMJ.* – 2011. – Vol.342. – d2293.
- Marinković N., Pasalić D., Grsković B. et al. Genotype frequencies of UDP-glucuronosyltransferase 1A1 promoter gene polymorphism in the population of healthy Croatian pre-scholars // *Coll. Antropol.* – 2008. – Vol.32 (3). – P. 725–729.
- Mlakar S., Ostanek B. Development of a new DHPLC assay for genotyping *UGT1A* (TA)_n polymorphism associated with Gilbert's syndrome // *Biochem. Med. (Zagreb).* – 2011 – Vol.21 (2). – P. 167–173.
- Radlović N., Ristić D., Brdar R. et al. Association of hereditary elliptocytosis and Gilbert's syndrome as the cause of biliary calculosis: case report // *Srp. Arh. Celok. Lek.* – 2011. – Vol.139 (5–6). – P. 386–389.
- Rolf H., Vossen M., Aten E. et al. High-Resolution Melting Analysis (HRMA) – more than just sequence variant screening // *Human Mutation.* – 2009. – Vol.30 (6). – P. 860–866.
- Sieg A., Arab L., Schlierf G. et al. Prevalence of Gilbert's syndrome in Germany // *Dtsch. Med. Wochenschr.* – 1987. – Vol.112 (31–32). P. 1206–1208.
- Starlard-Davenport A., Word B.R., Lyn-Cook B. Characterization of UDP-glucuronosyltransferase (*UGT1A1*) promoter polymorphisms and gene expression on ethnicity, stage of disease, and menopausal status in breast cancer // *J. Drug Metabol. Toxicol.* – 2012. – Vol.2012 (suppl. 4). – doi:10.4172/2157-7609.S4-001.
- Vukovic M., Radlovic N., Lekovic Z. et al. *UGT1A1* (TA)_n promoter genotype: diagnostic and population pharmacogenetic marker in Serbia // *Sciend.* – 2018. – Vol.21 (1). – P. 59–68.
- Wasmuth H., Keppeler H., Herrmann U. et al. Coinheritance of Gilbert syndrome-associated *UGT1A1* mutation increases gallstone risk in cystic fibrosis // *Hepatology.* – 2006. – Vol.43 (4). – P. 738–741.

Представлено: О.Л.Личковська / Presented by: O.L.Lychkovska

Рецензент: О.М.Утевська / Reviewer: O.M.Utevska

Подано до редакції / Received: 15.08.2019

Про авторів: І.Є.Гайбонюк – ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», вул. Лисенка, 31-а, Львів, Україна, 79000, ivankagaiboniuk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4403-6166>

Г.В.Макух – ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», вул. Лисенка, 31-а, Львів, Україна, 79000, makukh_halyna@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-7749-5353>

About the authors: I.Ye.Haiboniuk – Institute of Hereditary Pathology of the Ukrainian National Academy of Medical Sciences, Lysenko str., 31-a, Lviv, Ukraine, 79000, ivankagaiboniuk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4403-6166>

H.V.Makukh – Institute of Hereditary Pathology of the Ukrainian National Academy of Medical Sciences, Lysenko str., 31-a, Lviv, Ukraine, 79000, makukh_halyna@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-7749-5353>

Об авторах: И.Е.Гайбонюк – ГУ «Институт наследственной патологии НАМН Украины», ул. Лысенко, 31-а, Львов, Украина, 79000, ivankagaiboniuk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4403-6166>

Г.В.Макух – ГУ «Институт наследственной патологии НАМН Украины», ул. Лысенко, 31-а, Львов, Украина, 79000, makukh_halyna@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-7749-5353>

УДК: 575.2:57.04

Індукція ефекту свідка в кореневій меристемі проростків сої після γ-опромінення

О.Ю.Герман, О.В.Легостаєва, О.М.Бабука

Ефект свідка – виникнення радіаційних пошкоджень в інтактних клітинах за умови їхнього перебування в одному живильному середовищі чи поруч із опроміненими клітинами в момент дії опромінення, але не зазнавши його прямого впливу. Метою роботи є оцінка імовірних змін у мітотичній активності і хромосомному апараті клітин кореневої меристеми проростків інтактного насіння сої при пророщуванні його в спільному з опроміненим насінням водному середовищі. Досліджували мітотичну активність клітин кореневої меристеми проростків насіння сої *Glycine max* (L.) Mer. селекційних сортів Райдуга і Спритна, а також генномодифікованого сорту Аполло в нормі, після опромінення гамма-радіацією в дозі 40 Гр і після сумісного пророщування з опроміненим насінням в одному водному середовищі. Встановлено, що рівень стартового мітотичного потенціалу у селекційних сортах був приблизно однаковий, а в меристемі генномодифікованого сорту клітини ділилися інтенсивніше. Опромінення гамма-радіацією в дозі 40 Гр підвищує рівень мітотичної активності у всіх сортах, але у генномодифікованого сорту збільшення менш значне, що може бути пов'язане із високим рівнем мітотичної активності в нормі. Опромінення насіння гамма-радіацією в дозі 40 Гр сприяє появі клітин з хромосомними абераціями в меристемі проростків. Ступінь синхронізації клітин на лівній фазі мітотичного циклу в меристемі генномодифікованого сорту менший порівняно із селекційними сортами. При сумісному пророщуванні опроміненого в дозі 40 Гр і неопроміненого насіння відбувається індукція ефекту свідка за критерієм підвищення мітотичної активності: в меристемі проростків неопромінених «насінин-свідків» інтенсивність клітинних поділів вища за контроль. Ефект свідка не впливає на синхронність клітинних поділів. Таким чином, в роботі продемонстровано можливість формування ефекту свідка за умови пророщування опроміненого і неопроміненого насіння в спільному водному середовищі. Інтенсивність ефекту свідка залежить від генотипу і стартового мітотичного потенціалу.

Ключові слова: ефект свідка; мітотична активність; меристема; аберації хромосом; іонізуюче опромінення.

Induction of bystander effect in root meristem of soybean seedlings after γ-irradiation

O.Y.German, O.V.Legostaeva, O.M.Babyka

The bystander effect refers to the non-target effects of ionizing radiation and it is the occurrence of radiation damages in the cells that have not been exposed to direct action of ionizing radiation. The aim of the study is to investigate the possibility of forming the "bystander effect" during the germination of irradiated and intact seeds of some soybean *Glycine max* (L.) Mer. varieties in the common aquatic environment. The soybean seeds of the Raiduga and Sprytina varieties (obtained by selection) and the genetically modified Apollo variety had been exposed to γ-radiation at a dose of 40 Gy. The mitotic activity of the seedlings root meristem cells of irradiated (IR) and intact (IN) seeds, as well as intact seeds, which were germinated in the same aqueous medium together with irradiated (IN^{IR}), was analyzed. The similar levels of mitotic activity were observed in seedlings of breeding varieties in "IN" variant, while cells in genetically modified variety divided more intensively. Radiation exposure in a dose of 40 Gy increased the level of mitotic activity in all varieties. The values of the mitotic indices increased 2 times in the varieties of Raiduga and Sprytina. The increase in Apollo variety was less significant, but this may be due to a high level of mitotic activity in the control variant. Irradiation also contributed to the appearance of chromosomal aberrations: fragments and bridges. The increase in mitotic activity in the meristem of the studied varieties to the mentioned levels may indicate the presence of a pool of meristem cells that can accelerate the passage of phases of the mitotic cycle under extreme conditions. Mitotic activity increased in the "IN^{IR}" variant in all investigated varieties. The largest excess over the "IN" was in Sprytina, a little less in the variety Raiduga. The proliferative activity in the Apollo variety meristem remained almost unchanged. Thus, the work shows the possibility of a "bystander effect" forming under the condition of joint germination of irradiated and intact seeds in the common aquatic environment. The intensity of "bystander effect" formation depends on the genotype and start mitotic potential.

Key words: bystander effect; mitotic activity; meristem; chromosomal aberrations; ionizing irradiation.

Індукція ефекта свідателя в кореневій меристемі проростков сої після γ -облучення

Е.Ю.Герман, Е.В.Легостаева, О.Н.Бабыка

Ефект свідателя – виникнення радіаційних пошкоджень в інтактних клітках при умови їх перебування в одній питательній середі або поряд з облученими клітками в момент дії облучення, але не підвергнувшись йому прямому дію. Метою роботи є оцінка ймовірних змін у митотическій активності та хромосомному апараті кліток кореневій меристемі проростков інтактних насіння сої *Glycine max* (L.) Мер. при спільному пророщуванні їх в одній водній середі з облученими насіннями. Досліджували митотическу активність кліток кореневій меристемі проростков насіння сої селекційних сортів Радуга та Спритна, а також генномодифікованого сорту Аполло в нормі, після облучення гамма-радіацією в дозі 40 Гр та після спільного пророщування з облученими насіннями в одній водній середі. Встановлено, що початковий митотический потенціал у селекційних сортів знаходився на одній рівні, а в меристемі генномодифікованого сорту клітки ділилися з більшою інтенсивністю. Облучення гамма-радіацією в дозі 40 Гр підвищувало рівень митотическій активності у всіх сортів, але у генномодифікованого сорту збільшення було не настільки значущим, як у селекційних сортів. Облучення насіння в гамма-радіацією в дозі 40 Гр сприяє появі кліток з хромосомними абераціями в меристемі проростков. Степень синхронізації кліток на певній фазі митотического циклу в меристемі генномодифікованого сорту була менше порівняно з селекційними сортами. При спільному пророщуванні облучених в дозі 40 Гр та необлучених насіння відбувається індукція ефекта свідателя за критерієм митотическій активності: в меристемі проростков необлучених «насіння-свідателя» інтенсивність клітинних ділень вище, ніж в контролі. Ефект свідателя на синхронність клітинних ділень впливати не може. Таким чином, в роботі продемонстровано можливість формування ефекта свідателя в умовах пророщування облучених та необлучених насіння в загальній водній середі. Інтенсивність ефекта свідателя залежить від генотипу та початкового митотического потенціалу.

Ключові слова: ефект свідателя; митотическа активність; меристема; аберації хромосом; іонізуюче облучення.

Вступ

Ефект свідка як біологічне явище був описаний у 1992 р. Х.Нагасавой і Дж.Б.Літлом і полягає у виникненні пошкоджень в інтактних клітинах, що знаходилися поруч із опроміненіми в момент впливу опромінення, але були екрановані від нього. Тобто неопромінені клітини є «свідками» нанесення променевого пошкодження іншим клітинам.

Схеми експериментів з індукції ефекта свідка включають як безпосередній контакт опромінених і неопромінених клітин, так і знаходження їх в одному і тому ж культуральному судині, а також контакт неопромінених клітин із середовищем, в якій інші клітини піддавалися опроміненню (Шеметун, Пілінська, 2007). Ефект свідка відноситься до немішених ефектів опромінення, хоча механізм його формування повністю не вивчений. Припускають існування двох шляхів передачі сигналу про радіаційне опромінення: через міжклітинні контакти і шляхом секреції деяких біологічно активних чинників у культуральне середовище.

Ефект свідка продемонстрований на ряді біологічних об'єктів (Кравец і др., 2009; Widela et al., 2015; Mothersill et al., 2019), на клітинному і організменному рівнях. Відомо, що в інтактних клітинах-свідках відбуваються генетичні зміни, такі як виникнення хромосомних мутацій (Karthik et al., 2019), зміни в експресії генів (Verma, Tikku, 2017), апоптоз (Marin et al., 2015). Подібні зміни впливають на безліч клітинних функцій, серед яких – здатність до поділу. Здатність клітин меристемі ділитися є основним механізмом, що забезпечує ріст і розвиток рослинного організму. Отже за допомогою цитогенетичного аналізу можливо оцінити ймовірні зміни в клітинах-свідках і зробити висновок про наявність або відсутність формування ефекта свідка, його інтенсивність.

Мета роботи – оцінити ймовірні зміни в митотическій активності і хромосомному апараті клітин кореневої меристемі проростків інтактного насіння сої при пророщуванні його в спільному з опроміненіми насіннями водному середовищі.

Методика

В роботі використовували насіння сої *Glycine max* (L.) Мер. сортів Радуга і Спритна, отриманих шляхом селекції в Інституті рослинництва імені В.Я. Юр'єва УААН, і

генномодифікованого сорту Аполло. Повітряно сухе насіння опромінювали гамма-радіацією Co^{60} в ХНУ імені В.Н. Каразіна дозою 40 Гр, яка, згідно з нашими попередніми дослідженнями, чинить стимулюючу дію на рослинний організм. В експерименті були варіанти:

1. К – контроль – неопромінене насіння.
2. 40 Гр – насіння, опромінене гамма-радіацією в дозі 40 Гр.
3. K_{40Gr} – режим ефекту свідка: спільне пророщування контрольного насіння і опроміненого дозою 40 Гр в одному водному середовищі.

Корінці проростків фіксували в оцтовому алкоголі (96% етиловий спирт – 3 частини; крижана оцтова кислота – 1 частина). Готували тимчасові давлені препарати, забарвлені за методикою Фьольгена. У кожному корінці переглядали близько 1000 клітин для визначення мітотичної активності. Також враховували кількість хромосомних мутацій (мости і фрагменти) в анафазі і телофазі мітозу.

Для кожного варіанту експерименту розраховували середнє арифметичне значення мітотичного індексу і похибку вибіркової частки. Переводили процентні долі у величини центрального кута. Для порівняння контрольної і експериментальної вибірок використовували F -критерій. Використовували двофакторний дисперсійний аналіз для оцінки впливу сорту насіння і пророщування в режимі ефекту свідка на мітотичну активність клітин кореневої меристеми проростків. Перевірку нульової гіпотези проводили на рівні значущості $p < 0,05$ (Атраментова, Утевська, 2007).

Результати і обговорення

Мітотична активність тканини являє собою відношення числа клітин, що знаходяться в мітозі, до загальної кількості клітин досліджуваної тканини. Цей показник відображає інтенсивність ростових процесів проростка і змінюється у відповідь на вплив численних агентів, серед яких є і іонізуюча радіація. Мітотична активність клітин меристеми проростків селекційних сортів Спритна і Райдуга знаходилась на одному рівні – 3,4–3,7 %, тоді як стартовий мітотичний індекс у генномодифікованого сорту Аполло був значно вищий – 5,1% (рис. 1).

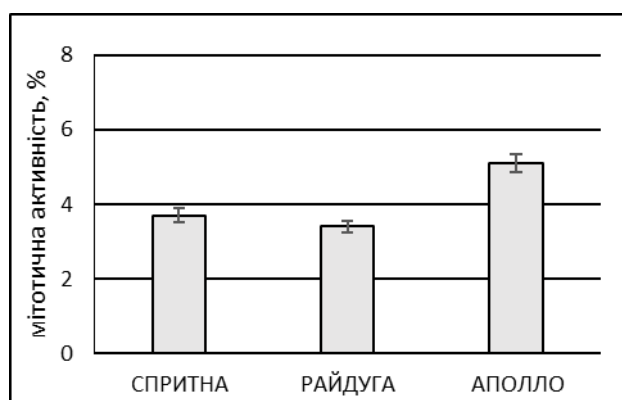


Рис. 1. Мітотична активність клітин меристеми проростків насіння досліджуваних сортів у нормі

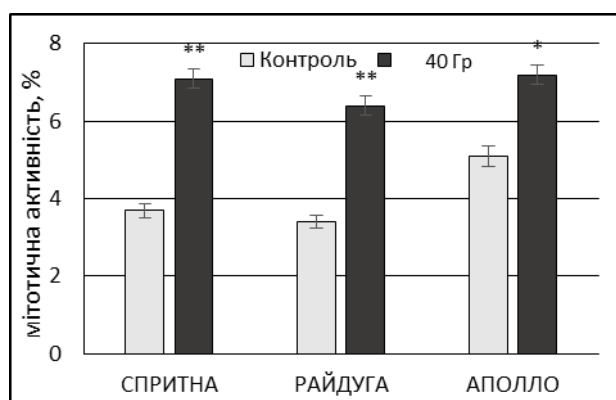


Рис. 2. Мітотична активність клітин меристеми проростків насіння досліджуваних сортів у нормі і після опромінення в дозі 40 Гр

* різниця між контролем і дослідом $p < 0,05$;
** різниця між контролем і дослідом $p < 0,01$.

Радіація в дозі 40 Гр сприяла підвищенню рівня мітотичної активності клітин меристеми усіх сортів (рис. 2). Вдвічі збільшилися значення мітотичних індексів у сортів Райдуга і Спритна. У сорту Аполло збільшення було менш значне, але це може бути пов'язане із високим рівнем мітотичної активності в нормі. Абсолютне значення мітотичного індексу в усіх сортів знаходилось на рівні 6,4–7,2 %. Підвищення мітотичної активності в меристемі досліджуваних сортів до вказаних рівнів може свідчити про наявність пулу меристемних клітин, які можуть прискорювати проходження окремих фаз мітотичного циклу в екстремальних умовах.

Відомо, що доза гамма-радіації 40 Гр стимулює ростові процеси в рослинному організмі: знімає фізіологічний спокій насіння, сприяє інтенсифікації фотосинтезу, транспорту, накопиченню метаболітів, поділу клітин, пришвидшує ростові процеси в організмі (Гудков, 2014). Найчастіше це відбувається за рахунок скорочення тривалості мітотичного циклу, проходження окремих фаз без перевірки генетичного матеріалу на цілісність, що призводить до накопичення хромосомних аберацій в клітинах, що були опромінені. В контролі, як і у варіанті K_{40Gr} , клітин з хромосомними мутаціями не було виявлено. У варіанті з опроміненням 40 Гр в меристемі селекційних сортів з'являлись поодинокі анафази з абераціями хромосом: фрагментами і мостами.

Наступний етап роботи полягав в визначенні змін у мітотичній активності меристеми насіння за умови пророщування його в одному водному середовищі з опроміненим насінням. Результати представлені на рис. 3. В усіх досліджуваних сортів спостерігали підвищення рівня мітотичної активності в варіанті « K_{40Gr} ». Найбільше перевищення над контролем було у сорту Спритна (37% від контролю, $p < 0,05$), трохи менше – 23% – у сорту Райдуга. Проліферативна активність у меристемі сорту Аполло варіанті « K_{40Gr} » була більша за контрольну на 9,0%.

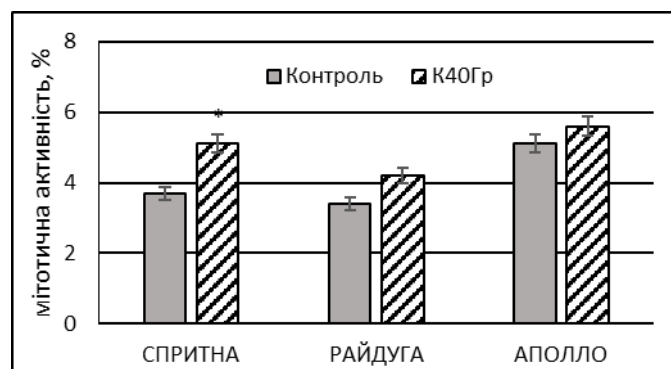


Рис. 3. Мітотична активність клітин меристеми проростків насіння досліджуваних сортів сої при спільному пророщуванні опроміненого і неопроміненого насіння

* різниця між контролем і дослідом $p < 0,05$.

Для меристем характерною є певна синхронність. В один і той же момент часу в популяції знаходяться клітини на різних стадіях мітотичного циклу. Чим більше клітин в популяції знаходиться в одній і тій же фазі, тим більше ця популяція є синхронною. Синхронність сприяє ритмічному поділу клітин і ліпшому росту і розвитку. Облік клітин, що знаходилися на ранніх і пізніх фазах мітозу, показав, що у селекційних сортів кількість про- і метафаз в меристемі була трохи вища, ніж у генномодифікованого сорту Аполло в усіх досліджуваних варіантах. Можна зробити висновок про більший ступінь асинхронізації в меристемі генномодифікованого сорту порівняно із селекційними сортами. Пророщування насіння всіх сортів у режимі « K_{40Gr} » не вплинуло на синхронність поділів.

Результати проведеного дисперсійного аналізу (табл. 1) свідчать, що на рівень мітотичної активності клітин кореневої меристеми проростків впливають обидва фактори: сорт насіння і пророщування в режимі ефекту свідка ($p < 0,05$).

Таблиця 1.

Дисперсійний аналіз впливу сорту і сумісного пророщування опроміненого і неопроміненого насіння в спільному водному середовищі на мітотичну активність клітин меристеми проростків насіння сої

Фактор	SS	df	MS	F експ.	p	F крит.
Режим ефекту свідка	3,55	1	3,55	4,84	0,048	4,75
Сорт	7,16	2	3,58	4,88	0,028	3,89

У 2000-х рр. було висловлено припущення про передавання ефекту від радіаційної дії між організмами, якщо вони знаходяться у спільному водному середовищі (Mothersill, Seymour, 2002; Кравец и др., 2009). Збільшення мітотичної активності в меристемі проростків неопроміненого насіння, що пророщується в одному водному середовищі разом з опроміненим (рис. 3), дозволяє судити про формування ефекту свідка на рівні організму.

Згідно з літературними даними (Котеров, 2011), ефект свідка буває таким, що не лише ушкоджує (передавання сигналу, який спричинює нестабільність геному, появу ушкоджень ДНК, явище апоптозу і тому подібне), але і стимулюючим (передавання сигналу до адаптивної відповіді і гормезису). Підвищення рівня проліферації клітин у варіанті «К_{40Гр}», що спостерігали в експерименті, зазвичай характерне для дії малих, стимулюючих доз радіації.

Передавання ефекту свідка можливе як при безпосередньому контакті опромінених і неопромінених клітин (через щільні міжклітинні контакти), так і через медіатори, що виділяються в культуральне середовище. При пророщуванні опроміненого і неопроміненого насіння в одному водному середовищі передавання радіаційного ефекту, очевидно, здійснюється деякими медіаторами, якими можуть бути, наприклад, активні форми кисню (Rozhko et al., 2019), гормони (цитокініни і ауксини). Концентрація і спектр речовин, що виділяються у водне середовище при проростанні опроміненого в дозі 40 Гр насіння, виявилися достатніми для формування ефекту свідка у неопроміненого насіння, але інтенсивність цього ефекту залежить від генотипу сорта і дози опромінення.

Висновки

В роботі показана можливість формування ефекту свідка на організменому рівні в умовах спільного пророщування опроміненого і неопроміненого насіння в одному водному середовищі.

1. Стартовий мітотичний потенціал генномодифікованого сорту Аполло вищий, ніж у селекційних сортів Спритна і Райдуга.

2. Радіація в дозі 40 Гр підвищує рівень мітотичної активності у всіх сортів, у сорту Аполло збільшення було менш значне, що може бути пов'язане із високим рівнем мітотичної активності в нормі.

3. Ступінь синхронізації клітин на певній фазі мітотичного циклу в меристемі генномодифікованого сорту менший порівняно із селекційними сортами. Ефект свідка не впливає на синхронність поділів.

4. Підвищення мітотичної активності клітин меристеми проростків неопроміненого насіння при його сумісному пророщуванні з опроміненим в дозі 40 Гр є наслідком формування ефекту свідка, інтенсивність прояву якого залежить від генотипу сорту.

Подяки

Автори висловлюють подяку співробітниці Центру генетичних ресурсів рослин України Інституту рослинництва імені В.Я.Юр'єва УААН к.с.-г.н. Н.О.Вус і керівнику незалежної випробувальної лабораторії «Агроген НОВО» к.б.н. В.М.Попову за люб'язно надані зразки насіння сої, співробітникам кафедри молекулярної та медичної біофізики ХНУ імені В.Н.Каразіна доц., к.ф.-м.н. О.А.Горобченко, с.н.с., к.ф.-м.н. О.Т.Ніколову за опромінення насіння.

Список літератури / References

Атраментова Л.О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології. – Х.: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2007. – 288с. /Atramentova L.O., Utevska O.M. Statistical methods in biology. – Kharkiv: V.N.Karazin Kharkiv National University, 2007. – 288p./

Гудков И.Н. Радиационная стимуляция растений // Материалы Международной научно-практической конференции «Микроэлементы и регуляторы роста в питании растений: теоретические и практические аспекты». – Ульяновск, 2014. – С.27. /Gudkov I.N. Radiation stimulation in plants // Materials of the International scientific-practical conference "Microelements and growth regulators in plant nutrition: theoretical and practical aspects." – Ulyanovsk, 2014. – P.27./

Котеров А.Н. Перспективы учета «Эффекта свидетеля» при оценке радиационных рисков // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2011. – №1 (5). – С. 7–19. /Kotero A.N. Prospects for taking into account the "Bystander effect" in assessing radiation risks // Biomedical Problems of Life. – 2011. – No.1 (5). – P. 7–19./

- Кравець А.П., Венгжен Г.С., Гродзинский Д.М. Эффекты дистанционного взаимодействия облученных и необлученных растений // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2009. – Т.49, №4. – С. 490–494. /Kravets A.P., Wengzhen G.S., Grodzinsky D.M. Effects of the remote interaction of irradiated and unirradiated plants // Radiation Biology. Radioecology. – 2009. – Vol.49, no.4. – P. 490–494./
- Шеметун О.В., Пілінська М.А. Радіаційно-індукований «ефект свідка» // Цитологія і генетика. – 2007. – Т.41, №4. – С. 66–71. /Shemetun O.V., Pilinska M.A. Radiation-induction "bystander effect" // Cytology and Genetics. – 2007. – Vol.41, no.4. – P. 66–71./
- Karthik K., Vasumathy R., Badri N.Pandey et al. Primary and secondary bystander effect and genomic instability in cells exposed to high and low linear energy transfer radiations // International Journal of Radiation Biology. – 2019. – Published online: 09/17/2019.
- Marin A., Martin M., Linan O. et al. Bystander effects and radiotherapy // Rep. Pract. Oncol. Radiother. – 2015. – Vol.20 (1). – P. 12–21.
- Mothersill C., Seymour C. Relevance of radiation-induced bystander effects for environmental risk assessment // Radiats. Biol. Radioecol. – 2002. – Vol.42, no.6. – P. 585–587.
- Mothersill C., Rusin A., Seymour C. Relevance of non-targeted effects for radiotherapy and diagnostic radiology: a historical and conceptual analysis of key players // Cancers (Basel). – 2019. – Vol.11 (9). – pii: E1236.
- Rozhko T.V., Nogovitsyna E.I., Badun G.A. et al. Reactive oxygen species and low-dose effects of tritium on bacterial cells // Journal of Environmental Radioactivity. – 2019. – Vol.208–209. – Article 106035.
- Verma N., Tiku A.B. Significance and nature of bystander responses induced by various agents // Mutation Research/Reviews in Mutation Research. – 2017. – Vol.773. – P. 104–121.
- Widela M., Lalika A., Krzywona A. et al. The different radiation response and radiation-induced bystander effects in colorectal carcinoma cells differing in p53 status // Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. – 2015. – Vol.778. – P. 61–70.

Представлено: Н.О.Вус / Presented by: N.O.Vus

Рецензент: В.Ю.Страшнюк / Reviewer: V.Yu.Strashnyuk

Подано до редакції / Received: 23.09.2019

Про авторів: О.Ю.Герман – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, elenagerman2009@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8753-2143>

О.В.Легостаєва – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, lenochek1231@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3601-2447>

О.М.Бабука – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, oksanababika@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8803-6352>

About the authors: O.Y.German – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, elenagerman2009@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8753-2143>

O.V.Legostaeva – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, lenochek1231@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3601-2447>

O.M.Babyka – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, oksanababika@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8803-6352>

Об авторах: Е.Ю.Герман – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, elenagerman2009@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8753-2143>

О.В.Легостаева – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, lenochek1231@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3601-2447>

О.М.Бабука – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, oksanababika@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8803-6352>

УДК: 575.224.23:616

Особливості стану хромосомного апарату подружжя при порушенні репродуктивної функції

О.М.Феськов, Є.С.Жилкова, В.А.Руденко, Н.О.Чумакова, О.В.Єгунькова

Хромосомні аномалії є розповсюдженою причиною непліддя у світі, а саме однією з причин переривання вагітності на ранніх термінах, мертвородження або народження дитини з множинними вродженими вадами розвитку. Загальний рівень хромосомних аберацій в популяції становить 0,5–3,0 %, в той час як у людей з порушенням фертильності цей показник коливається від 2,9 до 14%. У роботі надано результати каріотипування, проведеного у 1024 пацієнтів з проблемою репродуктивної функції, які звернулись до Центру репродукції людини «Клініка професора Феськова О.М.» в період з 2009 по 2018 рік. Для проведення цитогенетичного обстеження використовували препарати метафазних хромосом, які отримали шляхом культивування лімфоцитів периферичної крові за стандартною методикою, з використанням GTG-методу і CBG-методу диференційного фарбування хромосом. Аналіз препаратів провели відповідно до Міжнародної системи цитогенетичної номенклатури людини. Серед обстежених хворих у 6,05% пацієнтів каріотипи містили різні типи змін хромосом, в той час як в популяції цей показник становить 0,5–3,0 %. Таке підвищення частоти змін в каріотипі у пацієнтів з порушенням репродуктивної функції, порівняно з показниками в популяції, є статистично значущим ($p < 0,05$). В результаті обстеження ідентифіковано кількісні зміни хромосом, структурні хромосомні аберації, а також хромосомні поліморфізми. У досліджуваній групі переважали каріотипи, які містили хромосомні поліморфізми, їх частка склала 2,4%, з них 1,25% випадків – збільшені супутникові райони акроцентричних хромосом, 0,67% – збільшення центромерного гетерохроматину, 0,38% – збільшення гетерохроматину на довгому плечі хромосом 9, 16, Y. Структурні хромосомні перебудови були знайдені у 2,11% пацієнтів. Серед них інверсії – 0,86%, Робертсонівські та реципрокні транслокації – 0,58% і 0,1% відповідно, інсерції – 0,1%, додаткові фрагменти – 0,1%, а також маркерні хромосоми – 0,1%. Загальна частота кількісних змін каріотипу склала 1,63% (17 пацієнтів з 1042), з них із синдромом Клайнфельтера – 0,67% пацієнтів, з різним мозаїцизмом за статевими хромосомами – 0,96%. У зв'язку з вищевикладеним доцільно проводити каріотипування подружніх пар з непліддям.

Ключові слова: непліддя; репродуктивна функція; хромосомні аномалії; каріотип.

Features of the state of the chromosomal apparatus of spouses with disorders of reproductive function

O.M.Feskov, Ye.S.Zhylkova, V.A.Rudenko, N.O.Chumakova, O.V.Yegunkova

Chromosomal anomalies are the most frequent reason of infertility in the world. This is one of the reasons for abortion in the early stages, stillbirth or the birth of a child with multiple malformations. The general level of chromosomal aberrations in the population is 0.5-3.0 %, while among people with impaired fertility this level ranges from 2.9 to 14%. The results of karyotyping of 1024 patients with problems of reproduction function, which appealed to the Center of Human Reproduction «Clinic of Professor Feskov O.» in the period from 2009 to 2014, were presented in the article. For the cytogenetic research of patients, metaphase chromosomes were used. Samples were obtained from culture of peripheral blood according to standard technique. For staining of chromosomes slides GTG-method and CBG-method were used. Analysis of slides was carried out in accordance with the International system of the cytogenetic nomenclature. Different types of chromosomal aberrations have been detected in the karyotypes of the patients in 6.05% cases, in population this value is 0.5–3.0 %. This increase in the number of changes in karyotype in patients with infertility in comparison with the population level is statistically significant ($p < 0.05$). There are numerical chromosome abnormalities, structural chromosome rearrangements and chromosomes polymorphisms in the patients. Among identified changes the chromosomes polymorphisms are more frequent, it total 2.4% in our group. Among them 1.25% cases of increase in length of satellite on the short arm of acrocentric chromosomes, 0.67% – increase in length of centromeric heterochromatin, 0.38% – increase in length of heterochromatin on the long arm of chromosomes 9, 16, Y. Structural chromosome rearrangements were found in 2.11% patients, among them inversions – 0.86%, Robertsonian translocations and reciprocal translocations – 0.58% i 0.1% respectively, insertions – 0.1%, additional material of unknown origin – 0.1% and marker chromosomes – 0.1%. Numerical chromosomes abnormalities have been detected in 1.63% cases (17 patients out of 1042) – among them Klinefelter syndrome – 0.67% patients, and cases with different mosaic karyotype for sex chromosomes – 0.96%. So it is recommended to carry out karyotyping of couples with infertility.

Key words: infertility; reproduction function; chromosomal abnormalities; karyotype.

Особенности состояния хромосомного аппарата супругов при нарушении репродуктивной функции

А.М.Феськов, Е.С.Жилкова, В.А.Руденко, Н.А.Чумакова, Е.В.Егунькова

Хромосомные аномалии являются распространённой причиной бесплодия в мире, а именно одной из причин прерывания беременности на ранних сроках, мертворождения или рождения ребенка с множественными пороками развития. Общий уровень хромосомных aberrаций в популяции составляет 0,5–3,0 %, в то время как у людей с нарушением фертильности этот показатель колеблется от 2,9 до 14%. В работе представлены результаты кариотипирования 1024 пациентов с проблемами репродуктивной функции, которые обратились в Центр репродукции человека «Клиника профессора Феськова А.М.» в период с 2009 по 2018 год. Для проведения цитогенетического обследования использовали препараты метафазных хромосом, полученные путем культивирования лимфоцитов периферической крови по стандартной методике, с использованием GTG-метода и CBG-метода дифференциального окрашивания хромосом. Анализ препаратов провели в соответствии с Международной системой цитогенетической номенклатуры человека. Среди обследованных больных у 6,05% пациентов кариотипы имели разные изменения хромосом, в то время как в популяции этот показатель составляет 0,5–3,0 %. Такое повышение частоты изменений в кариотипе пациентов с нарушением репродуктивной функции, в сравнении с показателями по популяции, является статистически значимым ($p < 0,05$). В результате обследования идентифицированы количественные изменения хромосом, структурные хромосомные aberrации, а также хромосомные полиморфизмы. В исследуемой группе преобладали хромосомные полиморфизмы, их доля составила 2,4%, из них 1,25% случаев – увеличенные спутниковые районы акроцентрических хромосом, 0,67% – увеличение центрального гетерохроматина, у 0,38% – увеличение гетерохроматина на длинном плече хромосом 9, 16, Y. Структурные хромосомные перестройки были найдены у 2,11% пациентов, среди них инверсии – 0,86%, Робертсоновские и реципрокные транслокации – 0,58% и 0,1% соответственно, инсерции – 0,1%, дополнительные фрагменты – 0,1%, а также маркерные хромосомы – 0,1%. Общая частота численных хромосомных аномалий составила 1,63% (17 пациентов из 1042), из них с синдромом Клайнфельтера – 0,67% пациентов, с разнообразным мозаицизмом по половым хромосомам – 0,96%. В связи с вышеизложенным целесообразно проводить кариотипирование супружеских пар с бесплодием.

Ключевые слова: бесплодие; репродуктивная функция; хромосомные аномалии; кариотип.

Вступ

Наразі однією з актуальних проблем здоров'я є проблема непліддя, так, частота неплідних шлюбів в світі становить від 8 до 29%. За даними ВОЗ, цей показник в Європі становить близько 10%, в США – 15%, в Канаді – 17% (Гончарова и др., 2012; Муравйова, 2002; Тавокина, 2013; Полодієнко, 2014; Пилип та ін., 2013). Хромосомна патологія є однією з причин переривання вагітності на ранніх термінах, мертворождення або народження дитини з множинними вродженими вадами розвитку. Так, загальний рівень хромосомних aberrаций в популяції становить 0,5–3,0 %, в той час як у людей з порушенням фертильності цей показник коливається від 2,9 до 14% (Требка и др., 2014; Тавокина, 2014; Тавокина и др., 2007; Гонтарь и др., 2016). Серед змін кариотипу вирізняють кількісні (анеуплоїдії) та структурні зміни хромосом. Усі структурні зміни кариотипу поділяють на збалансовані та незбалансовані. Пацієнти з незбалансованою перебудовою, як правило, мають клінічну картину прояву. Навпаки, пацієнти зі збалансованими перебудовами, такими як Робертсонівські і реципрокні транслокації, інверсії, є фенотипічно здоровими. Але для таких пацієнтів існує підвищений ризик народження хворої дитини з незбалансованим кариотипом (Тавокина, 2014; Фетисова и др., 2008; Ворсанова и др., 1998; Веропотвелян та ін., 2017). У зв'язку з вищевикладеним метою даного дослідження стало проведення кариотипування і вивчення стану хромосомного апарату подружніх пар, які звернулись до центру репродукції з метою проведення обстеження перед плануванням вагітності.

Матеріали і методи досліджень

Збір первинної інформації та лабораторні дослідження проводилися в Центрі репродукції людини «Клініка професора Феськова О.М.» (м. Харків). Перевірено кариотипи пацієнтів зі зниженням репродуктивної функції, які звернулись до центру в період з 2009 по 2018 рік. Для цитогенетичного аналізу використовували препарати метафазних хромосом, які отримали шляхом культивування лімфоцитів периферичної крові за стандартною методикою, застосовуючи GTG-метод і CBG-метод диференційного фарбування.

Дослідження препаратів здійснили відповідно до Міжнародної системи цитогенетичної номенклатури людини (Shaffer et al., 2009). При виборі метафазних пластин для аналізу керувались наступними критеріями: рівномірність розкиду хромосом в різних ділянках метафазної пластини; відсутність накладань хромосом одна на одну, які заважають їх ідентифікації; відсутність в полі зору інших метафаз; усі хромосоми однієї метафазної пластини знаходяться в одному полі зору при збільшенні.

Для кожного пацієнта проаналізовано 20 метафазних пластин з використанням GTG-методу і 10 із використанням CBG-методу диференційного фарбування хромосом. У випадку виявлення мозаїцизму аналізували 100 метафазних пластин з використанням GTG-методу і 10 з використанням CBG-методу.

Дослідження препаратів хромосом проведено з використанням біокулярного мікроскопу Nikon Eclipse 80i. Обробку зображення метафаз здійснили з використанням програмного забезпечення Lucia Cytogenetics. Karyo («LaboratoryImaging», Чехія).

При проведенні статистичного аналізу дані перевірені на відповідність закону нормального розподілу. Статистичні гіпотези перевіряли за допомогою критеріїв χ^2 за рівнів значущості 0,05, 0,025, 0,01 (Атраментова, Утевская, 2008).

Результати та обговорення

Аналіз каріотипу провели для 1042 пацієнтів з порушенням репродуктивної функції: первинне непліддя, пари з невдалими спробами ЕКЗ при перенесенні ембріонів високої якості, переривання вагітності на ранніх термінах.

В результаті проведеного цитогенетичного дослідження виявлено зміни каріотипу у 6,05% випадків (63 з 1042 пацієнтів), в той час як у популяції цей показник становить 0,5–3,0%. Таке підвищення частоти змін у пацієнтів з непліддям, порівняно з показниками в популяції, є статистично значущим ($\chi^2=4,862$; $\chi^2_{крит.}=3,841$; $p<0,05$; $p=0,028$). Обстеження показало наявність в каріотипах кількісних змін хромосом, структурних хромосомних аберацій, а також хромосомних поліморфізмів. У досліджуваній групі структурні перебудови переважали над випадками з кількісними хромосомними абераціями – 2,11% (22 з 1024) і 1,63% (17 з 1042) відповідно. Найбільш поширеними виявились хромосомні поліморфізми, які склали 2,40% (25 з 1024).

Загальна частота кількісних змін склала 1,63% (17 пацієнтів з 1042), з них 0,67% (7 з 1024) – чоловіки з синдромом Клайнфельтера (47,XXY). За даними літератури, додаткова X хромосома є найбільш поширеною зміною каріотипу, яку асоціюють з непліддям чоловіків, а саме з порушенням сперматогенезу, включаючи повну відсутність сперматозоїдів в еякуляті (Волков и др., 2017; Chantot-Bastarud et al., 2008; Mierla et al., 2015; Huleyuk et al., 2010).

У 0,96% (10 з 1024) обстежених виявлено мозаїцизм за статевими хромосомами – 4 випадки мозаїчного каріотипу – mos 46,XY/47,XXY, 2 випадки – mos 46,XY/45,X та mos 46,XX/46,XY, 1 випадок мозаїчного каріотипу полісомії за X хромосомою – mos 45,X/46,XX/47,XXX і 1 випадок – mos 45,X/46,XY/47,XY. За даними авторів, наявність мозаїчного каріотипу з нормальним клоном клітин є прогностично сприятливішим, в порівнянні з повною анеуплоїдією, оскільки в багатьох випадках це зумовлює менші порушення сперматогенезу і не спричиняє азооспермію (Пилип та ін., 2013; Требка и др., 2014).

Інша група порушень, які ідентифікували у пацієнтів, – структурні хромосомні аберації, серед яких інверсії, Робертсонівські та реципрокні транслокації, інсерції, додаткові фрагменти, а також маркерні хромосоми. В даному дослідженні серед структурних хромосомних перебудов переважали інверсії – 0,86% (9 з 1024). Найбільш поширеною виявилася перичентрична інверсія хромосоми 9, яка склала 0,77% випадків (8 з 1024). Згідно до міжнародної номенклатури хромосом, перичентрична інверсія хромосоми 9 розцінюється як варіант норми. Однак, за даними літератури, цю перебудову пов'язують з непліддям (Тавокина и др., 2007; Фетисова и др., 2008).

Інший тип перебудов, який знайдено в каріотипах пацієнтів, є Робертсонівські транслокації. Особливість такої транслокації в тому, що вона є збалансованою і без фенотипічного прояву. Однак у носія є підвищеним ризик народження дітей з незбалансованим каріотипом. Окрім цього, така транслокація має сімейний характер носійства. Частка Робертсонівських транслокацій в зазначеній групі склала 0,58% (6 з 1024). Серед них найпоширенішою в каріотипі дериватною хромосомою, яка утворилася внаслідок збалансованої Робертсонівської транслокації, є хромосома

der (13;14)(q10;q10) (рис. 1) та der (13;21)(q10;q10), що складає 50% та 33,33% від загального числа дериватних хромосом відповідно.

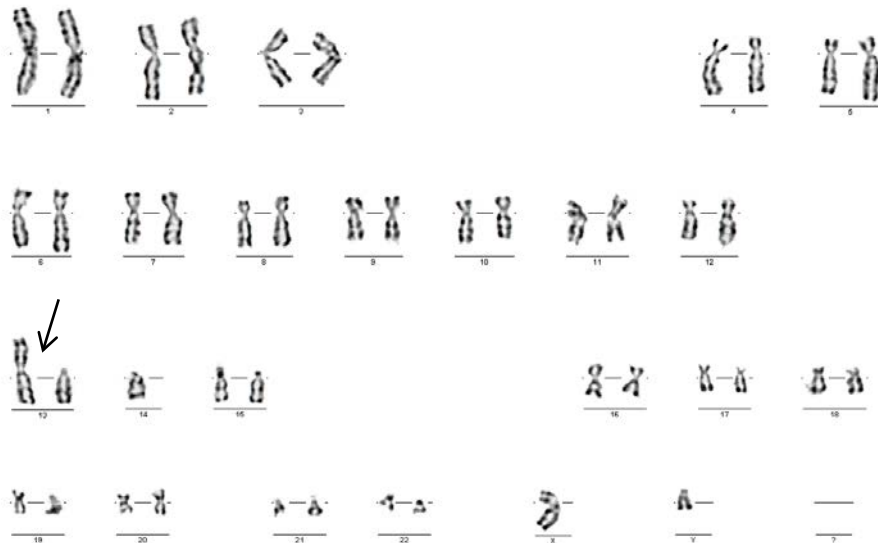


Рис. 1. Каріотип пацієнта з Робертсонівською транслокацією. 45,XY,der(13;14)(q10;q10)

Частка пацієнтів з реципрокними транслокаціями склала 0,38% (4 з 1024). У більшості випадків носій такої аберації не має фенотипічних проявів, але може мати репродуктивні проблеми, у зв'язку з утворенням незбалансованих гамет. Запліднення гамет з незбалансованим набором хромосом обумовлює загибель зиготи до імплантації, завмирання вагітності на ранніх стадіях, мимовільні викидні або народження дитини з множинними вадами розвитку (Полодієнко, 2014).

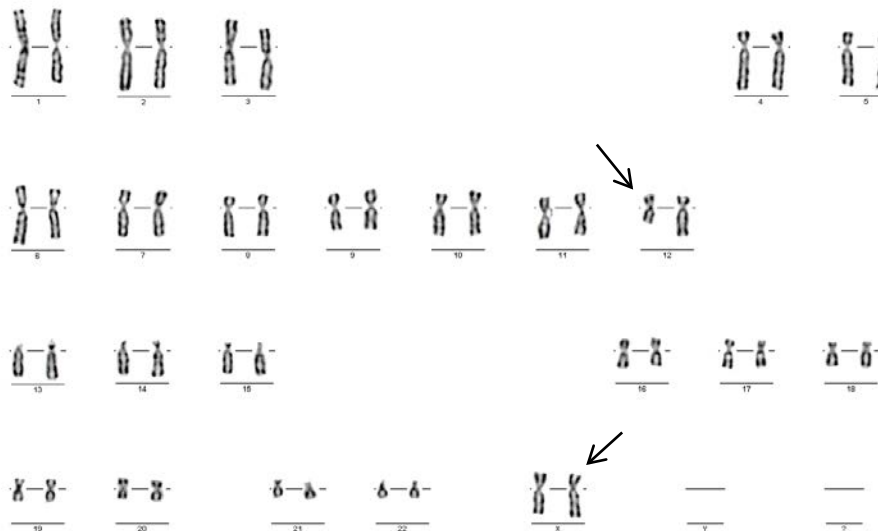


Рис. 2. Каріотип пацієнта 46,X,ins(12;X)(q21;q21q25)

Менший відсоток структурних аберацій в каріотипах пацієнтів з непліддям склали маркерна хромосома X, додатковий фрагмент в хромосомі та інсерція (рис. 2). Кожну з них ідентифікували з частотою в 0,1% (1 з 1024).

Що стосується хромосомних поліморфізмів, їх частка в досліджуваній групі становить 2,4% (25 з 1024), з них у 1,25% випадків (13 з 1024) виявлено збільшені супутникові райони акроцентричних хромосом, збільшення центромерного гетерохроматину (рис. 3, 4) ідентифікували у 0,67% випадків (7 з 1024). У 0,38% (4 з 1024) пацієнтів виявили збільшення розмірів гетерохроматину на довгому плечі хромосом 9, 16, Y, з них 50% випадків – це збільшення гетерохроматину на хромосомі Y.

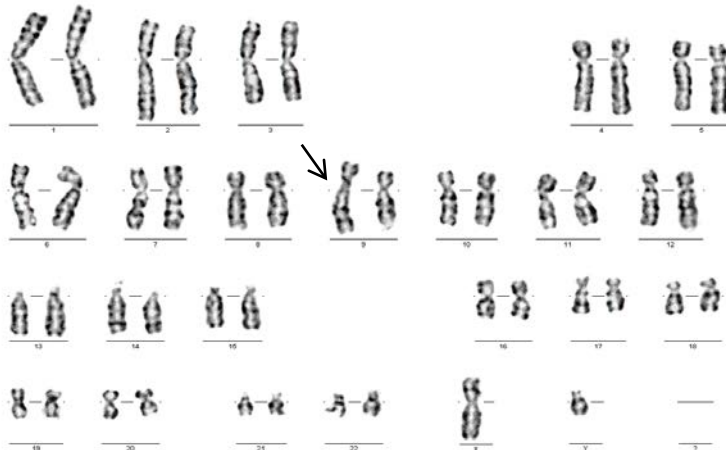


Рис. 3. Каріотип пацієнта 46,XY,9cenh+ (GTG-метод)

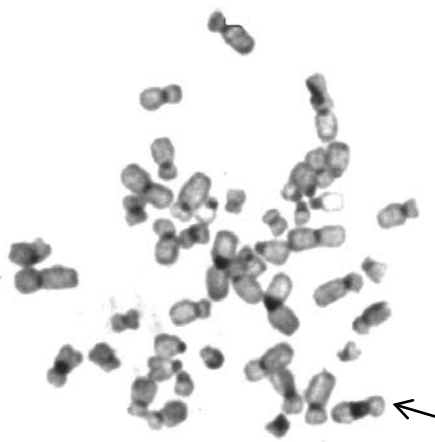


Рис. 4. Каріотип пацієнта 46,XY,9cenh+ (CBG-метод)

Незважаючи на той факт, що такі поліморфізми, згідно з номенклатурою цитогенетики, вважаються варіантом норми, за літературними даними залишається відкритим питання щодо впливу таких поліморфізмів на репродуктивну функцію людини. Так, припускається, що поліморфні варіанти гетерохроматину в 1, 9, 16 і Y хромосомах обумовлюють порушення їх спарювання в мейозі і призводять до нерозходження хромосом і, як наслідок, до утворення незбалансованих гамет (Полодієнко, 2014; Муравйова, 2002; Фетисова и др., 2008; Ворсанова и др., 1998, Shaffer et al., 2009).

Висновки

Таким чином, в результаті обстеження, у пацієнтів з порушенням репродуктивної функції було виявлено підвищення частоти змін хромосом, порівняно із загальнопопуляційними частотами.

Серед них зустрічаються кількісні та структурні хромосомні аберації, а також поліморфні варіанти хромосом. Частка осіб зі змінами в каріотипі склала 6,05% від загальної кількості обстежених, що перевищує цей показник в популяції ($\chi^2=4,862$; $p<0,05$). Таким чином, встановлено, що зміни в хромосомному апараті людини є причиною порушення репродуктивної функції. У зв'язку з вищевикладеним доцільно проводити каріотипування подружніх пар з непліддям.

Список літератури / References

- Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии. – Горловка: Вид-во «Ліхтар», 2008. – 248с. /Atramentova L.A., Utevskaia O.M. Statistical methods in biology. – Gorlovka: "Likhtar" Publishing House, 2008. – 248p./
- Веропотвелян М.П., Шаповаленко Л.Г., Саваровська О.С. Поширеність та спектр хромосомних аномалій серед подружніх пар із ранніми репродуктивними втратами // Репродуктивна ендокринологія. Науково-практичний медичний журнал. – 2017. – №3 (35). – С. 54–60. /Veropotvelyan M.P., Shapovalenko L.G., Savarovska O.S. Incidence and spectrum of chromosomal abnormalities detected in married couples with early losses of pregnancy // Reproductive Endocrinology. Scientific and practical medical journal. – 2017. – No. 3 (35). – P. 54–60./
- Волков А.Н., Рытенкова О.И., Лысенко Д.И., Луговой К.А. Цитогенетика репродуктивных нарушений у мужчин // Медицина в Кузбассе. – 2017. – Т.16, №1. – С. 18–23. /Volkov A.N., Rytenkova O.I., Lysenko D.I., Lugovoy K.A. Cytogenetics of reproductive disorders in men // Medicine in Kuzbass. – 2017. – Vol.16, no. 1. – P. 18–23./
- Ворсанова С.Г., Берешева Л.З., Казанцева Л.З. и др. Молекулярно-цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий у супружеских пар с нарушением репродуктивной функции // Проблемы репродукции. – 1998. – №4. – С. 41–46. /Vorsanova S.G., Beresheva L.Z., Kazantseva L.Z. et al. Molecular and cytogenetic diagnostics of chromosomal anomalies in marrieds with a disruption of reproductive function // Problems of Reproduction. – 1998. – No. 4. – P. 41–46./
- Гонтарь Ю.В., Верлинский О.Ю., Ильин И.Е., Федота А.М. Исследование анеуплоидии и полиплоидии у человека в программах вспомогательных репродуктивных технологий // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2016. – Т.14, №1. – С. 8–15. /Gontar Yu.V., Verlinsky O.Yu., Ilyin I.Ye., Fedota O.M. Investigation of human aneuploidy and polyploidy in subsidiary reproductive technology programs // Bulletin of the Ukrainian Society of Genetics and Breeders. – 2016. – Vol.14, no. 1. – P. 8–15./
- Гончарова Н.Н., Мартышкина Е.Ю., Казначеева Т.В. и др. Медико-генетические аспекты бесплодия // Акушерство. Гинекология. Репродукция. – 2012. – Т.6, №2. – С. 35–40. /Goncharova N.N., Martyshkina E.Yu., Kaznacheyeva T.V. et al. Medical and genetic aspects of infertility // Obstetrics. Gynecology. Reproduction. – 2012. – Vol.6, no. 2. – P. 35–40./
- Муравйова О.О. Цитогенетичний аналіз хромосом у пацієнтів з порушенням репродуктивної функції // Вісник ОНУ. – 2002. – Т.7, вип.1. – С. 100–104. /Muravyova Ye.A. Cytogenetic investigations of chromosomes of patients with abnormalities in reproduction function // Bulletin ONU. – 2002. – Vol.7, issue 1. – P. 100–104./
- Пилип Л.Я., Спіненко Л.О., Зукін В.Д., Білько Н.М. Хромосомні аномалії у чоловіків із різним ступенем порушення сперматогенезу // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. – 2013. – Т.4 (1). – С. 14–22. /Pylyp L.Y., Spinenko L.A., Zukin V.D., Bilko N.M. Chromosomal abnormalities in patients with sperm disorders // Journal of Dnipropetrovsk University. Biology. Medicine. – 2013. – Vol.4 (1). – P. 14–22./
- Полодієнко О.Б. Хромосомні аномалії у чоловіків із подружніх пар з порушенням репродукції // Вісник ОНУ. Сер. Біологія. – 2014. – Т.19, вип.1 (34). – С. 35–45. /Polodienko O.B. Chromosomal aberrations of men in the married couples with the compromised reproductive anamnesis // Bulletin ONU. Series Biology. – 2014. – Vol.19, issue 1 (34). – P. 35–45./
- Тавокина Л.В. Репродуктивная генетика. Алгоритм молекулярно-цитогенетической диагностики // Здоровье женщины. – 2014. – №6 (92). – С. 106–112. /Tavokina L.V. Reprogenetics. Algorithm of molecular and cytogenetic diagnostics // Woman's Health. – 2014. – No. 6 (92). – P. 106–112./
- Тавокина Л.В. Спектр хромосомных аномалий в каріотипах пациентов с репродуктивными проблемами // Здоровье женщины. – 2013. – №10 (86). – С. 115–120. /Tavokina L. Most frequent chromosomal anomalies in karyotypes of patients with the problems of reproduction // Woman's Health. – 2013. – No. 10 (86). – P. 115–120./
- Тавокина Л.В., Баронова Е.В., Сопко Н.И. Наиболее часто встречающиеся хромосомные аномалии в каріотипах пациентов с репродуктивными нарушениями // Цитология и генетика. – 2007. – №4. – С. 48–55. /Tavokina L.V., Baronova Ye.V., Sopko N.I. The most common chromosomal anomalies in karyotypes of patients with the problems of reproduction // Cytology and Genetics. – 2007. – No. 4. – P. 48–55./
- Требка Е.Г., Маркевич А.Л., Прибушения О.В. и др. Хромосомные аномалии при нарушениях сперматогенеза // Здравоохранение. – 2014. – №5. – С. 4–12. /Trebka Ye.G., Markevich A.L., Pribushenya O.V. et al. Chromosome anomalies at spermatogenesis disorders // Health Care. – 2014. – No. 5. – P. 4–12./
- Фетисова И.Н., Дюжев Ж.А., Конева Т.Г., Липин М.А. Цитогенетические факторы первичного бесплодия и привычной потери беременности // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т.ХV, №1. – С. 43–45. /Fetisova I.N., Dyuzhev Zh.A., Koneva T.G., Lipin M.A. Cytogenetic factors of primary infertility and habitual loss of pregnancy // Bulletin of a New Medical Technologies. – 2008. – Vol.XV, no. 1. – P. 43–45./

Chantot-Bastaraud S., Ravel C., Siffroi J.P. Underlying karyotype abnormalities in IVF/ICSI patients // Symposium: genetic and epigenetic aspects of assisted reproduction. – 2008. – Vol.16, no. 4. – P. 514–522.

Huleyuk N., Astavna D., Tyrkus M. et al. Complex cytogenetic and molecular genetic analysis of males with spermatogenesis failure // Cytology and Genetics. – 2010. – No. 6. – P. 56–61.

Mierla D., Malageanu M., Tulin R., Albu D. Prevalence of chromosomal abnormalities in infertile couples in Romania // BJMG. – 2015. – Vol.18 (1). – P. 23–30.

Shaffer K.G., Slovak M.L., Campbell L.J. ISCN. An international system for human cytogenetic nomenclature. – Basel: S.Karger, 2009. – 138p.

Представлено: О.Ю.Лиманська / Presented by: O.Yu.Lymanska

Рецензент: Н.В.Багацька / Reviewer: N.V.Bagatska

Подано до редакції / Received: 23.08.2019

Про авторів: О.М.Феськов – Центр репродукції людини «Клініка професора Феськова О.М.», вул. Холодногірська, 15, Харків, Україна, 61098, fmad@feskov.com.ua, <https://orcid.org/0000-0001-9250-4174>

Є.С.Жилкова – Центр репродукції людини «Клініка професора Феськова О.М.», вул. Холодногірська, 15, Харків, Україна, 61098, zhilkova@feskov.com.ua, <https://orcid.org/0000-0002-5706-3577>

В.А.Руденко – Центр репродукції людини «Клініка професора Феськова О.М.», вул. Холодногірська, 15, Харків, Україна, 61098, hubenkoval@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7061-9616>

Н.О.Чумакова – Центр репродукції людини «Клініка професора Феськова О.М.», вул. Холодногірська, 15, Харків, 61098, chumakova@feskov.com.ua, <https://orcid.org/0000-0002-3058-2254>

О.В.Єгунькова – Центр репродукції людини «Клініка професора Феськова О.М.», вул. Холодногірська 15, Харків, Україна, 61098, lenaegunkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4996-644X>

About the authors: O.M.Feskov – Center of Human Reproduction «Clinic of Professor Feskov O.», Kholodnogorskaya str., 15, Kharkiv, Ukraine, 61098, fmad@feskov.com.ua, <https://orcid.org/0000-0001-9250-4174>

Ye.S.Zhylkova – Center of Human Reproduction «Clinic of Professor Feskov O.», Kholodnogorskaya str., 15, Kharkiv, Ukraine, 61098, zhilkova@feskov.com.ua, <https://orcid.org/0000-0002-5706-3577>

V.A.Rudenko – Center of Human Reproduction «Clinic of Professor Feskov O.», Kholodnogorskaya str., 15, Kharkiv, Ukraine, 61098, hubenkoval@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7061-9616>

N.O.Chumakova – Center of Human Reproduction «Clinic of Professor Feskov O.», Kholodnogorskaya str., 15, Kharkiv, Ukraine, 61098, chumakova@feskov.com.ua, <https://orcid.org/0000-0002-3058-2254>

O.V.Yegunkova – Center of Human Reproduction «Clinic of Professor Feskov O.», Kholodnogorskaya str., 15, Kharkiv, Ukraine, 61098, lenaegunkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4996-644X>

Об авторах: А.М.Феськов – Центр репродукции человека «Клиника профессора Феськова А.М.», ул. Холодногорская, 15, Харьков, Украина, 61098, fmad@feskov.com.ua, <https://orcid.org/0000-0001-9250-4174>

Є.С.Жилкова – Центр репродукции человека «Клиника профессора Феськова А.М.», ул. Холодногорская, 15, Харьков, Украина, 61098, zhilkova@feskov.com.ua, <https://orcid.org/0000-0002-5706-3577>

В.А.Руденко – Центр репродукции человека «Клиника профессора Феськова А.М.», ул. Холодногорская, 15, Харьков, Украина, 61098, hubenkoval@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7061-9616>

Н.А.Чумакова – Центр репродукции человека «Клиника профессора Феськова А.М.», ул. Холодногорская, 15, Харьков, Украина, 61098, chumakova@feskov.com.ua, <https://orcid.org/0000-0002-3058-2254>

Е.В.Єгунькова – Центр репродукции человека «Клиника профессора Феськова А.М.», ул. Холодногорская, 15, Харьков, Украина, 61098, lenaegunkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4996-644X>

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

UDC: 593.17

Біорізноманіття та структура спільнот ґрунтових інфузорій Талишських лісів південно-східного Азербайджану
Н.А.Ахмедова

У статті наведені дані про фауну ґрунтових інфузорій південно-східного Азербайджану. В результаті досліджень, проведених в 2017–2019 роках, було відзначено 65 видів ґрунтових інфузорій, що належать до 33 родин. Найбільше видове різноманіття інфузорій-педобіонтів спостерігалось в лісових ґрунтах Масалли і Ленкоран. Однак найменша різноманітність видів відзначена в Астаринському регіоні. Найбільше видове різноманіття встановлено для сімейства Colpodidae, з представників якого було відзначено 7 видів. Чотири з них належать до педобіонтного роду *Colpoda*. Майже всі представники цього роду є типово ґрунтовими мешканцями і еврибіонтами з широкою екологічною пластичністю. Крім цього, були відзначені також два види представників роду *Tillina*, також мешканців ґрунтів, але які зустрічаються часом і в прісних водоймах. Потрібно відзначити, що особливі природно-кліматичні умови Ленкоранської природної області наклали свій відбиток на закономірності поширення інфузорій в гірсько-лісових ґрунтах. Акумуляція інфузорій в лісових ґрунтах навесні спостерігається в верхньому горизонті ґрунтової підстилки шару 5 см, влітку в зв'язку зі зменшенням вологості у верхніх шарах спостерігається міграція інфузорій-педобіонтів в глибші шари (10–15 см), а восени із збільшенням опадів і вологості в верхніх ґрунтових горизонтах основна маса ґрунтових інфузорій знову локалізується в лісовій підстилці і в верхньому шарі ґрунтів. Слід також відзначити і ще один специфічний комплекс інфузорій в лісових ґрунтах південно-східного Азербайджану. Ранньою весною і восени, при максимальній вологості лісового ґрунту ми часто відзначали інфузорій, які зазвичай мешкають в прісних водах. Серед них можна відзначити представників таких родів, як *Zosterodasys*, *Nassula*, *Aspidisca*, *Blepharisma*, *Frontonia*, *Urotricha* та ін. Був також обчислений індекс подібності спільнот ґрунтових інфузорій в Талишських лісах Ленкоранського природного району. У дослідженні зроблено спробу порівняти відмінності у спільнотах інфузорій у п'яти різних регіонах південно-східної частини Азербайджану. Аналіз за Бреєм-Кертисом показав, що існує три кластери подібності фауни інфузорій різних досліджених районів південно-східного Азербайджану. Між фаунами високогірних і рівнинних районів спостерігалось менша подібність (52,15–69,00 %).

Ключові слова: інфузорії; південно-східний Азербайджан; Талишські гори; ґрунт; кластерний аналіз Брея-Кертиса; педобіонти; еврибіонти.

The biodiversity and community structure of soil ciliates of Talish forests in south-eastern Azerbaijan
N.A.Ahmadova

New information on the fauna of the soil ciliates of south-eastern Azerbaijan is presented in this article. As a result of surveys conducted in 2017–2019, 65 species of soil ciliates assigned to 33 families were recorded. The highest diversity of pedobiont ciliates was observed in Masalli and Lankaran forest soils. On the other hand, the lowest species diversity was recorded in the Astara region. The highest species diversity was found for the family Colpodidae, of which 7 species were found. Four of them belong to the pedobiont genus *Colpoda*. Almost all representatives of this genus are typically soil species and euribionts with wide ecological plasticity. In addition, two species that are the representatives of the genus *Tillina* were found in soil, but they can be occasionally found in freshwater bodies. It should be noted that the special climatic conditions of south-eastern Azerbaijan impact on the distribution regularity of ciliates in the mountain-forest soils. The accumulation of ciliates in forest soils in spring was observed in the upper horizon of the 5 cm soil litter layer in summer. Due to the decrease in humidity in upper layers, pedobiont ciliate migrates to deeper layers (10–15 cm), and in autumn with the increase in precipitation and humidity in the upper soil horizons, the mass of soil ciliates is again localized in the forest litter and in the upper soil layer. It is also worth noting another specific complex of ciliates in the forest soils of south-eastern Azerbaijan. In early spring and autumn, with the maximum moisture content in the forest soil, we often observed ciliates, which usually dwell in fresh waters. Among them are representatives of such genera as *Zosterodasys*, *Nassula*, *Aspidisca*, *Blepharisma*, *Frontonia*, *Urotricha* etc. The species diversity and community similarity index of soil ciliates in Talish forests of Lankaran natural area were also calculated. The study attempts to compare the difference in ciliates

community among five different regions of south-eastern Azerbaijan. The analysis showed that there are 3 clusters of the similarity of species diversity of ciliate communities. The similarity between the ciliate fauna of the high mountainous regions and fauna of the plain regions was 52.15–69.00 %.

Key words: *ciliates; south-eastern Azerbaijan; Talish Mountains; soil; Bray-Curtis cluster analysis; pedobionts; euribionts.*

Биоразнообразие и структура сообществ почвенных инфузорий Талышских лесов юго-восточного Азербайджана Н.А.Ахмедова

В статье приведены данные о фауне почвенных инфузорий юго-восточного Азербайджана. В результате исследований, проведенных в 2017–2019 годах, было отмечено 65 видов почвенных инфузорий, относящихся к 33 семействам. Наибольшее видовое разнообразие инфузорий-педобионтов наблюдалось в лесных почвах Масаллы и Ленкорана. Однако наименьшее разнообразие видов отмечено в Астаринском регионе. Наибольшее видовое разнообразие отмечено для семейства Colpodidae, из представителей которого было отмечено 7 видов. Четыре из них относятся к педобионтному роду *Colpoda*. Почти все представители этого рода являются типично почвенными обитателями и эврибионтами с широкой экологической пластичностью. Кроме этого, были отмечены также два вида представителей рода *Tillina*, также обитателей почв, но которые встречаются временами и в пресных водоемах. Нужно отметить, что особые природно-климатические условия Ленкоранской природной области наложили свой отпечаток на закономерности распространения инфузорий в горно-лесных почвах. Аккумуляция инфузорий в лесных почвах весной наблюдается в верхнем горизонте почвенной подстилки слоя 5 см, летом в связи с уменьшением влажности в верхних слоях наблюдается миграция инфузорий-педобионтов в более глубокие слои (10–15 см), а осенью с увеличением осадков и влажности в верхних почвенных горизонтах основная масса почвенных инфузорий снова локализуется в лесной подстилке и в верхнем слое почв. Следует также отметить и еще один специфический комплекс инфузорий в лесных почвах юго-восточного Азербайджана. Ранней весной и осенью, при максимальной влажности лесной почвы мы часто отмечаем инфузорий, которые обычно обитают в пресных водах. Среди них можно отметить представителей таких родов, как *Zosterodasys*, *Nassula*, *Aspidisca*, *Blepharisma*, *Frontonia*, *Urotricha* и др. Был также вычислен индекс сходства сообществ почвенных инфузорий в Талышских лесах Ленкоранского природного района. В исследовании предпринята попытка сравнить разницу в сообществах инфузорий в пяти разных регионах юго-восточной части Азербайджана. Анализ по Брея-Кертису показал, что существует 3 кластера сходства фауны инфузорий различных исследованных районов юго-восточного Азербайджана. Между фаунами высокогорных и равнинных районов наблюдалось меньшее сходство (52,15–69,00 %).

Ключевые слова: *инфузории; юго-восточный Азербайджан; Талышские горы; почва; кластерный анализ Брея-Кертиса; педобионты; эврибионты.*

Introduction

Being an important group in nutrient cycling, energy flow and food webs (Christoffersen, González, 2003; Janssen, Heijmans, 1998), soil ciliates participate in the decomposition of benthic residual deposit and the formation and development of soil and accelerate the mineralization processes of carbon, nitrogen and other mineral nutrient elements (Ekelund, Rønn, 1994). As the main bacterial consumers, soil ciliates also have special characteristics such as high respiration, short generation times and rapid multiplication. In the rhizosphere of living plants, protozoa play an important role in the mineralization of mineral nutrient elements (Jing Li et al., 2010). Organic matter released by plants could stimulate bacterial and ciliate activity in the root zone leading to mineralization of organic soil nitrogen and assimilation by plants. On other hand, the growth of plants may also significantly affect the soil quality and ciliate community. The plant roots and soil ciliate community are interdependent. Moreover, they are good bioindicators of soil environments (Foissner, 1987, 1997, 1999). It is important to study the community structure of soil ciliates and their significance in soil environments, to have a better understanding of the function of the ecosystem. The present study aims to investigate the species abundance, biodiversity and community similarity index of soil ciliates in Talish forests of Lankaran natural area. The study also attempts to compare the difference in ciliates community among five different regions of south-eastern part of Azerbaijan.

Methodology

The material was collected seasonally in 2017–2019 years from different parts of the forest zone of the south-eastern Azerbaijan, which is known as a region of humid subtropics (Fig. 1).

In total, over 230 soil samples were collected and processed during the research. The collection of soil samples from the surface was carried out by small plastic containers. For studying the distribution of ciliates in deeper layers, 3 cm in diameter and 30 cm long metal tube was driven into the soil. Some of the collected samples were processed in the field, and the main part was delivered to the laboratory and processed according to standard methods (Aleksperov, 2005). To identify the species composition, methods of impregnation of infrastructure by silver nitrate (Chatton, Lwoff, 1930) and protargol (Aleksperov, 1992) were used. Quantitative accounting was carried out using the Bogorov chamber. Taxonomic identification of ciliates was carried out according to the monographs of Foissner (Foissner, 1992) and Aleksperov (Aleksperov, 2005).



Fig. 1. The sampling points in Talish forests

Results and discussion

In total, 65 species of free-living ciliates belonging to 33 families were found. The species composition and distribution of soil ciliates by collection points are presented in table 1.

As can be seen from the table, the greatest species diversity (47 species) was observed in forest soils in Masallı region. Lankaran where 43 species were recorded was next in species diversity. And the lowest species diversity was observed in Astara (26 species).

The table indicates that the greatest species diversity was found in the family Colpodidae of which 7 species were recorded. Four of them belong to the pedobiont genus *Colpoda*. Almost all representatives of this genus are typically soil species and euribionts with wide ecological plasticity. In addition, two species that are the representatives of the genus *Tillina* were found to be inhabitants of soil in spite the fact that they can be occasionally found in freshwater bodies. Characteristically, those representatives of *Tillina* and *Colpoda* were found at all sampling points of our research and almost a

whole year, sometimes falling out of soil communities only in the winter period. Thus, on the basis of the obtained data, we attribute representatives of the *Tillina* and *Colpoda* genera to background species, unlike *Bresslaua dissimilis*, which, although it is also a pedobiont, belongs to rare species that are present in soil communities in very low numbers.

It should be noted that the special climatic conditions of south-eastern Azerbaijan impact on the distribution regularity of ciliates in the mountain-forest soils. The accumulation of ciliates in forest soils in spring is observed in the upper horizon of the 5 cm soil litter layer. In summer due to a decrease in humidity in the upper layers, pedobiont ciliates migrate to deeper layers (10–15 cm) and in autumn with an increase in precipitation and humidity in the upper soil horizons, the mass of soil ciliates is again localized in the forest litter and in the upper soil layer. It is also worth noting another specific complex of ciliates in the forest soils of south-eastern Azerbaijan. In early spring and autumn, with the maximum moisture content in the forest soil, we often observed ciliates that usually dwell in fresh waters. Among them there are representatives of such genera as *Zosterodasys*, *Nassula*, *Aspidisca*, *Blepharisma*, *Frontonia*, *Urotricha* etc. This is explained by the fact that at high humidity of forest soils, in its upper horizons, cavities between soil particles are completely filled with precipitation water. Thus, in the upper layers of forest soil, especially in the forest litter during the period of maximum moisture, the habitat conditions become similar to fresh water.

Table 1.
Species composition and distribution of ciliates in forest soils of south-eastern Azerbaijan

Species		Sampling points				
		1	2	3	4	5
Order Heterotrichida Stein, 1859						
Fam. Blepharismidae Jankowski in Small et Lynn, 1985						
1.	<i>Blepharisma hyalinum</i> Perty, 1849	+	+			+
2.	<i>B. dileptus</i> Kahl, 1928	+	+			+
3.	<i>B. salinarum</i> Florentin, 1899		+	+		+
4.	<i>B. tardum</i> Kahl, 1928	+			+	
5.	<i>B. steini</i> Kahl, 1932	+	+	+	+	+
Fam. Spirostomatidae Stein, 1867						
6.	<i>Spirostomum minus</i> Roux, 1901	+		+		+
7.	<i>S. teres</i> Claparede et Lachmann, 1858				+	
Fam. Condylomatidae Kahl in Dofflein and Reichenov, 1927						
8.	<i>Condylostoma kasymovi</i> Alekperov, 1984	+		+		+
9.	<i>C. arenarium</i> Spiegel, 1926	+	+			
Fam. Climacostomidae Repak, 1972						
10.	<i>Climacostomum emarginatum</i> Stokes, 1885	+				
Order Hypotrichida Stein, 1859						
Fam. Kahliellidae Tuffrau, 1979						
11.	<i>Kahliella acrobates</i> Horvath, 1932		+			+
12.	<i>K. microstoma</i> Alekperov, 1985		+		+	
Fam. Holostichidae Faure-Fremiet, 1961						
13.	<i>Holosticha azerbaijanica</i> Alekperov and Asadullayeva, 1999	+				
14.	<i>H. grisea</i> Kahl, 1932			+		
Fam. Bakuellidae Jankowski, 1979						
15.	<i>Pseudobakuella alveolata</i> Maupas, 1883	+	+			
Fam. Urostylidae Butschli, 1889						
16.	<i>Urostyla marina</i> Kahl, 1932	+	+			
Fam. Oxytrichidae Ehrenberg, 1838						
17.	<i>Oxytricha fallax</i> Stein, 1859		+			+
18.	<i>O. ovalis</i> Kahl, 1932		+			+
19.	<i>O. chlorelligera</i> Kahl, 1932	+	+			
Order Euplotida Jankowski, 1980						
Fam. Euplotidae Ehrenberg, 1838						
20.	<i>Euplotes charon</i> Müller, 1786	+	+		+	+

Table 1, continuation

	Fam. Aspidiscidae Ehrenberg, 1838					
21.	<i>Aspidisca fusca</i> Kahl, 1928				+	+
	Order Metopida Jankowski, 1980					
	Fam. Lacrymariidae Foissner, 1983					
22.	<i>Lacrymaria coronata</i> Clap. et L., 1858			+		+
23.	<i>L. acuta</i> Kahl, 1933	+	+			
	Order Chlamyodontida Deroux, 1976					
	Fam. Chilodonellidae Deroux, 1970					
24.	<i>Trighigmostoma cucullulus</i> Müller, 1786	+		+	+	
	Fam. Chlamyodontidae Stein, 1859					
25.	<i>Chlamyodon mnemosine</i> Ehrenberg, 1857			+	+	
26.	<i>C. rectus</i> Ozaki and Yagiu, 1941			+		
	Order Nassulida Jankowski, 1968					
	Fam. Nassulidae de Fromental, 1874					
27.	<i>Nassula citrea</i> Kahl, 1930			+		+
	Fam. Colepidae Ehrenberg, 1838					
28.	<i>Coleps hirtus</i> Müller, 1786	+	+	+		
	Fam. Holophryidae Perty, 1852					
29.	<i>Holophrya vorax</i> Bragesco, 1960	+	+			+
	Fam. Placalidae Song and Wilbert, 1989					
30.	<i>Placal longinucleatus</i> Song and Wilbert, 1989	+		+	+	
	Fam. Prorodontidae Kent, 1880					
31.	<i>Pseudoprorodon ovum</i> Ehrenberg, 1833	+	+			
32.	<i>P. ellipticus</i> Kahl, 1932			+		+
	Fam. Urotrichidae Small et Lynn, 1989					
33.	<i>Urotricha turanica</i> Alekperov, 1977	+	+		+	+
34.	<i>U. armata</i> Kahl, 1931	+			+	+
35.	<i>U. sphaerica</i> Groliere, 1977				+	+
	Fam. Acropisthiidae Foissner, 1988					
36.	<i>Chaenea tessellata</i> (Kahl, 1935) Dragesco, 1965			+		+
37.	<i>C. teres</i> (Dujardin, 1841) Kahl, 1881	+		+	+	
38.	<i>C. robusta</i> Kahl, 1930			+		+
	Order Scuticociliatida Small, 1967					
	Fam. Loxocephalidae Jankowski, 1964					
39.	<i>Sathrophilus agitatedus</i> Corliss, 1960	+	+		+	
40.	<i>S. mobilis</i> Kahl, 1931	+	+	+		+
41.	<i>Cinetochilum margaritaceum</i> Ehrenberg, 1831			+		+
	Order Philasterida Small, 1967					
	Fam. Cyclidiidae Ehrenberg, 1838					
42.	<i>Homalogastra setosa</i> Kahl, 1926	+	+			+
	Fam. Enchelyidae Ehrenberg, 1838					
43.	<i>Enchelyodon sulcatus</i> Kahl, 1930	+	+			+
44.	<i>E. lencoranica</i> Alekperov, 1984	+		+		+
	Fam. Spathidiidae Kahl in Dofflein and Reichenov, 1929					
45.	<i>Spathidium procerum</i> Kahl, 1930	+	+	+		
	Fam. Tracheliidae Ehrenberg, 1838					
46.	<i>Dileptus falciformis</i> Kahl, 1932			+		+
47.	<i>D. sulcata</i> Claparede et Lachmann, 1885				+	+
	Order Parastomatida Jankowski, 2007					
	Fam. Pleuronematidae Kent, 1881					
48.	<i>Pleuronema coronatum</i> Kent, 1881	+		+	+	
49.	<i>P. crassum</i> Dujardin, 1836			+	+	+
	Order Microthoracida Jankowski, 1967					
	Fam. Microthoracidae Wrzesniowski, 1870					
50.	<i>Microthorax pusillus</i> Engelmann, 1862			+		+
	Order Synhymeniida Puytorac et al., 1974					
	Fam. Orthodonellidae Jankowski, 1968					
51.	<i>Zosterodasys agamalievi</i> Deroux, 1978	+			+	+

Table 1, continuation

52.	<i>Z. cantabrica</i> Fernandez-Leborans and Alekperov, 1996			+		+
Order Colpodida Puytorac et al., 1974						
Fam. Colpodidae Bory de St. Vincent, 1826						
53.	<i>Bresslaia dissimilis</i> Alekperov, 1985	+	+	+		
54.	<i>Tillina magna</i> Gruber, 1879	+	+	+	+	+
55.	<i>T. minor</i> Alekperov, 1985	+	+	+	+	+
56.	<i>Colpoda cucullus</i> Müller, 1786	+	+	+	+	+
57.	<i>C. inflata</i> Stokes, 1885	+	+	+	+	+
58.	<i>C. bifurcata</i> Alekperov, 1993	+	+	+	+	+
59.	<i>C. steini</i> Maupas, 1883	+	+	+	+	+
Order Peniculida Faure-Fremiet in Corliss, 1956						
Fam. Frontoniidae Kahl, 1926						
60.	<i>Frontonia arenaria</i> Kahl, 1933	+	+			+
61.	<i>F. macrostoma</i> Dragesco, 1960	+	+			+
Fam. Parameciidae Dujardin, 1840						
62.	<i>Paramecium caudatum</i> Ehrenberg, 1838	+	+	+	+	+
63.	<i>P. woodruffii</i> Wenrich, 1928	+	+			+
Fam. Turaniellidae Didier, 1971						
64.	<i>Colpidium colpoda</i> Losana, 1829	+	+	+	+	+
65.	<i>C. striatum</i> Stokes, 1886	+	+	+		
	Total	43	47	30	26	37

Notes: 1 – Lankaran, 2 – Masalli, 3 – Lerik, 4 – Yardimli, 5 – Astara.

Figure 2 presents the results of the cluster analysis of the similarity of species diversity of soil ciliate communities of Talish forests. As can be seen from Fig. 2, the highest similarity of species diversity (69%) was observed among three collection points – Astara, Masalli and Lankaran regions. The similarity of these three points with the Lerik districts was 60.27%. Comparison of the Lerik forest ciliate fauna with the Yardimli fauna also demonstrated their large similarity, 52.15%.

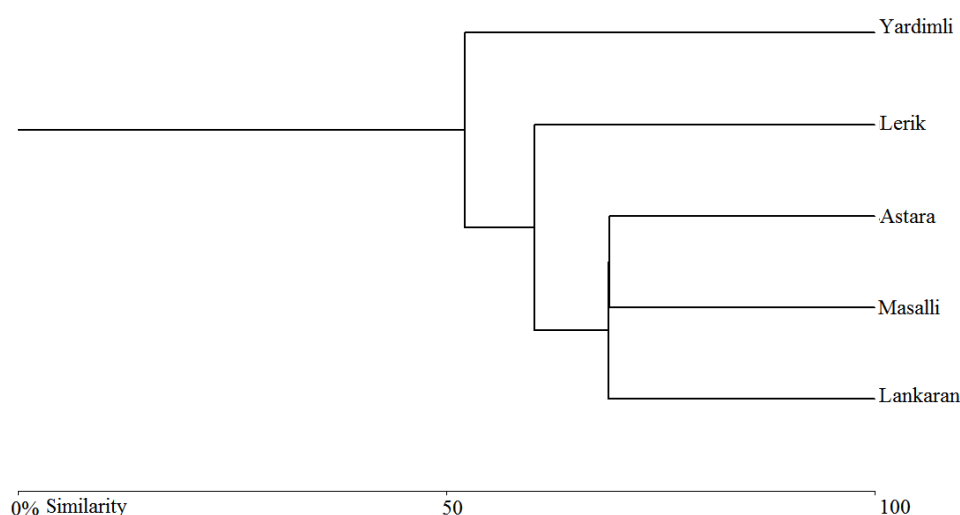


Fig. 2. The similarity of species diversity of ciliate communities in different parts of South-eastern Azerbaijan

This analysis showed that there are three clusters of the similarity by species diversity of ciliate communities. One of them unites the three regions (95.5%) of south-eastern Azerbaijan (Lankaran, Masalli and Lerik), the second one unites all these three points with the Lerik district. And the third cluster covers Yardimli forests and other 4 points. The low similarity between the ciliate faunas of Lankaran, Masalli and Astara regions and the fauna of the other two districts can be explained by geographical

location of the regions. However Lerik and Yardimli regions are located in the highlands, but other three districts are located on the plain.

References

- Alekperov I.Kh. New modification of impregnation ciliates kinetom by silver proteinate // Zoologicheskii Zhurnal (Zoological Journal). – 1992. – No.2. – P. 130–133. (in Russian)
- Alekperov I.Kh. An atlas of freeliving ciliates (Classes Kinetofragminophora, Colpodea, Olygohymenophora, Polyhymenophora). – Baku: “Borchali” Publ., 2005. – 310p. (in Russian)
- Chatton E., Lwoff A. Impregnation, par diffusion argentique, de l'infuciliature des Cilies marins et d'eau douce, apres fixation cytologique et sans dessiccation // C. R. Soc. Biol. Paris. – 1930. – Vol.104. – P. 834–836.
- Christoffersen K., González J.M. An approach to measure ciliate grazing on living heterotrophic nanoflagellates // Hydrobiologia. – 2003. – Vol.491. – P. 159–166.
- Ekelund F., Rønn R. Notes on protozoa in agricultural soil with emphasis on heterotrophic flagellates and naked amoebae and their ecology // FEMS Microbiology Reviews. – 1994. – Vol. 15, no.4. – P. 321–353.
- Foissner W. Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicators, and guide to the literature // Progress in Protistology. – 1987. – Vol.2. – P. 69–212.
- Foissner W. Estimating the species richness of soil protozoa using the non-flooded Petri dish method // In: J.J.Lee and A.T.Soldo (eds.) Protocols in Protozoology. – Allen Press, Lawrence, Kansas. 1992. – P. B10.1–10.2.
- Foissner W. Protozoa as bioindicators in agroecosystems, with emphasis on farming practices, biocides, and biodiversity // Agriculture, Ecosystems and Environment. – 1997. – Vol.63, no.2–3. – P. 93–103.
- Foissner W. Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples // Agriculture, Ecosystems and Environment. – 1999. – Vol.74, no.1–3. – P. 95–112.
- Janssen M.P., Heijmans G.J. Dynamics and stratification of protozoa in the organic layer of a Scots pine forest // Biology and Fertility of Soils. – 1998. – Vol.26, no.4. – P. 285–292.
- Jing Li, Qingyu Liao, Mei Li et al. Community structure and biodiversity of soil ciliates at Dongzhaigang mangrove forest in Hainan Island, China // Applied and Environmental Soil Science. – 2010. – Vol.2010. – Article ID 103819.

Представлено: Т.М.Іскендеров / Presented by: T.M.Iskenderov

Рецензент: С.Ю.Утевський / Reviewer: S.Yu.Utevsky

Подано до редакції / Received: 31.07.2019

Про автора: Н.А.Ахмедова – Інститут зоології НАН Азербайджану, вул. А.Аббасзаде, проїзд 1128, квартал 504, Баку, Азербайджан, AZ1004, nargiz.ahmedova.62@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8967-9560>

About the author: N.A.Ahmadova – Institute of Zoology, Azerbaijan National Academy of Sciences, A.Abbas-zadeh Str., passage 1128, block 504, Baku, Azerbaijan, AZ1004, nargiz.ahmedova.62@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8967-9560>

Об авторе: Н.А.Ахмедова – Институт зоологии НАН Азербайджана, ул. А.Аббасзаде, проезд 1128, квартал 504, Баку, Азербайджан, AZ1004, nargiz.ahmedova.62@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8967-9560>

УДК: 598.2 (477.41)

Сучасний стан орнітофауни дендропарку Олександрія М.В.Причеп

Проведено аналіз видового складу птахів дендропарку Олександрія. Дослідження проводились з 2008 до 2018 рр. Всього зареєстровано 148 видів птахів, що становить 35% від орнітофауни України. Проаналізовано населення птахів за біотопічними групами, характером перебування та типом гніздування. Встановлено, що в умовах дендропарку Олександрія домінуючими біотопічними групами були дендрофіли (80 видів). За характером перебування гніздові склали 90 видів, мігруючі – 48 видів, зимуючі – 31 вид. Залежно від типу гніздування переважали кронові та дуплогніздові птахи, ці групи склали 27,8 та 24,4% відповідно. Значну частину гніздових видів складають представники Piciformes та Passeriformes, що становить 10 та 57,8% відповідно. Falconiformes представлені 4 видами, що складає 4,4% від загальної кількості гніздових видів. Цінність парку також полягає у наявності в його межах сприятливих водно-болотних угідь для зимівлі та кормових міграцій низки таксонів птахів. За рахунок цього зростає населення птахів. Поява в останні роки нових видів птахів може слугувати своєрідним показником повночленності орнітоценозу зазначених територій. Це, зокрема, стосується жовни зеленої, шуліки чорної, осоїда, квака, голуба синяка, погонича звичайного. Встановлено, що нові для парку види з'являються, розселяючись з прилеглих або досить віддалених територій. За роки спостережень зафіксовано 9 видів, занесених до Червоної книги України (*Ciconia nigra*, *Netta rufina*, *Haliaeetus albicilla*, *Milvus migrans*, *Buteo rufinus*, *Pandion haliaetus*, *Bucephala clangula*, *Picus viridis*, *Columba oenas*). Проаналізовано чинники, що впливають на видовий склад птахів. Сюди входять вирубка дерев, розрідження чагарників, надмірна рекреація та пряме хижацтво з боку собак. Однією з основних проблем, що лімітує чисельність птахів у дендропарку, є порушення процесів лісозаготівлі, зокрема у період гніздування птахів. У подальшому плануються більш комплексні дослідження кількісного складу птахів, а також особливостей топічного розподілу відносно біоценозу.

Ключові слова: птахи; гніздування; міграція; дендропарк Олександрія.

Current condition of the ornithofauna of the Alexandria Dendrological Park M.V.Prychepa

The species composition of birds of the Alexandria Dendrological Park has been analyzed. The studies were conducted in 2008–2018. In total 148 bird species were registered (35% of the ornithofauna of Ukraine). Birds were analyzed by biotopic groups, nature of stay and type of nesting. It was found that in the conditions of the Alexandria Dendrological Park, the dominant ecological groups were dendrophiles (80 species). According to the nature of their stay, nesting birds accounted for 90 species, migratory – 48 species, wintering – 31 species. Depending on the type of nesting, canopy-nesting and hole-nesting birds prevailed – 27.8 and 24.4% respectively. Representatives of Piciformes and Passeriformes make up a significant part of the nesting species, which is 10 and 57.8% respectively. Falconiformes are represented by 4 species, which is 4.4% of the total number of nesting species. The value of the park also consists in the presence of favorable wetlands for wintering and forage migration of a number of taxon birds in its territory. As a result, the bird population is growing. The emergence of new bird species in recent years can provide a unique indication of the importance of ornithocenosis in these areas. This concerns in particular Green Woodpecker, Black kite, Honey Buzzard, Night Heron, Stock Dove, Spotted Crane. It has been established that new species appear in the park, settling from nearby or remote areas. During the years of observation, 9 species from the Red Data Book of Ukraine (*Ciconia nigra*, *Netta rufina*, *Haliaeetus albicilla*, *Milvus migrans*, *Buteo rufinus*, *Pandion haliaetus*, *Bucephala clangula*, *Picus viridis*, *Columba oenas*) have been recorded. The factors influencing the species composition of birds have been analyzed. They include felling of trees, thinning of shrubs, uncontrolled recreation and direct predation from dogs. One of the main problems limiting the number of birds in the park is trespassing of logging processes, in particular during the nesting period. In the future, more comprehensive studies are planned on the quantitative composition of birds, as well as features of the topical distribution according to the biocenosis.

Key words: birds; nesting; migrating; Alexandria Dendrological Park.

Современное состояние орнітофауны дендропарка Александрія Н.В.Причеп

Проведен аналіз видового складу птахів дендропарку Олександрія. Дослідження проводились з 2008 до 2018 г. Всього зареєстровано 148 видів птахів, що становить 35% орнітофауни України. Проаналізовано населення птахів за біотопічними групами, характером перебування та типом гніздування. Встановлено, що в умовах дендропарку Олександрія домінуючими біотопічними групами були дендрофіли (80 видів). За характером перебування гніздові склали 90 видів, мігруючі – 48 видів, зимуючі – 31 вид. Залежно від типу гніздування переважали кронові та дуплогніздові птахи, ці групи склали 27,8 та 24,4% відповідно. Значну частину гніздових видів складають представники Piciformes та Passeriformes, що становить 10 та 57,8% відповідно. Falconiformes представлені 4 видами, що складає 4,4% від загальної кількості гніздових видів. Цінність парку також полягає у наявності в його межах сприятливих водно-болотних угідь для зимівлі та кормових міграцій низки таксонів птахів. За рахунок цього зростає населення птахів. Поява в останні роки нових видів птахів може слугувати своєрідним показником повночленності орнітоценозу зазначених територій. Це, зокрема, стосується жовни зеленої, шуліки чорної, осоїда, квака, голуба синяка, погонича звичайного. Встановлено, що нові для парку види з'являються, розселяючись з прилеглих або досить віддалених територій. За роки спостережень зафіксовано 9 видів, занесених до Червоної книги України (*Ciconia nigra*, *Netta rufina*, *Haliaeetus albicilla*, *Milvus migrans*, *Buteo rufinus*, *Pandion haliaetus*, *Bucephala clangula*, *Picus viridis*, *Columba oenas*). Проаналізовано чинники, що впливають на видовий склад птахів. Сюди входять вирубка дерев, розрідження чагарників, надмірна рекреація та пряме хижацтво з боку собак. Однією з основних проблем, що лімітує чисельність птахів у дендропарку, є порушення процесів лісозаготівлі, зокрема у період гніздування птахів. У подальшому плануються більш комплексні дослідження кількісного складу птахів, а також особливостей топічного розподілу відносно біоценозу.

гнездования. Установлено, что в условиях дендропарка Александрия доминирующими биотопическими группами были дендрофилы (80 видов). По характеру пребывания гнездовые составляли 90 видов, мигрирующие – 48 видов, зимующие – 31 вид. В зависимости от типа гнездования преобладали кроновые и дуплогнездовые птицы, эти группы составляли 27,8 и 24,4% соответственно. Значительную часть гнездовых видов составляют представители Piciformes и Passeriformes, что составляет 10 и 57,8% соответственно. Falconiformes представлены 4 видами, что составляет 4,4% от общего количества гнездящихся видов. Ценность парка также заключается в наличии в его пределах ряда благоприятных водно-болотных угодий для зимовки и кормовых миграций ряда таксонов птиц. За счет этого растет население птиц. Появление в последние годы новых видов птиц может служить своеобразным показателем полноты орнитоценоза указанных территорий. Это, в частности, касается желны зеленой, коршуна черного, осоеда, кваквы, клинтуха, погоньша обычного. Установлено, что новые для парка виды появляются, расселяясь из близлежащих или достаточно отдаленных территорий. За годы наблюдений зафиксировано 9 видов, занесенных в Красную книгу Украины (*Ciconia nigra*, *Netta rufina*, *Haliaeetus albicilla*, *Milvus migrans*, *Buteo rufinus*, *Pandion haliaetus*, *Visephala clangula*, *Picus viridis*, *Columba oenas*). Проанализированы факторы, влияющие на видовой состав птиц. Сюда входят вырубка деревьев, разрежения кустарников, чрезмерная рекреация и прямое хищничество со стороны собак. Одной из основных проблем, лимитирующих численность птиц в дендропарке, является нарушение процессов лесозаготовки, в частности в период гнездования птиц. В дальнейшем планируются более комплексные исследования количественного состава птиц, а также особенностей топического распределения относительно биоценоза.

Ключевые слова: птицы; гнездование; миграция; дендропарк Александрия.

Вступ

Відомо, що дендрологічні парки є своєрідними рефугіумами, що зберігаються у межах населених пунктів та виконують роль «мікрозаказників» для окремих елементів природних ландшафтів (Клауснітцер, 1990). Вони значною мірою підвищують різноманітність екологічних умов і створюють сприятливі можливості для перебування (гніздування) тих видів птахів, життєдіяльність яких практично неможлива без лісів. Тому актуальним є вивчення населення птахів зазначених територій. Цьому також сприяє те, що птахи як представники вищих трофічних рівнів чутливо реагують на зміни екологічних умов існування (Сеник, 2005). Розширення міської агломерації і масове вирубування лісів, зокрема у межах річкових заплавл, суттєво впливають на екологічний стан територій подібного типу. Однією з таких територій є дендропарк Олександрія. Парк розташований на північно-західній околиці міста Біла Церква (Київська область). Він розміщений на території другої заплавної тераси р. Рось і охоплює площу в 405,8 га (з них площа водойм – 10,5 га, а плесо річки Рось – 15 га) (Василюк та ін., 2012). Територія парку має трохи видовжену конфігурацію, яка за формою нагадує неправильну трапецію. Вся територія має плавний нахил до р. Рось і характеризується перепадами висот, який складає 27 м. Парк відіграє важливе рекреаційне значення, особливо протягом весняного та літнього періодів. Дендропарк Олександрія знаходиться у мальовничому місці та відрізняється мозаїчністю штучно-створених деревних асоціацій, які межують із водно-болотним комплексом заплави річки Рось та заболочених озер і ставків. Вивченню фауни птахів дендропарку Олександрія були присвячені роботи (Містрякова, 1998, 2001; Яненко та ін., 2015). Враховуючи актуальність дослідження орнітофауни дендропарків у межах України, було поставлено за мету провести докладний аналіз видового складу птахів зазначеної території.

Об'єкти та методи дослідження

Дослідження проводили у період із 2008 до 2018 рр. Об'єктом дослідження були птахи дендропарку Олександрія. Для з'ясування видового складу птахів парку використовували загальноприйняті методи досліджень, а саме: маршрутний метод обліку на повну відстань виявлення. Ці методи були модифіковані відповідно до специфіки об'єктів дослідження (Равкин, Челинцев, 1990; Боголюбов, 1996; Бибби и др., 2000). Дослідження проводилися шляхом маршрутних обліків та на пробних площах. Межі останніх визначалися, як правило, границями деревних формацій. Для моніторингу птахів було у 2008 році закладено постійні маршрути і 6 пробних ділянок, де до 10 раз проводилися обліки у різні періоди року, де також застосовувався маршрутний облік. Відносну чисельність оцінювали за спеціальною шкалою (Белік, 2000). Домінантні види: більше 10 зустрічей за денну екскурсію (ССС – масовий (багаточисельний)); субдомінантні види: 1–9 зустрічей за денну екскурсію (СС – багаточисельний); другорядні види:

регулярно трапляється (С – звичайний); малочисельні види: Р – регулярний, але зустрічається рідко; рідкісні види: РР – 6–10 зустрічей за роки досліджень; дуже рідкісні види: РРР – 1–5 зустрічей за роки досліджень. Фоновими вважали всі звичайні, багаточисельні та масові види. За можливості перевіряли наявність гнізд протягом репродуктивного періоду. Для опису населення орнітокомплексу використовували шкалу, запропоновану В.П.Беліком (Белик, 2000). Достовірність гніздування визначалася у відповідності з критеріями, рекомендованими Комітетом Європейського орнітологічного атласу – ЕОАС (Breeding Bird..., 1992). Особливу увагу було приділено птахам з гніздовою поведінкою (токування, агресивна поведінка, приніс корму чи будівельного матеріалу), зокрема хижим птахам (Домашевский, 2004). В обліках бугайчика, пастушка використовували картування гніздових ділянок (на підставі реєстрації голосів) в комплексі з цілеспрямованим обстеженням придатних біотопів (порослі очеретом береги каналів, зарості верб над самою водою, великі масиви прибережної рослинності з затоками і внутрішніми плесами) (Bogowies et al., 1981; Dombrowski, 1987). Для визначення видів використовували визначник «Птахи фауни України» (Фесенко, Бокотей, 2002). Українські назви птахів наведені згідно з «Анотованим списком українських наукових назв птахів фауни України...» (Фесенко, Бокотей, 2007). Для обліків застосовувались біноклі 12x50 і 12x4 та цифровий фотоапарат із 20-кратним збільшенням.

Результати та обговорення

У межах дендропарку Олександрія виявлено 148 видів птахів, що належать до 16 рядів та об'єднані у 40 родин. Згідно з дослідженнями Л.М.Містрякової, у дендропарку Олександрія було відмічено 61 вид (Містрякова, 1998), В.О.Яненка із співавторами – 82 види птахів (Яненко та ін., 2015).

За нашими даними, абсолютними домінантами є гніздові птахи – 90 видів (60,8%), 48 видів (32,4%) зареєстровані під час осінніх та весняних міграцій, 8 видів (5,4%) прилітають на зимівлю, доповнюючи зимову орнітофауну, яка в цей період, таким чином, складає 31 вид (20,9%).

За типом гніздування переважають види, що гніздяться в кронах дерев (25 видів) та у дуплах і норах (22 види), що становить 27,8 та 24,4% відповідно. Птахи, що влаштовують гнізда на землі, становлять 16,7% зареєстрованих видів. Найменший відсоток серед гніздових видів складають птахи, що влаштовують гнізда в антропогенних спорудах (7,8%) та чагарях (4,4 %).

За топічним розподілом переважають дендрофіли – 54,05%. Лімнофіли становлять 29,6% видового списку, 10,6% – склерофіли, 5,4% – кампофіли (табл. 1).

Долина р. Рось, що проходить територією дендропарку, має важливе значення як міграційний коридор для птахів. Крім того, вона має важливе значення як один із шляхів проникнення птахів із прилеглих та віддалених територій. Можна зупинитись докладніше на декількох видах. Під час міграцій, зокрема восени у 2017 р., неодноразово реєструвались поодинокі особини жовни зеленої *Picus viridis*. Крім того, у 2018 р. вперше було зареєстровано цей вид у гніздовий сезон 28.06.2018 та 4.07.2018 р. 4 особини було зареєстровано в урочищі Голендерня на правому березі р. Рось. Вид також неодноразово реєструвався в осінній період у середній течії р. Рось неподалік дендропарку Олександрія. Враховуючи, що зазначені території – це залишки заплавних лісів, вони можуть слугувати місцем для гніздування цього виду, який характерний для таких біотопів.

Жовна чорна *Dryocopus martius*, що був поширений вище за течією в старих осокорових галях, з 2016 р. реєструвався на гніздуванні в межах Голендерні.

Голуб синяк *Columba oenas* був зареєстрований у гніздовий сезон 24.06.2015 р. У 2018 р. відмічено токування самця в дубовому лісі.

Квак *Nycticorax nycticorax* вперше був зафіксований в межах парку під час сезонних (осінніх) міграцій 2012 р. У подальшому реєструвався майже постійно під час кормових міграцій з інших регіонів. У 2018 р. було виявлено гніздо у осокорово-вербовому гаю урочища Голендерні.

У загальний облік також враховувались види, що реєструвались одноразово. Так, зокрема, канюк степовий *Buteo rufinus* (1 особину цього виду відзначено 19.01.2009 р. над осокоровими буреломами). Чернь червонодзьоба *Netta rufina* була зареєстрована на одному із ставків 19.02.2011 р. у зграї крижнів.

Таблиця 1.

Еколого-фауністичний аналіз орнітофауни птахів дендропарку Олександрія

№	Назва виду	Біотопи			Відносна чисельність	Топічна група	Типи гніздування
		Дерево-чагарниковий	Водно-болотний	Рудеральний			
		Характер перебування					
1	<i>Pandion haliaetus</i>		Пр			Д	
2	<i>Falco tinnunculus</i>		Пр			С	
3	<i>Falco subbuteo</i>	Гн*			С	Д	Кр
4	<i>Buteo lagopus</i>		З			Д	
5	<i>Buteo buteo</i>	Гн, Ос			С	Д	Кр
6	<i>Buteo rufinus</i>		Пр			Д	
7	<i>Milvus migrans</i>		Пр			Д	
8	<i>Circus aeruginosus</i>		Пр			Л	
9	<i>Pernis apivorus</i>	Гн			С	Д	Кр
10	<i>Haliaeetus albicilla</i>		Пр			Д	
11	<i>Accipiter gentilis</i>	Гн, Ос			С	Д	Кр
12	<i>Accipiter nisus</i>	Гн, Ос			С	Д	Кр
13	<i>Ardea cinerea</i>		Пр			Л	
14	<i>Ardea purpurea</i>		Пр			Л	
15	<i>Egretta alba</i>		Пр			Л	
16	<i>Nycticorax nycticorax</i>		Гн		С	Л	Кр
17	<i>Ixobrychus minutus</i>		Гн		С	Л	Пр-ч
18	<i>Botaurus stellaris</i>		Пр			Л	
19	<i>Ciconia ciconia</i>		Пр			С	
20	<i>Ciconia nigra</i>		Пр			Д	
21	<i>Phalacrocorax carbo</i>		Пр			Д	
22	<i>Rallus aquaticus</i>		Гн, інколи З		С	Л	Пр-ч
23	<i>Porzana porzana</i>		Гн		С	Л	Пр-ч
24	<i>Porzana parva</i>		Гн		С	Л	Пр-ч
25	<i>Fulica atra</i>		Гн		СС	Л	Пр-ч
26	<i>Gallinula chloropus</i>		Гн, інколи З		СС	Л	Пр-ч
27	<i>Crex crex</i>		Гн*		С	К	Н
28	<i>Coturnix coturnix</i>			Пр	Р	К	
29	<i>Netta rufina</i>		Пр			Л	
30	<i>Anas clypeata</i>		Пр			Л	
31	<i>Anas penelope</i>		Пр			Л	
32	<i>Anas platyrhynchos</i>		Гн, Ос		ССС	Л	Пр-ч
33	<i>Anas querquedula</i>		Пр		С	Л	
34	<i>Bucephala clangula</i>		Пр			Л	
35	<i>Mergus albellus</i>		Пр			Л	
36	<i>Cygnus olor</i>		Гн		С	Л	Пр-ч
37	<i>Larus ridibundus</i>		Пр			Л	
38	<i>Larus cachinnans</i>		Пр			Л	
39	<i>Larus canus</i>		Пр			Л	
40	<i>Chlidonias niger</i>		Пр			Л	
41	<i>Chlidonias hybrida</i>		Пр			Л	
42	<i>Sterna albifrons</i>		Пр			Л	
43	<i>Sterna hirundo</i>		Пр			Л	
44	<i>Scolopax rusticola</i>		Гн*		С	Д	Н
45	<i>Vanellus vanellus</i>		Пр			Л	
46	<i>Charadrius dubius</i>		Гн		С	Л	Н
47	<i>Tringa ochropus</i>		Пр			Л	

Продовження таблиці.

48	<i>Tringa glareola</i>		Пр			Л	
49	<i>Tringa nebularia</i>		Пр			Л	
50	<i>Tringa totanus</i>		Пр			Л	
51	<i>Actitis hypoleucos</i>		Гн*		С	Л	Н
52	<i>Tachybaptus ruficollis</i>		Пр			Л	
53	<i>Podiceps nigricollis</i>		Пр			Л	
54	<i>Junx torquilla</i>	Гн			С	Д	Дупл
55	<i>Picus viridis</i>	Гн*			С	Д	Дупл
56	<i>Picus canus</i>	Гн, Ос			СС	Д	Дупл
57	<i>Dryocopus martius</i>	Гн, Ос			С	Д	Дупл
58	<i>Dendrocopos major</i>	Гн, Ос			СС	Д	Дупл
59	<i>Dendrocopos syriacus</i>	Гн, Ос			ССС	Д	Дупл
60	<i>Dendrocopos medius</i>	Гн, Ос			ССС	Д	Дупл
61	<i>Dendrocopos minor</i>	Гн, Ос			ССС	Д	Дупл
62	<i>Upupa epops</i>	Гн			СС	Д	Дупл
63	<i>Merops apiaster</i>		Пр			С	
64	<i>Alcedo atthis</i>		Гн			Л	Дупл
65	<i>Apus apus</i>		Пр	Пр		С	
66	<i>Caprimulgus europaeus</i>	Гн			С	Д	Н
67	<i>Athene noctua</i>	Гн*			С	С	Дупл
68	<i>Strix aluco</i>	Гн, Ос			С	Д	Дупл
69	<i>Asio otus</i>	Гн, Ос			С	Д	Кр
70	<i>Columba palumbus</i>	Гн			ССС	Д	Кр
71	<i>Columba oenas</i>	Гн*			РРР	Д	Кр
72	<i>Columba livia</i>			Гн	СС	С	АС
73	<i>Streptopelia turtur</i>	Гн			Р	Д	Кр
74	<i>Streptopelia decaocto</i>	Гн			С	С	Кр
75	<i>Cuculus canorus</i>	Гн, Ос	Гн, Ос		ССС	Л/Д	Ч
76	<i>Corvus corax</i>	Гн, Ос			С	Д	Кр
77	<i>Corvus cornix</i>	Гн, Ос			ССС	Д	Кр
78	<i>Corvus frugilegus</i>		Пр	Пр		Д	
79	<i>Corvus monedula</i>		Пр			Д	
80	<i>Nucifraga caryocatactes</i>		Пр			Д	
81	<i>Pica pica</i>	Гн, Ос	Ос.		ССС	Д	Кр
82	<i>Garrulus glandarius</i>	Гн, Ос			ССС	Д	Кр
83	<i>Sturnus vulgaris</i>	Гн			ССС	Д	Дупл
84	<i>Oriolus oriolus</i>	Гн			СС	Д	Кр
85	<i>Bombucilla garrulus</i>	Пр				Д	
86	<i>Lanius collurio</i>		Гн		Р	Д	Ч
87	<i>Delichon urbica</i>			Гн	Р	С	Ас
88	<i>Riparia riparia</i>		Пр			С	
89	<i>Hirundo rustica</i>			Гн	СС	С	Ас
90	<i>Motacilla flava</i>		Гн		СС	К	Н
91	<i>Motacilla alba</i>		Гн		ССС	К	Н
92	<i>Lullula arborea</i>		Пр			К	
93	<i>Anthus trivialis</i>	Гн			РР	К	Н
94	<i>Phoenicurus phoenicurus</i>			Гн	ССС	С	АС
95	<i>Phoenicurus ochruros</i>			Гн	С	С	АС
96	<i>Erithacus rubecula</i>	Гн			ССС	Д	Н
97	<i>Luscinia luscinia</i>	Гн	Гн		ССС	Д	Н
98	<i>Luscinia svecica</i>		Гн		С	Л	Н
99	<i>Turdus pilaris</i>		Гн, З		С	Д	Кр
100	<i>Turdus merula</i>	Гн			ССС	Д	Кр
101	<i>Turdus philomelos</i>	Гн			СС	Д	Кр
102	<i>Turdus viscivorus</i>	З	З			Д	
103	<i>Panurus biarmicus</i>		Пр			Д	

Продовження таблиці.

104	<i>Aegithalos caudatus</i>	Гн, Ос			СС	Д	Кр
105	<i>Remiz pendulinus</i>		Гн		Р	Л	Кр
106	<i>Parus palustris</i>	Гн, Ос			С	Д	Дупл
107	<i>Parus montanus</i>	Пр				Д	
108	<i>Parus ater</i>	Пр				Д	
109	<i>Parus caeruleus</i>	Гн, Ос			СС	Д	Дупл
110	<i>Parus major</i>	Гн, Ос			ССС	Д	Дупл
111	<i>Sitta europaea</i>	Гн, Ос			СС	Д	Дупл
112	<i>Certhia familiaris</i>	Гн, Ос			С	Д	Дупл
113	<i>Regulus regulus</i>	Пр				Д	
114	<i>Ficedula hypoleuca</i>	Гн			РР	Д	Дупл
115	<i>Ficedula albicollis</i>	Гн			ССС	Д	Дупл
116	<i>Ficedula parva</i>	Гн*			Р	Д	Дупл
117	<i>Muscicapa striata</i>	Гн			СС	Д	Дупл
118	<i>Oenathe oenathe</i>			Гн	Р	С	АС
119	<i>Phylloscopus trochilus</i>	Гн			Р	Д	Н
120	<i>Phylloscopus collybita</i>	Гн			ССС	Д	Пр-ч
121	<i>Phylloscopus sibilatrix</i>	Гн			ССС	Д	Н
122	<i>Hippolais isterina</i>	Гн			РР	Д	Пр-ч
123	<i>Sylvia borin</i>	Пр				Д	
124	<i>Sylvia communis</i>		Гн	Гн	ССС	Д	Пр-ч
125	<i>Sylvia curruca</i>	Гн			Р	Д	Пр-ч
126	<i>Sylvia nisoria</i>	Пр	Пр			Д	Ч
127	<i>Sylvia atricapilla</i>	Гн			ССС	Д	Ч
128	<i>Troglodytes troglodytes</i>	Гн	Гн, Ос		Р	Д	Н
129	<i>Locustella fluviatilis</i>		Гн		СС	Л	Пр-ч
130	<i>Acrocephalus schoenobaenus</i>		Гн		С	Л	Пр-ч
131	<i>Acrocephalus scirpaceus</i>		Гн		С	Л	Пр-ч
132	<i>Acrocephalus arundinaceus</i>		Гн		ССС	Л	Пр-ч
133	<i>Passer domesticus</i>			Гн, Ос	С	С	Ас
134	<i>Passer montanus</i>			Гн, Ос	ССС	С	Ас
135	<i>Fringilla coelebs</i>	Гн			ССС	Д	Кр
136	<i>Fringilla montifringilla</i>	З				Д	
137	<i>Chloris chloris</i>	Гн			СС	Д	Кр, Ч
138	<i>Spinus spinus</i>	З				Д	
139	<i>Carduelis carduelis</i>	Гн	Гн	Гн	СС	Д	Кр
140	<i>Acanthis cannabina</i>	Гн	Гн	Гн	СС	Д	Кр
141	<i>Acanthis flammea</i>		З			К	
142	<i>Loxia curvirostra</i>	З				Д	
143	<i>Pyrrhula pyrrhula</i>	З				Д	
144	<i>Coccothraustes coccothraustes</i>	Гн, інколи З			С	Д	Кр
145	<i>Serinus serinus</i>	З				Д	
146	<i>Emberiza calandra</i>		Пр			К	
147	<i>Emberiza citrinella</i>	Гн			СС	Д	Н
148	<i>Emberiza schoeniclus</i>		Гн*		Р	Л	Пр-ч

Умовні позначення: характер перебування: Гн – достовірно гніздиться; Гн* – можливо гніздиться; Ос – осілий; Пр – весняний або зимовий мігрант; З – зимуючий; відносна чисельність (Белік, 2000): РРР – дуже рідкісний вид (1–5 зустрічей за всі роки досліджень); РР – рідкісний вид (6–10 зустрічей); Р – малочисельний вид (регулярні, але не щорічні зустрічі); С – звичайний (регулярні, але не щорічні зустрічі); СС – багаточисельний (1–10 зустрічей за денну екскурсію); ССС – багаточисельний (більше 10 зустрічей за екскурсію на маршруті); екологічна група: дендрофіли (Д); кампофіли (К); лімнофіли (Л); склерофіли (С); типи гніздування: кронові (Кр); чагарникові (Ч); приземно-чагарникові (Пр-ч) – птахи, що будують свої гнізда в приземній рослинності до 0,5 м; дуплогніздові (Д); наземногніздові (Н) – птахи, що будують свої гнізда, безпосередньо використовуючи верхній шар ґрунту; птахи, що будують гнізда, використовуючи антропогенні спорудження (АС).

Хижаки представлені 4 гніздовими видами, зокрема яструб великий *Accipiter gentilis* (2–3 пари залежно від року), яструб малий *Accipiter nisus* – 2 пари, осоїд *Pernis apivorus* – 1 пара, канюк звичайний *Buteo buteo* – 1–2 пари. Крім того, можливе гніздування підсоколика великого *Falco subbuteo* у одному із старих гнізд ворони сірої *Corvus cornix*, оскільки неодноразово відмічався у гніздовий сезон. Шуліка чорний *Milvus migrans* та лунь очеретяний *Circus aeruginosus* використовують ставки Олександрії у якості «кормових майданчиків» із прилеглих до парку територій нижче за течією (територіальна пара очеретяного луна (2017 та 2018 рр.) та вище за течією (2016 р. – чорний шуліка).

Журавлеподібні Gruiformes представлені 6 видами. Достовірне гніздування погонича малого *Porzana parva* встановлено у 2018 р., коли на одному із занедбаних ставків дендропарку Олександрія було знайдено гніздо, змощене в кущах рогози широколистої *Typha latifolia*.

Ще однією чисельною групою птахів є Дятлоподібні Piciformes. Це може свідчити на користь сприятливих умов для існування кожного із 7 видів. Вони складають 7,8% від загальної кількості гніздових видів. Це, зокрема, жовна сива *Picus canus*, жовна чорна *Dryocopus martius*, дятел сирійський *Dendrocopos syriacus*, дятел малий *Dendrocopos minor*, дятел середній *Dendrocopos medius*, дятел звичайний *Dendrocopos major*, крутиголовка *Junco torquilla*. Статус жовни зеленої зазначається як потенційно гніздовий вид.

Немале значення парку у якості рефугіуму під час зимівлі птахів. Це, зокрема стосується крижня *Anas platyrhynchos*. У окремі роки у межах озер зимує до 600 особин цього виду. Разом з ним у зимовий період неодноразово реєструвались інші водно-болотні птахи, зокрема пастушок *Rallus aquaticus*, водяна курочка *Gallinula chloropus*, пірникоза мала *Tachybaptus ruficollis*. До осілих видів у зимовий період додається 8 залітних (птахи, поява яких відзначена у зимовий період). До них належать чиж *Spinus spinus*, снігур *Pyrrhula pyrrhula*, чечітка звичайна *Acanthis flammea*, золотомушка жовточуба *Regulus regulus*, шишкар ялиновий *Loxia curvirostra*, в'юрок *Fringilla montifringilla*, омелюх *Bombycilla garrulus*, дрізд-омелюх *Turdus viscivorus*, чикотень *Turdus pilaris*.

Ставки та русло р. Рось є місцем для кормових міграцій у весняний та літній періоди численних водно-болотних птахів. Це передусім стосується таких видів: мартин озерний *Larus ridibundus*, мартин сивий *Larus canus*, мартин жовтоногий *Larus cachinnans*, крячок білощокий *Chlidonias hybrida*, крячок річковий *Sterna hirundo*, крячок чорний *Chlidonias niger*, коловодник лісовий *Tringa ochropus*, набережник *Actitis hypoleucos*, лелека білий *Ciconia ciconia*, чапля сіра *Ardea cinerea*, чепура велика *Egretta alba*, бугай *Botaurus stellaris*.

Також невизначеним лишається статус слукви *Scolopax rusticola*, що реєструється під час міграцій поблизу заболочених лісових озер. Двічі птах реєструвався у гніздовий сезон, 20.03.2011 (пара птахів злетіла з трави у лісі) та 16.03.2012 самець слукви виконував шлюбний танець неподалік ставу Водяник. Це може свідчити на користь можливого гніздування цього виду у межах парку чи прилеглих до нього територій.

До найголовніших екологічних чинників, які лімітують чисельність та якісний склад населення птахів дендропарку, можна віднести неконтрольоване вирізання дерев, зокрема в межах урочищ, розташованих вздовж озер та річки Рось. Так, у 2010 році було зрізано сосну з жилим гніздом яструба великого (пара гніздилась протягом багатьох років на одному дереві). Неабиякої шкоди завдає вирізання чагарників у дубових гаях, що впливає на чагарникових та приземно-чагарникових птахів. Останніми роками відчутної шкоди завдає рекреація, зокрема використання водяних мотоциклів, використання шумної музики, петард, проведення масових розважальних заходів, що виступає у якості стрес-чинника для птахів, у тому числі у репродуктивний період.

Висновки

Результати досліджень показали, що на території парку зареєстровано 148 видів птахів. Встановлено, що у межах парку домінують птахи деревно-чагарникові (56 видів). Частка птахів водно-болотного та рудерального комплексу складала 29 та 11 видів. Домінуючими екологічними групами були дендрофіли та лімнофіли. Парк виконує важливу роль як резерват типових для лісостепу представників орнітофауни.

Список літератури / References

- Белик В.П. Птицы степного Придонья. Формирование фауны, ее антропогенная трансформация и вопросы охраны. – Ростов-на-Дону, 2000. – 276с. /Belik V.P. Birds of the steppe Pridonye. Fauna formation, its anthropogenic transformation and protection issues. – Rostov-on-Don, 2000. – 276p./
- Бибби К., Джонс М., Марсден С. Методы полевых экспедиционных исследований. Исследования и учеты птиц. – М.: Консультативный центр экспедиций, 2000. – 186с. /Bibby K., Jones M., Marsden S. Expedition field techniques: bird surveys. – Moscow: Expedition Advisory Center, 2000. – 186p./

- Боголюбов А.С. Методы учетов численности птиц: маршрутные учеты. – М.: Экосистема, 1996. – 17с. /Bogolyubov A.S. Methods of counting the number of birds: route counts. – Moscow: Ecosystema, 1996. – 17p./
- Василіук О., Костюшин В., Норенко К. Природно-заповідний фонд Київської області. – К.: НЕЦУ, 2012. – 338с. /Vasilyuk O., Kostyushin V., Norenko K. Natural reserve fund of Kyiv region. – Kyiv: National Ecological Center of Ukraine, 2012. – 338p./
- Домашевский С.В. Опыт учета хищных птиц в лесных биотопах // Облік птахів: підходи, методики, результати. – Житомир, 2004. – С. 46–47. /Domashevsky S.V. Experience of birds of prey surveys in forest biotopes // Bird surveys: approaches, techniques, results. – Zhytomyr, 2004. – P. 46–47./
- Клауснитцер Б. Экология городской фауны. – М.: Мир, 1990. – 270с. /Klausnitter B. Ecology of urban fauna. – Moscow: Mir, 1990. – 270p./
- Містрякова Л.М. До вивчення орнітофауни міських та приміських зелених насаджень в умовах центрального правобережжя Лісостепу України // Вестн. зоології. – 1998. – Т.32, № 5–6. – С. 107–113. /Mistryukova L.M. Study of the ornithofauna of the urban and suburban green plantations in the Central cis-Dnieper Forest-Steppe of Ukraine // Vestnik zoologii. – 1998. – Vol.32, no. 5–6. – P. 107–113./
- Містрякова Л.М. Орнітофауна приміських лісових зон, дендропарків та міських парків і скверів в умовах Правобережного лісостепу України. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К.: Інститут зоології імені І.І.Шмальгаузена НАН України, 2001. – 18с. /Mistryukova L.M. Ornithofauna of suburban forest zones, arboretums and city parks and squares in the conditions of the Right-bank Forest Steppe of Ukraine. Author's abstract of thesis for obtaining degree of candidate of biological sciences. – Kyiv: Schmalhausen Institute of Zoology, NAS of Ukraine, 2001. – 18p./
- Містрякова Л.М. Успішність розмноження великої синиці у міських та приміських зелених насадженнях центрального лісостепу України // Авіфауна України. – 2001. – Т.1. – С. 23–26. /Mistryukova L.M. The success of large tit multiplication in the urban and suburban green plantations of the Central Forest-Steppe of Ukraine // Avifauna of Ukraine. – 2001. – Vol.1. – P. 23–26./
- Равкин Е.С., Челинцев Н.Г. Методические рекомендации по комплексному маршрутному учету птиц. – М.: ВНИИ охраны природы и заповедного дела Госкомприроды СССР, 1990. – 33с. /Ravkin Ye.S., Chelintsev N.G. Guidelines for the comprehensive routing of birds. – Moscow: All-Russian Research Institute for Nature Protection of the USSR, 1990. – 33p./
- Сеник М.А. Орнітофауна, як індикатор стану лучних екосистем Шацького поозер'я // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку. – Львів: Сполом, 2005. – С. 59–61. /Senik M.A. Ornithofauna, as an indicator of the status of meadow ecosystems of Shatsk Lake // State and biodiversity of ecosystems of Shatsk National Nature Park. – Lviv: Spolom, 2005. – P. 59–61./
- Фесенко Г.В., Бокотей А.А. Анотований список українських наукових назв птахів фауни України. – Київ-Львів, 2007. – 111с. /Fesenko G.V., Bokotey A.A. Annotated list of Ukrainian scientific names of birds of the fauna of Ukraine. – Kyiv-Lviv, 2007. – 111p./
- Фесенко Г.В., Бокотей А.А. Птахи фауни України: польовий визначник. – К.: Українське тов-во охорони птахів, 2002. – 416с. /Fesenko G.V., Bokotey A.A. Birds of the fauna of Ukraine: field guide. – Kyiv: Ukrainian Society for the Protection of Birds, 2002. – 416p./
- Яненко В.О., Турчик А.О., Маркова А.О., Казанник В.О. Видовий склад та добова активність птахів Державного дендрологічного парку «Олександрія» НАН України // Troglodytes. – 2015. – Вип. 5–6. – С. 26–37. /Yanenko V.O., Turchik A.O., Markova A.O., Kazannik V.O. Species composition and daily activity of the birds of the Alexandria State Dendrological Park of NAS of Ukraine // Troglodytes. – 2015. – Vol.5–6. – P. 26–37./
- Borowiec M., Stawarczyk T., Witkowski J. Proba uscislenia metod oceny liczebności ptaków wodnych // Notatki Ornitologiczne. – 1981. – Vol.22 (1–2). – S. 46–61.
- Breeding Bird Atlas of Europe: Working Report 1: Non-passeriformes. – The Netherlands, 1992. – 257p.
- Dombrowski A. Badania awifauny legowej stawow rybnych (instrukcja) // Fauna niziny Mazowieckiej. – Wyzsza szkola Rolniczo-Pedagogiczna im. G.Dymitrowa w Siedlicach, 1987. – 24s.

Представлено: Ю.Л.Кульбачко / Presented by: Yu.L.Kulbachko

Рецензент: Т.А.Атемасова / Reviewer: T.A.Atemasova

Подано до редакції / Received: 18.04.2019

Про автора: М.В.Причепа – Інститут гідробіології НАН України, проспект Героїв Сталінграда, 12, Київ, 04210, Україна, prichepa1987@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-3114-2402>

About the author: M.V.Prychepa – Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Geroyiv Stalingrada Prosp., 12, Kyiv, 04210, Ukraine, prichepa1987@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-3114-2402>

Об авторе: Н.В.Причепа – Институт гидробиологии НАН Украины, проспект Героев Сталинграда, 12, Киев, 04210, Украина, prichepa1987@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-3114-2402>

••• КЛІТИННА БІОЛОГІЯ ••• CELL BIOLOGY •••

УДК: 57.085.23

Морфологічні особливості первинних культур клітин наднирників неонатальних тварин різних видів О.Ю.Новікова, Г.А.Божок, Т.П.Бондаренко

Надирник є залозою внутрішньої секреції, яка в процесі органогенезу формується з похідних екто- і мезодерми. Механізми, які змушують об'єднуватися різні за походженням типи клітин, шляхи міграції та клітинні взаємодії досі не з'ясовані повністю. Одним з інструментів для вивчення цих механізмів є первинна культура клітин, отримана з надирника. Метою нашої роботи було порівняння морфологічних особливостей первинних культур клітин модельних тварин, що належать до різних рядів, – свині, кролика і миші *in vitro* в різних умовах культивування (характер ростової поверхні, наявність ростових факторів), а також розробка методичних підходів для отримання і підтримання первинних культур клітин надирників неонатальних тварин. Культивування проводили в стандартних умовах температури і вологості навколишнього середовища, концентрації вуглекислого газу, на культуральних поверхнях з нормальною і зниженою адгезивністю в поживному середовищі DMEM, збагаченому 10% фетальної телячої сироватки (ФТС) або ростовими добавками B-27 і FGF. Було встановлено, що культури клітин надирників неонатальних кроликів і поросят, які культивували в умовах з нормальною адгезією і використанням ФТС, мали гетерогенний склад, представляли собою моношар, що складається з клітин декількох морфологічних типів, і мультиклітинні сфероїди (МС). При культивуванні на поверхні зі зниженими адгезивними властивостями в культурах надирників поросят і кроликів клітинний моношар не утворювався, а відбувалося формування флотуючих МС. Після перенесення на 14-ту добу культивування МС обох видів тварин на адгезивну поверхню спостерігається виселення клітин, їх міграція з МС і формування моношару. Подібні етапи розвитку первинних культур клітин, отриманих від кроликів і поросят, дозволяє припустити наявність універсального клітинного складу в неонатальних надирниках даних видів і застосовувати однакові підходи до первинних культур, отриманих з них. На відміну від інших вивчених видів, в культурах клітин мишачих неонатальних надирників не відбувається формування моношару і МС. Культури представляють собою поодинокі прикріплені і флотуючі клітини та невеликі клітинні агрегати.

Ключові слова: *первинна культура клітин надирників; неонатальні тварини; свиня; кролик; миша; моношар; мультиклітинні сфероїди.*

Morphological features of primary cultures of adrenal cells of neonatal animals of different species O.Yu.Novikova, G.A.Bozhok, T.P.Bondarenko

The adrenal gland is an endocrine gland, which in the process of organogenesis is formed from ecto- and mesoderm derivatives. The mechanisms that make cell types of different origins unite, migration routes, and cell interactions are still not fully understood. One of the tools for studying these mechanisms is the primary cell culture obtained from the adrenal gland. The aim of our work was to compare the morphological features of primary cell cultures of model animals belonging to different orders – pigs, rabbits and mice *in vitro* under various cultivation conditions (growth surface pattern, presence of growth factors), as well as developing methodological approaches for obtaining and maintaining primary cultures of adrenal cell of neonatal animals. Cultivation was performed under standard conditions of temperature and humidity, carbon dioxide concentration, on culture surfaces with normal and reduced adhesiveness in a nutrient medium DMEM enriched with 10% fetal calf serum (FCS) or growth supplements B-27 and FGF. It was established that cell cultures of adrenal neonatal rabbits and piglets that were cultured under conditions of normal adhesion and using FCS had a heterogeneous composition, and were presented as a monolayer consisting of cells of several morphological types, and multicellular spheroids (MS). When cultivated on the surface with reduced adhesive properties in cultures of adrenal glands of piglets and rabbits, a cell monolayer was not formed, but flotation MCs were formed. After transferring MCs of both species to the adhesive culture surface on day 14, cell eviction, their migration from the MCs and formation of a monolayer are observed. Similar stages in the development of primary cell cultures derived from rabbits and piglets suggest the existence of a universal cellular composition in the neonatal adrenal glands of these species and allow applying the same approaches to the primary cultures derived from them. Unlike other studied species, monolayer and MS formation does not

occur in cell cultures of mouse neonatal adrenal glands. Cultures consist of single attached and floating cells and small cell aggregates.

Key words: *primary culture of adrenal cells; neonatal animals; pig; rabbit; mouse; monolayer; multicellular spheroids.*

Морфологические особенности первичных культур клеток надпочечников неонатальных животных разных видов О.Ю.Новикова, Г.А.Божок, Т.П.Бондаренко

Надпочечник представляет собой железу внутренней секреции, которая в процессе органогенеза формируется из производных экто- и мезодермы. Механизмы, заставляющие объединяться разные по происхождению типы клеток, пути миграции и клеточные взаимодействия до сих пор не выяснены полностью. Одним из инструментов для изучения этих механизмов является первичная культура клеток, полученная из надпочечника. Целью нашей работы было сравнение морфологических особенностей первичных культур клеток модельных животных, относящихся к разным отрядам, – свиньи, кролика и мыши *in vitro* в различных условиях культивирования (характер ростовой поверхности, наличие ростовых факторов), а также разработка методических подходов для получения и поддержания первичных культур клеток надпочечников неонатальных животных. Культивирование проводили в стандартных условиях температуры и влажности окружающей среды, концентрации углекислого газа, на культуральных поверхностях с нормальной и сниженной адгезивностью в питательной среде ДМЕМ, обогащенной 10% фетальной телячьей сыворотки (ФТС) либо ростовыми добавками В-27 и FGF. Было установлено, что культуры клеток надпочечников неонатальных кроликов и поросят, которые культивировали в условиях с нормальной адгезией и использованием ФТС, имели гетерогенный состав, представляли собой монослой, состоящий из клеток нескольких морфологических типов, и мультиклеточные сфероиды (МС). При культивировании на поверхности с пониженными адгезивными свойствами в культурах надпочечников поросят и кроликов клеточный монослой не образовывался, а происходило формирование флотирующих МС. После перенесения на 14-е сутки культивирования МС обоих видов животных на адгезивную поверхность наблюдается выселение клеток, их миграция из МС и формирование монослоя. Сходные этапы развития первичных культур клеток, полученных от кроликов и поросят, позволяют предположить наличие универсального клеточного состава в неонатальных надпочечниках данных видов и применять одинаковые подходы к первичным культурам, полученным из них. В отличие от остальных изученных видов, в культурах клеток мышинных неонатальных надпочечников не происходит формирования монослоя и МС. Культуры представляют собой одиночные прикрепленные и флотирующие клетки, и небольшие клеточные агрегаты.

Ключевые слова: *первичная культура клеток надпочечников; неонатальные животные; свинья; кролик; мышь; монослой; мультиклеточные сфероиды.*

Введение

Надпочечник представляет собой железу внутренней секреции, гормоны которой поддерживают гомеостаз организма, постоянно и оперативно реагируя на изменяющиеся условия внешней и внутренней среды. Анатомически и функционально надпочечник разделен на 2 слоя – мозговой и корковый. В коре синтезируются кортикостероиды, входящие в состав гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, тогда как в мозговом веществе синтезируются катехоламины. У млекопитающих надпочечник представляет собой единый орган, формирующийся из двух различных типов зародышевой ткани – корковое вещество является производным мезодермы, а мозговое вещество имеет общее с периферической нервной системой происхождение и развивается из симпато-адреналовых производных нервного гребня (Theveneau, Mayor, 2012; Bhatt et al., 2013).

Проблема формирования столь сложного органа, как надпочечник, не является решенной, поскольку механизмы, заставляющие объединяться разные по происхождению типы клеток, пути миграции и клеточные взаимодействия до сих пор не выяснены полностью. В то же время любые нарушения сложной системы межклеточных взаимодействий служат причиной развития множества патологий – от психозов до синдромов, затрагивающих многие жизненно важные функции (аддисонова болезнь, синдром Кушинга, адрено-генитальный синдром и др.). Кроме того, предполагается, что некоторые производные симпато-адреналовой линии ответственны за

возникновение нейробластом, поскольку в большинстве случаев локализация опухоли находится в мозговом веществе надпочечников.

В связи с этим необходимы адекватные модели для изучения факторов, влияющих на формирование нормальной клеточной архитектуры как базиса функциональной активности. Одной из таких моделей является культура клеток. В последнее время обнаружена значительная пластичность медуллярных клеток надпочечников, в частности их способность к трансформации в нейрональном направлении и способность к формированию мультиклеточных сфероидов (Плаксина и др., 2015, 2016; Сидоренко и др., 2011; Saxena et al., 2013). Способность формировать сфероиды свойственна многим типам прогениторных клеток, в том числе нейрональным. Мультиклеточные образования могут содержать в своем составе разные типы клеток и межклеточного матрикса, и представляют собой по сути 3D-модели, имитирующие условия формирования ткани *in vivo*. Ввиду перечисленных особенностей первичные культуры стали широко использовать для изучения процессов нейрогенеза *in vitro*, а также для трансплантации животным с модельными патологиями нервной системы (Santana et al., 2012).

Целью нашей работы было сравнение морфологических особенностей первичных культур клеток надпочечников неонатальных животных, относящихся к разным отрядам (свинья, кролик, мышь) при использовании различных условий культивирования (характер ростовой поверхности, наличие ростовых факторов).

Материалы и методы

Культивирование в разных условиях является способом селекции клеток с необходимыми свойствами, в том числе и стволовых/прогениторных клеток. Нами была предпринята попытка оценки влияния на качественный морфологический состав клеточной культуры различного характера подложек – с нормальной и слабой адгезией.

Выделение культур клеток из надпочечников всех неонатальных животных производилось ферментативным методом. Надпочечные железы извлекали, помещали в стерильный раствор PBS, содержащий антибиотик-антимикотик (пенициллин, стрептомицин, амфотерицин В, США, Sigma). Затем производилось механическое измельчение желез, после чего они подвергались ферментативной обработке раствором коллагеназы 1-го типа (Sigma, США) в концентрации 1 мг/мл и дезоксирибонуклеазы (Sigma, США) в концентрации 0,1 мг/мл. Производили 3 последовательные ферментативные обработки, по 10 минут каждая, после каждого этапа собирали суспензию клеток, остатки ферментов нейтрализовали с помощью охлажденного раствора фетальной сыворотки в PBS. Жизнеспособность клеток оценивали путем окрашивания трипановым синим, концентрацию клеток – путем подсчета в камере Горяева количества неповрежденных клеток.

Были исследованы культуры клеток, выделенные из надпочечных желез мышей, кроликов и свиней 1–3 суточного возраста. Эксперименты проведены с соблюдением правил биоэтики в соответствии с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и одобрены комитетом по биоэтике ИПКиК НАН Украины.

Было изучено влияние условий культивирования на рост и морфологию полученных культур клеток. На первом этапе производилось культивирование на адгезивной и слабоадгезивной ростовых поверхностях. В качестве адгезивного субстрата были использованы специализированные чашки Петри для клеточных культур (SPL, Германия), в качестве неадгезивного – пластиковые чашки Петри (SPL, Германия), не предназначенные для культивирования клеток. В качестве среды для культивирования – среды следующего состава: 1) DMEM (Biowest, Франция), содержащие в качестве ростового фактора стандартную фетальную телячью сыворотку (Sigma, США); 2) DMEM (Biowest, Франция), содержащие добавку B-27 (Sigma, США) и 10 нг/мл FGF (Sigma, США) – предположительно, данная среда не содержит факторов адгезии и поддерживает рост суспензионных культур.

Культивирование производилось при +37°C при 5% CO₂ в инкубаторе. Для моделирования условий низкой адгезии при использовании некультуральной подложки производилось поддержание в бессывороточной среде.

Пассирование производили путем дезагрегации монослоя с помощью диспергирующего раствора трипсина (0,05%) в растворе EDTA (ПанЭко, РФ).

Мікроскопірування нативної культури вироблялось з допомогою світлового мікроскопа Leica-2000, при збільшенні $\times 100$ і $\times 200$.

Визначення співвідношення живих і мертвих клітин в культурі вироблялось з допомогою окрашування досліджуваної суспензії 0,4% розчином трипанового синього.

Результати і обговорення

На перших етапах росту культури кліток, отримані з надпочечників поросят і кроликів, мали схожі особливості. При культивуванні на адгезивній поверхні к субстрату прикріплялись фібробластоподібні клітки, формуючі монослой к 5–7 суткам (рис. 1а, б). На монослой фібробластоподібних кліток зустрічався другий тип кліток – мелкі веретеновидні клітки, існуючі отростки на полюсах і розташовані ланцюжками. Даний тип кліток має менші адгезивні властивості, оскільки першим відшаровується при пересеві. При цьому фібробластоподібні клітки виконують роль фідерного шару для них, за межами монослоя веретеновидні клітки не зустрічаються. В клітках розрізняється мелке ядро, цитоплазма однорідна. По зовнішньому виду і характеру росту, ці клітки були віднесені к нейробластоподібним. Раніше була показана можливість виділення в культуру кліток на різних підложках і середовищах, з нормальним і пониженим вмістом сироватки – на культурах кліток надпочечників поросят (Плаксина і др., 2016).

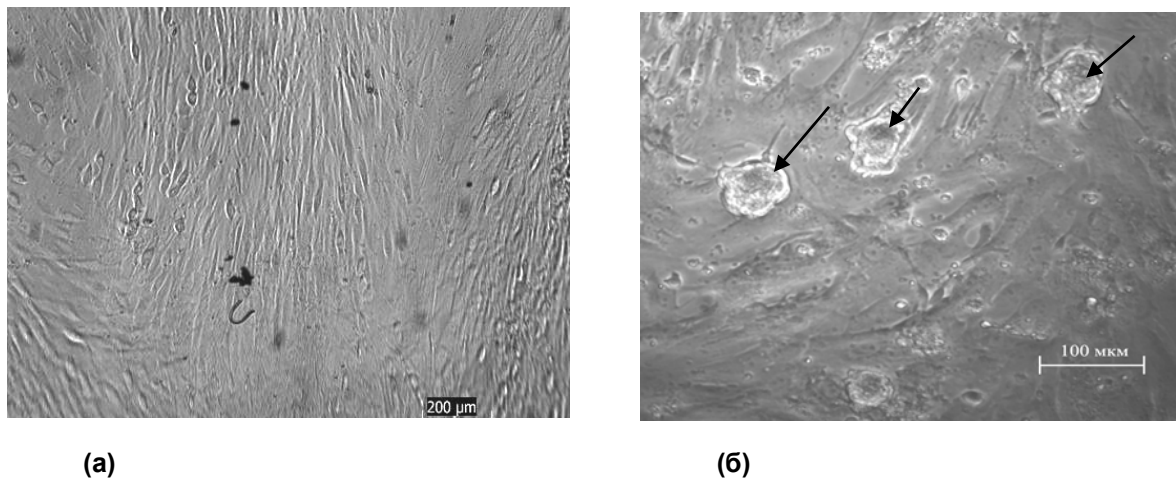


Рис. 1. Монослой первичной культуры клеток надпочечника неонатального кролика (а) и поросенка (б) на 7 сутки роста (стрелкой указаны МС)

В культуре клеток кроликов и поросят к этому сроку обнаруживались прикрепленные мультиклеточные сфероиды (МС), имеющие плотную структуру, которые продолжали увеличиваться в размерах в процессе культивирования (рис. 1). На культуре клеток надпочечников свиней неонатального возраста (от 0 до 30 суток) показано прогрессирующее снижение способности к образованию МС в культуре, их прикреплению и формированию монослоя в зависимости от возраста животного (Сидоренко и др., 2011; Плаксина и др., 2015), что подтверждается также в нашей работе.

При культивировании на поверхности с пониженными адгезивными свойствами в культурах надпочечников поросят и кроликов клеточный монослой не образовывался, а происходило формирование флотирующих МС, которые постепенно увеличивались в размерах. К 7–9 суткам размеры МС в культурах достигали 100–150 мкм (рис. 2), а в течение последующих 14 суток наблюдения продолжали увеличиваться до 200–250 мкм. МС формируются во всех вариантах исследованных условий – на адгезивной и неадгезивной поверхности, как в присутствии 10% ФТС, так и на бессывороточной среде, содержащей факторы роста (1% В27, 10 нг/мл FGF). В процессе культивирования размеры сфероидов увеличиваются за счет деления клеток.

Для того чтобы выяснить, сохраняется ли способность к адгезии у флотирующих МС, их спустя 14 суток культивирования переносили в условия с адгезивной поверхностью. При этом в

культуре, полученной из надпочечников кролика, из МС мигрировали (выселялись) клетки фибробластоподобной и полигональной формы (рис. 3, а, б). При дальнейшем культивировании сфероиды распластывались на субстрате, и рост монослоя продолжался, до конца срока наблюдения (21 сутки) сфероиды окончательно деградировали. Таким образом, показано влияние характера ростовой поверхности на поведение клеток и сохранение адгезивных свойств у клеток, культивируемых в составе сфер, по крайней мере, в течение первых 7 суток роста.

При переносе флотирующих сфероидов культуры НП порослят из неадгезивных в адгезивные условия происходило их прикрепление к субстрату и выселение клеток, имеющих нейробластоподобную морфологию, расположенных цепочками.

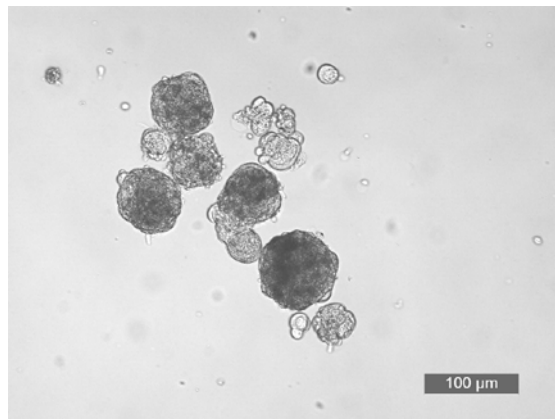
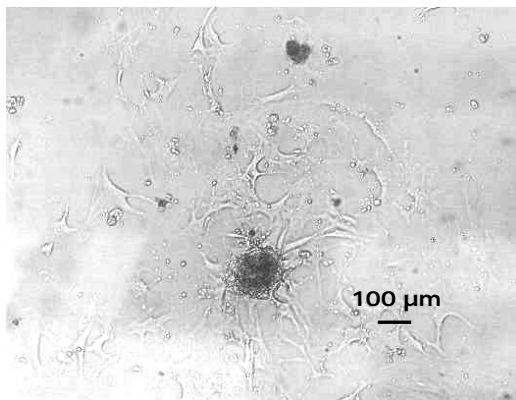
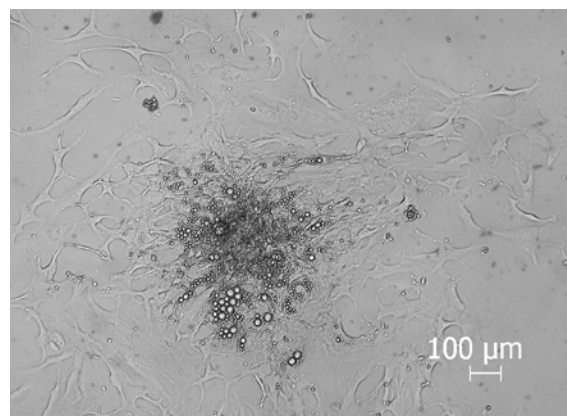


Рис. 2. Мультиклеточные сфероиды в первичной культуре клеток, полученной из надпочечника неонатального кролика (14 сутки роста)



(а)



(б)

Рис. 3. МС из надпочечников неонатального кролика, полученный в условиях слабой адгезии и перенесенный на адгезивную поверхность на 7-е сутки. (а) – расселение клеток фибробластоподобной и полигональной формы из прикрепившегося МС; (б) – монослой клеток, сформировавшийся из прикрепленной цитосферы

При культивировании на слабоадгезивной поверхности в среде, содержащей ростовые добавки, аналогично культуре с 10% ФТС, большая часть клеток формировала флотирующие МС.

Полученные данные позволяют предположить, что данный тип роста – в виде МС является примером способности формировать сферические колонии разных типов стволовых и прогениторных клеток, которые присутствуют и в надпочечнике на ранних сроках неонатального развития. Показано их присутствие в надпочечниках человека, быка, свиньи (Chung et al., 2009; Santana et al., 2012; Плаксина и др., 2015). Из исследований на разных видах животных известно,

что подобные сфероиды могут формироваться в культурах клеток надпочечников ранними предшественниками хромоаффинных клеток, имеющих происхождение из нервного гребня, общее с нейронами и глиальными клетками. В настоящей работе мы показали возможность получения МС из надпочечных желез кролика и сходство этапов развития с таковыми в культуре клеток надпочечников поросят.

Процесс формирования сфероида на клеточном уровне описан в литературе. Отсутствие адгезивной поверхности на этапе помещения клеток в искусственные условия является стимулом к запуску взаимодействия клетка-клетка, затем происходит выделение межклеточного матрикса, используемого для опоры делящимися клетками, формирование градиента веществ, что обеспечивается избирательной экспрессией генов и обуславливает развитие по одному из альтернативных путей (Duval et al., 2017). Ростовая поверхность является селективным фактором для избирательного роста фибробластоподобных клеток либо флолирующих сфероидов, что может свидетельствовать в пользу сохранения некоммутированного состояния клеток в 3D-условиях, в которых они пребывают в составе цитосфер (Vukicevic et al., 2015). Можно предположить один из механизмов, объясняющих зависимость морфологии и свойств клеток от наличия ФТС в ростовой среде, согласующийся с общими представлениями «модели по умолчанию» индукции нервных клеток. В ФТС выявлен ингибирующий нейрогенез белок BMP (Kodaïra et al., 2006), а также, возможно, другие, неисследованные пока, ингибирующие факторы. Отсутствие такого ингибирующего влияния при использовании среды, содержащей B27 и FGF, способствует индукции развития по нейрогенному пути.

Культивирование производных нервного гребня, выделенных из надпочечников мышей, было подробно описано в работе (Saxena et al., 2013). Показана возможность получения культур, содержащих флолирующие цитосферы в неадгезивных бессывороточных условиях. Причем формируются сфероиды и сохраняют способность к увеличению в размерах только в культурах 2-3-дневных мышей. В нашей работе в культуре клеток мышей, по описанным выше протоколам, при культивировании на адгезивной поверхности в присутствии как 10% ФТС, так и бессывороточных ростовых добавок, не наблюдалось формирования клеточного монослоя (рис. 5). Культура содержала округлые прикрепленные и флолирующие клетки, а также их агрегаты с небольшим количеством клеток в составе и рыхлой структурой. При окрашивании трипановым синим показано, что клетки не повреждены. Вероятно, клетки в данных культурах имеют иные механизмы роста, чем у других исследованных видов и требуют применения других ростовых факторов для получения монослоя. В культуре можно выделить два основных морфологических типа: прозрачные одиночные клетки и более темные, чаще встречающиеся в составе агрегатов. Сфероиды, имеющие плотную структуру, также не образовывались.

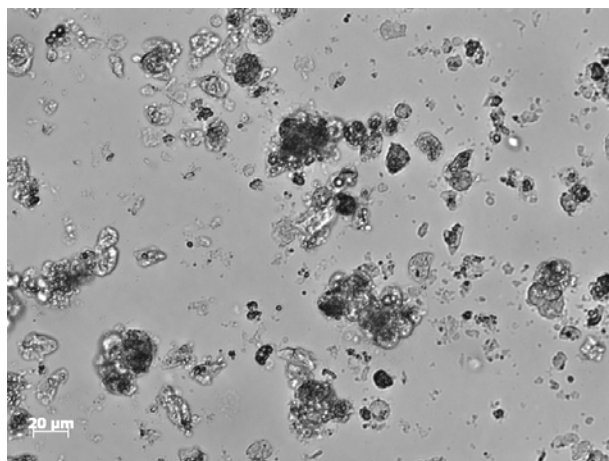


Рис. 4. Первичная культура клеток, полученная из надпочечников неонатальных мышей, на 7 сутки

По всей видимости, клетки, имеющие происхождение из нервного гребня, заканчивают миграцию из надпочечных желез мышей раньше в онтогенезе, чем у других исследуемых

животных. Также это может быть обусловлено особенностями гуморальной регуляции в онтогенезе. В частности, показано существование стресс-гипореспонсивного периода в раннем постнатальном развитии грызунов, во время которого отсутствует синтез кортикостероидов и снижается чувствительность к АКТГ (Vazquel et al., 1998), возможно, в данный момент происходят перестройки, меняющие характер взаимодействия клеток друг с другом и окружающим матриксом.

Выводы:

1. Характер ростовой поверхности и состав ростовой среды влияют на морфологию и динамику роста клеток надпочечников неонатальных кроликов и поросят: в адгезивных условиях формируется конгломератный монослой, содержащий несколько типов клеток и прикрепленные сфероиды, в неадгезивных формируются флотирующие сфероиды.

2. Этапы развития первичных культур клеток, полученных из надпочечников неонатальных кроликов и поросят, характер формирования и роста МС позволяют предположить универсальный клеточный состав для данных групп животных и применять одинаковые подходы к их культивированию.

3. В культурах клеток мышей не происходит формирования монослоя и МС – структур, типичных для культур надпочечных желез других исследованных видов. Независимо от условий культивирования, из клеток мышей формируются флотирующие мультিকлеточные агрегаты.

Список литературы / References

- Плаксина Е.М., Сидоренко О.С., Божок Г.А. Морфологические и фенотипические особенности цитосфер, формирующихся в культуре клеток надпочечников неонатальных поросят, в обычных и низкоадгезивных условиях // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2015. – Т.25, №2. – С. 190–196. /Plaksina Ye.M., Sidorenko O.S., Bozhok G.A. Morphological and phenotypic characteristics of cytospheres forming in adrenal gland cell culture of neonatal piglets under normal and low adhesion conditions // Problems of Cryobiology and Cryomedicine. – 2015. – Vol.25, no. 2. – P. 190–196./
- Плаксина Е.М., Сидоренко О.С., Легач Е.И., Божок Г.А. Получение культуры нейробластоподобных клеток из надпочечников новорожденных поросят методом селективной адгезии // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2016. – Т.26, №2. – С. 188–195. /Plaksina E.M., Sidorenko O.S., Legach E.I., Bozhok G.A. Obtaining a culture of neuroblast-like cells from adrenal glands of newborn piglets by the method of selective adhesion // Problems of Cryobiology and Cryomedicine. – 2016. – Vol.26, no. 2. – P. 188–195./
- Сидоренко О.С., Божок Г.А., Легач Е.И. Экспрессия β -III тубулина в культуре клеток надпочечников новорожденных поросят // Проблемы криобиологии. – 2011. – Т.21, №2. – С. 218–223. /Sidorenko O.S., Bozhok G.A., Legach E.I. β -III tubulin expression in adrenal gland cell culture of newborn piglets // Problems of Cryobiology. – 2011. – Vol.21, no. 2. – P. 218–223./
- Bhatt S., Diaz R., Trainor P.A. Signals and switches in mammalian neural crest cell differentiation // Cold Spring Harb Perspect Biology. – 2013. – No. 5 – P. 519–523.
- Chung K.F., Sicard F., Vukicevic V. et al. Isolation of neural crest derived chromaffin progenitors from adult adrenal medulla // Stem Cells. – 2009. – Vol.27, no. 10. – P. 2602–2613.
- Duval K., Grover H., Han L.H. et al. Modeling physiological events in 2D vs. 3D cell culture // Physiology (Bethesda). – 2017. – Vol.32 (4). – P. 266–277.
- Kodaira K., Imada M., Goto M. et al. Purification and identification of a BMP-like factor from bovine serum // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2006. – Vol.345 (3). – P. 1224–1231.
- Santana M., Chung K., Vukicevic V. et al. Isolation, characterization and differentiation of progenitor cells from human adult adrenal medulla // Stem Cells Transl. Med. – 2012. – Vol.1 (11). – P. 783–791.
- Saxena S., Wahl J., Huber-Lang M.S. et al. Generation of murine sympathoadrenergic progenitor-like cells from embryonic stem cells and postnatal adrenal glands // PLoS ONE. – 2013. – Vol.8 (5). – e64454.
- Theveneau E., Mayor R. Neural crest delamination and migration: from epithelium-to-mesenchyme transition to collective cell migration // Developmental Biology. – 2012. – No. 12. – P. 34–54.
- Vazquel M.-D., Bouchet P., Mallet J.-L. et al. 3D Reconstruction of the mouse's mesonephros // Anat. Histol. Embryol. – 1998. – No. 27. – P. 283–287.
- Vukicevic V., Rubin de Celis M.F., Pellegata N.S. et al. Adrenomedullary progenitor cells: isolation and characterization of a multi-potent progenitor cell population // Molecular and Cellular Endocrinology. – 2015. – Vol.408. – P.178–184.

Представлено: О.А.Нікольченко / Presented by: O.A.Nikolchenko

Рецензент: Ю.Г.Кот / Reviewer: Yu.G.Kot

Подано до редакції / Received: 20.02.2019

Про авторів: О.Ю.Новікова – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, ksuhanew7@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0563-6174>

Г.А.Божок – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, bozhokgaru@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4188-9286>

Т.П.Бондаренко – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, tpbondarenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5258-3741>

About the authors: O.Yu.Novikova – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NASU, Pereyaslavskaya Str., 23, Kharkiv, Ukraine, 61016, ksuhanew7@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0563-6174>

G.A.Bozhok – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NASU, Pereyaslavskaya Str., 23, Kharkiv, Ukraine, 61016, bozhokgaru@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4188-9286>

T.P.Bondarenko – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NASU, Pereyaslavskaya Str., 23, Kharkiv, Ukraine, 61016, tpbondarenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5258-3741>

Об авторах: О.Ю.Новікова – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, ksuhanew7@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0563-6174>

Г.А.Божок – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, bozhokgaru@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4188-9286>

Т.П.Бондаренко – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, tpbondarenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5258-3741>

••• МІКОЛОГІЯ ••• MYCOLOGY •••

УДК: 582.28:635.8

Культивування *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. за дії лазерного опромінення К.С.Решетник

Досліджено вплив лазерного опромінення на ростові параметри, строки плодоношення та врожайність гливи звичайної при твердофазному культивуванні на різних типах субстратів: соняшниковому лушпинні (СЛ), соломі пшениці (СП) та квіткових лусках кукурудзяного початка (КЛКП). Згідно з результатами проведених досліджень найкращий ріст міцелію *P. ostreatus* спостерігався при культивуванні на субстраті, який на 100% складався з КЛКП, на 37,7% меншим була швидкість росту міцелію на субстраті з 50%-им вмістом КЛКП. На субстратах з 50%-им вмістом СЛ, 100%-им вмістом СЛ та 50%-им вмістом СП швидкість росту міцелію була меншою на 50,5%, 50,3% та на 45,0% відповідно. Найменший ріст міцелію було зафіксовано на субстраті з 100%-им вмістом СП. Опромінення зеленим світлом значно покращило швидкість росту міцелію на досліджуваних субстратах. Найкраща реакція спостерігалась у відповідь на дію опромінення при культивуванні на субстраті з 100%-им вмістом СП – на 71,8% краще контролю. При культивуванні на інших видах субстратів швидкість росту за цього опромінення зростала від 23,1 до 33,7% відповідно. Водночас, опромінення червоним та синім світлом викликало незначні зміни швидкості росту міцелію. Опромінення міцелію зеленим світлом протягом 10 с сприяло збільшенню врожайності на усіх видах субстратів від 51,5 до 80,7%, крім субстрату з СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%), на ньому врожайність зросла найбільше – на 87,9%, також сприяло скороченню строків обростання субстрату та прискорювало плодоношення. Плодові тіла, вирощені з міцелію, який був опромінений зеленим світлом протягом 10 с, утворювалися у більшій кількості порівняно з неопроміненними варіантами. Суттєвої різниці у морфології отриманих плодових тіл грибів, вирощених з опроміненого і неопроміненого міцелію, не було виявлено. Проведені дослідження дозволили визначити найпродуктивніші субстрати та найбільш ефективний режим стимуляції ростових процесів гриба *P. ostreatus* за допомогою лазерного опромінення. Отримані нами результати свідчать про доцільність використання лазерного опромінення під час вирощування плодових тіл *P. ostreatus*.

Ключові слова: базидіомікотові; лазерне опромінення; фотоактивація; *Pleurotus ostreatus*.

Cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. influenced by laser irradiation K.S.Reshetnyk

It has been studied the effect of laser irradiation on growth parameters, fruiting terms and crop capacity of *Pleurotus ostreatus* under solid phase cultivation on different types of substrates that include sunflower husk (SH), wheat straw (WS) and floral scales of corn ears (FSCE). According to the research carried out the best *P. ostreatus* mycelium growth was revealed under the cultivation on 100% FSCE, the mycelium growth on 50% FSCE was 37,7% less. The mycelium growth on 50% SH, 100% SH and 50% WS substrates was 50.5%, 50.3% and 45.0% less respectively. The least mycelium growth was recorded on 100% WS substrate. Laser irradiation nonetheless had a positive effect on the mycelium growth on the substrates under analysis. In particular, the best reaction was in response to green spectrum irradiation under the cultivation on 100% wheat straw substrate that was 71.8% better than the control. Under the cultivation on other types of substrates the mycelium growth at green spectrum irradiation increased from 23.1% to 33.7% respectively. Red and blue spectra irradiation caused only slight mycelium growth changes. Green spectrum irradiation within 10 seconds promoted the crop capacity on all the substrates from 51.5 to 80.7%, except for the substrate with SH:WS:FSCE (25:25:50%), in which the crop capacity increased the most – by 87.9%. Also 10 second green spectrum impact on the mycelium reduced the substrate fouling term and accelerated the fruiting. It has been proved that the fruiting bodies grown out of the mycelium that was under 10 second green spectrum irradiation form in greater quantity compared to non-irradiated variants. Any significant differences in fungi fruiting bodies morphology on the substrates mentioned have not been found. Thus, the research carried out allowed to distinguish the most productive substrates and the most efficient mode of *P. ostreatus* growth stimulation with the help of laser irradiation. The results of the research prove the expediency of laser irradiation usage while cultivating macromycete *P. ostreatus*.

Key words: Basidiomycota; laser irradiation; photoactivation; *Pleurotus ostreatus*.

Культивування *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. при впливі лазерного облучення

Е.С.Решетник

Исследовано влияние лазерного облучения на ростовые параметры, сроки плодоношения и урожайность вешенки обыкновенной при твердофазном культивировании на различных типах субстратов: подсолнечной шелухе (ПШ), соломе пшеницы (СП) и цветочной чешуе кукурузного початка (ЦЧКП). Согласно с результатами проведенных исследований, лучший рост мицелия *P. ostreatus* наблюдался при культивировании на субстрате, который на 100% состоял из ЦЧКП, на 37,7% меньше была скорость роста мицелия на субстрате с 50%-ным содержанием ЦЧКП. На субстратах с 50%-ным содержанием ПШ, 100%-ным содержанием ПШ и 50%-ным содержанием СП скорость роста мицелия была меньше на 50,5%, 50,3% и на 45,0% соответственно. Наименьший рост мицелия был зафиксирован на субстрате со 100%-ным содержанием СП. Облучение зеленым светом значительно улучшило скорость роста мицелия на исследуемых субстратах. Лучшая реакция наблюдалась в ответ на действие облучения при культивировании на субстрате с 100%-ным содержанием СП – на 71,8% лучше контроля. При культивировании на других типах субстратов скорость роста при этом облучении росла от 23,1 до 33,7% соответственно. В то же время, облучение красным и синим светом вызвало незначительные изменения скорости роста мицелия. Облучение мицелия зеленым светом в течение 10 с способствовало увеличению урожайности на всех типах субстратов от 51,5 до 80,7%, кроме субстрата с ПШ:СП:ЦЧКП (25:25:50%), на нем урожайность выросла больше всего – на 87,9%, также способствовало сокращению сроков обрастания субстрата и ускоряло плодоношение. Плодовые тела, выращенные из мицелия, который был облучен зеленым светом в течение 10 с, образовывались в большем количестве по сравнению с необлученными вариантами. Существенной разницы в морфологии полученных плодовых тел грибов, выращенных из облученного и необлученного мицелия, не было обнаружено. Проведенные исследования позволили определить самые продуктивные субстраты и наиболее эффективный режим стимуляции ростовых процессов гриба *P. ostreatus* с помощью лазерного облучения. Полученные нами результаты свидетельствуют о целесообразности использования лазерного облучения во время выращивания плодовых тел *P. ostreatus*.

Ключевые слова: базидиомикотомые; лазерное облучение; фотоактивация; *Pleurotus ostreatus*.

Вступ

Pleurotus ostreatus (Jacq.:Fr.) Kumm. належить до числа базидієвих грибів з великими, їстівними плодовими тілами, що штучно вирощуються людиною в промислових масштабах. За обсягами культивування *P. ostreatus* посідає друге місце після печериць у Європі (в т.ч. в Україні) та США (Bhattacharjya et al., 2015; Figlas et al., 2016; Chanf, Miles, 1984). Для вирощування гливи використовують доволі різноманітні целюлозовмісні субстрати, такі як солома зернових, качани кукурудзи, тирса, жом, відходи бавовнику та олійної пальми, бананові листи, лушпиння кокосу, кора і листя дерев, льон (Hoa et al., 2015; Lelley, Janben, 1993). Згідно з даними D.J.Royse, S.A.Zaki та S.C.Dubey, оптимальним субстратом для вирощування гливи звичайної є пшенична солома з різноманітними домішками, що сприяють збільшенню врожайності (Rouse, Zaki, 1991; Dubey, 1999). Для максимальної врожайності *P. ostreatus* потрібно ретельно підбирати склад компонентів субстрату (які в достатній кількості містять джерела азоту та вуглецю, різні мінеральні домішки та вітаміни), враховувати його структуру, рН середовища та вологість, що в подальшому створить сприятливі умови для розвитку гриба. Встановлено, що від типу субстрату та умов культивування значною мірою залежать здатність гриба до колонізації субстрату, ростові параметри, швидкість та інтенсивність плодоношення, продуктивність та харчові властивості плодів тіл *P. ostreatus* (El Kattan et al., 1991; Curvetto et al., 2002; Власенко, 2018). Для отримання біомаси мицелію гливи, на думку О.В.Федотова та співавт., кращими вуглецевмісними компонентами живильного середовища є глюкоза та сахароза (Федотов, Брусніцина, 2008).

Одним із важливих факторів, які необхідні для росту та розвитку плодів тіл грибів, також є світло. Хоча гриби і не є фототрофними організмами, світло відіграє важливу роль у регуляції їх життєдіяльності. Характер впливу світла залежить від його спектральних характеристик та від тривалості освітлення (Kamada et al., 2010). Механізми фоторецепції грибів останнім часом є предметом інтенсивних досліджень (Поєдинок і др., 2004, 2015; Поєдинок, Бисько, 2005; Дорошкевич, 2007; Nakano et al., 2010; Herrera-Estrella, Horwitz, 2007; Purschwitz et al., 2006). Станом на цей час доведено, що гриби можуть сприймати майже ультрафіолетове, синє, зелене, червоне і дальнє червоне світло, використовуючи для цього до 11 різних фоторецепторів (Herrera-

Estrella, Horwitz, 2007; Zhenzhong, Reinhard, 2018). У геномі базидієвих макроміцетів *Coprinopsis cinerea*, *Lentinula edodes* і *Pleurotus ostreatus* виявлені гени, що кодують рецептори, відповідальні за сприйняття синього світла. Дослідження геному цих грибів також дозволило виявити фоторецепторні гени, які кодують білки, чутливі до червоного світла (Galagan et al., 2003; Kamada et al., 2010). Зелене світло сприймається опсиновими системами на основі ретиналю, біологічні функції яких ще потребують з'ясування (Zhenzhong, Reinhard, 2018).

Використання штучного світла для стимулювання біологічних процесів у грибовництві станом на цей час обмежене методами, які потребують тривалого освітлення культур на різних стадіях морфогенезу, що призводить до додаткових витрат енергії. Проте дослідження, проведені Т.Й.Кару, показали, що короткочасне (протягом кількох секунд) опромінення різних об'єктів низькоінтенсивним лазерним світлом певної довжини хвилі у відносно малих дозах (102–103 Дж/м²) сприяє виникненню ефектів, що зберігаються протягом тривалого часу (Karū, 1986; Karū, 2008). Станом на цей час відомий вплив низькоінтенсивного світла на лінійний ріст та накопичення біомаси різними видами мікроміцетів: *Agaricus bisporus*, *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceus*, *Inonotus obliquus*, *Lentinula edodes* та ін. (Poyedinok et al., 2000, 2003; Poyedinok, 2001; Поєдинок, Бисько, 2005). Досліджено позитивний вплив УФ- і γ-опромінення на врожайність гриба *P. ostreatus* та встановлено, що опромінення лазерним світлом з довжиною хвилі 632,8 нм в дозах 45–230 мДж/см² стимулює проростання спор та ріст міцелію у *Hericium erinaceus* (Поєдинок, 2013).

За даними Н.Л.Поєдинок, базидієві макроміцети на різних стадіях онтогенезу є чутливими до світла низької інтенсивності у видимому діапазоні довжини хвиль з різними спектральними та енергетичними характеристиками (Поєдинок і др., 2015). Крім того, досліджено, що зміни ростової активності спор і вегетативного міцелію грибів, які викликані короткочасним опромінюванням світлом низької інтенсивності, передаються на наступні фази онтогенезу і не потребують подальшої активізації світлом (Poyedinok et al., 2000). Враховуючи літературні дані щодо фоторецепції у грибів, можна зробити висновок про доцільність використання світла для регуляції морфогенезу і біологічної активності грибів, що може стати основою для створення більш ефективних технологій їх культивування.

Слід зауважити, що використання гелій-неонових та аргонних лазерів, які мають великі габарити та значну енергоємність, ускладнює технологію стимулювання процесів росту та розвитку грибів. На нашу думку, для інтенсифікації метаболічних процесів макроміцетів значно ефективніше використовувати світлодіодні лазери, які мають великий ККД (до 50%), швидкодію (до 10–11 с), зручність збудження та малі габарити (Васюра, 1998). Крім того, вони мають невелику вартість та потребують незначних енерговитрат при застосуванні. Оскільки літературних даних про вплив світлодіодних лазерів на ростові параметри грибів досить мало, це питання потребує подальшого вивчення. Враховуючи це, метою нашої роботи було дослідити вплив опромінення світлодіодних лазерів на ростові параметри, терміни плодоношення та врожайність гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kunt. при твердофазному культивуванні на різних типах субстратів.

Об'єкти та методи дослідження

Досліджувався штам Р-192 гриба гливи звичайної *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) із колекції культур шапинкових грибів кафедри фізіології та біохімії рослин Донецького національного університету імені Василя Стуса. Досліджуваний штам виділено в чисту культуру з дикоростучого плодового тіла базидієвого гриба, зібраного на території Донецької області. Субстратами для твердофазного культивування було обрано відходи сільського господарства: соняшникове лушпиння (СЛ), солому пшениці (СП) та квіткові луски кукурудзяного початка (КЛКП), змішані у різних пропорціях. Контролем слугував субстрат із соломи пшениці без домішок, оскільки за даними літератури він вважається еталоном при вирощуванні гливи (Royste, Zaki, 1991). Підготовку та стерилізацію субстратів проводили загальноприйнятими методами (Бухало і др., 2004). Компоненти субстратів зважувалися сухими. Для кращого та рівномірного зволоження їх подрібнювали за допомогою гомогенізатора ST-CM1031 Lefkadata (компанія Saturn, Китай). Інформацію про склад сумішей, що були використані для культивування гриба у нашій роботі, узагальнено в табл. 1.

З метою вивчення впливу лазерного опромінення на ріст та морфолого-культуральні ознаки гриба *P. ostreatus* міцелій штаму Р-192 культивували протягом 7 діб на сушло-агаровому середовищі (4° за Балингом) у стандартних чашках Петрі (діаметром 9 см). Згодом, за допомогою

стерильної сталеві трубки, з маточної культури вирізали міцеліальні диски діаметром 5 мм. Перед посівом на субстрат (табл. 1) їх опромінювали за допомогою світлодіодних лазерів. У дослідженнях були використані чотири варіанти опромінення: контроль – без опромінення та одноразове опромінення світлом лазера протягом 10 с (червоного, синього та зеленого спектру). Для опромінення використовували світлодіодні лазери BPR-3010-5 з випромінюванням червоного спектру з довжиною хвилі 635 нм, BBR-3010-5 з випромінюванням синього спектру з довжиною хвилі 405 нм та BGP-3010-5 з випромінюванням зеленого спектру з довжиною хвилі 532 нм (виробник BOB LASER Co., Китай). Потужність кожного лазера становила 100 мВт.

Таблиця 1.

Склад субстрату для твердофазного культивування *Pleurotus ostreatus*

Варіант досліджу	Співвідношення компонентів субстрату, %			Маса сухого субстрату у чашках Петрі/скляних банках, г		
	СЛ	СП	КЛКП	СЛ	СП	КЛКП
1	100	0	0	10/50	0	0
2	0	100	0	0	10/50	0
3	0	0	100	0	0	10/50
4	50	25	25	5/25	2,5/12,5	2,5/12,5
5	25	50	25	2,5/12,5	5/25	2,5/12,5
6	25	25	50	2,5/12,5	2,5/12,5	5/25

Щільність енергії лазерного опромінення розраховували за І.О.Вакарчук (Вакарчук, 2012). Енергетична доза опромінення (енергія світла, яка потрапляє на одиницю площі) визначалася як добуток щільності енергії та часу опромінення. Енергія опромінення у всіх варіантах досліджу становила 51,1 мДж/см². Це значення вибрано на основі результатів наших попередніх досліджень (Reshetnyuk, 2018) з урахуванням літературних даних (Поєдинок, 2013).

Опромінені міцеліальні диски у подальшому використовували для інокуляції чашок Петрі з субстратом та для отримання посівного міцелію. У контрольному посіві використовували неопромінені міцелії. На останньому етапі роботи охолоджений до температури 22±1°C субстрат інокулювали посівним міцелієм *P. ostreatus*. Культивування проводили за температури 26±1°C та вологості 70–80 % до повного заростання субстрату міцелієм. Після цього ємності з субстратом переносили у ростове приміщення з температурою 15–16°C, вологістю 80–90 % і освітленням денним світлом протягом 8 годин на добу.

Для оцінки росту культур гриба використовували метод, заснований на дослідженні та аналізі динаміки збільшення радіусу колоній від часу культивування. Швидкість радіального росту (Vr) розраховували за формулою (Бухало, 1988): $Vr = a - b / t_1 - t_0$, де: a – радіус колонії наприкінці росту, мм; b – радіус колонії на початку фази лінійного росту, мм; $t_1 - t_0$ – тривалість лінійного росту, діб.

Модифікований ростовий коефіцієнт (PK_j) розраховували за формулою (Бисько и др., 1983): $PK_j = d \cdot h \cdot g \cdot j / t$, де d – діаметр колонії, мм; h – висота колонії, мм; g – щільність колонії в балах; j – однорідність колонії в балах; t – вік колонії, діб.

Вивчення морфолого-культуральних ознак на різних субстратах проводили, використовуючи критерії, описані А.С.Бухало. Спостереження за ростом колоній припиняли після повного заростання чашки Петрі міцелієм (Бухало, 1988).

У процесі твердофазного культивування *P. ostreatus* у скляних банках об'ємом 500 мл реєстрували час появи примордіїв, початок плодоношення та врожайність. Усі досліді проводили у трикратній повторюваності. Для визначення достовірності різниці між варіантами застосовували метод дисперсійного аналізу. Порівняння середніх значень здійснювали за методом Даннета (Приседський, 1999). Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакета програм, створених на кафедрі фізіології рослин Донецького національного університету імені Василя Стуса (Приседський, 2005).

Результати та обговорення

У результаті проведених досліджень було виявлено мінливість морфології колоній штаму Р-192 гриба *P. ostreatus* під час культивування на субстратах різного складу. Так, найшвидший ріст міцелію було зафіксовано на субстраті, який на 100% складався з квіткових лусок кукурудзяного початку, – $18,14 \pm 0,53$ мм/добу (рис. 1).

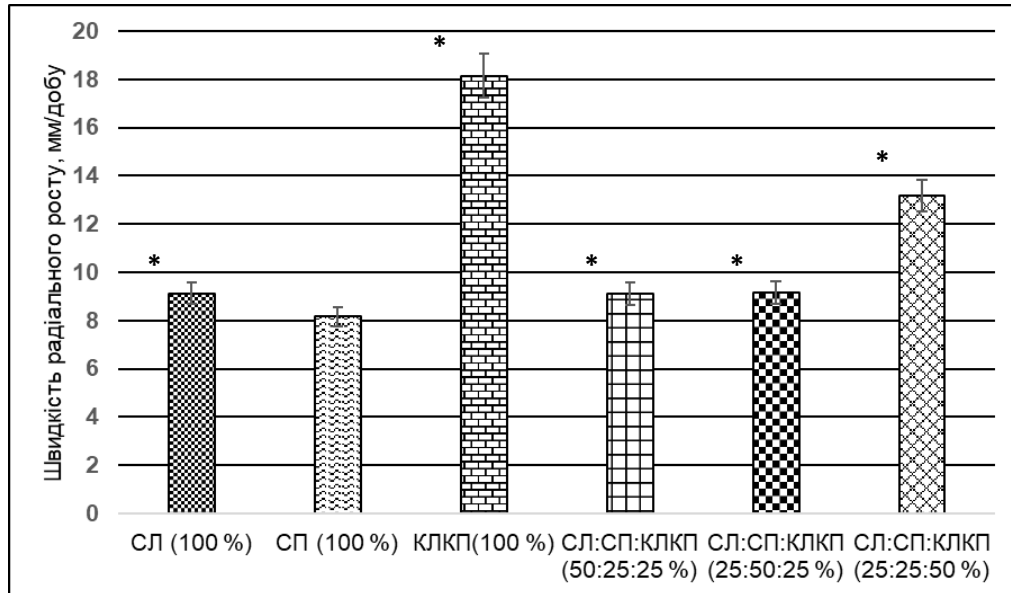


Рис. 1. Вплив складу субстрату на ріст міцелію штаму Р-192 гриба *P. ostreatus* (* різниця статистично значуща у порівнянні з контролем, $P < 0,05$)

Дещо повільнішим був ріст міцелію на субстраті, який складався з СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%), – $13,17 \pm 0,52$ мм/добу. На інших субстратах спостерігався повільніший ріст міцелію: СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%), СЛ (100%) та СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%) – від $9,13 \pm 0,52$ до $9,16 \pm 0,46$ мм/добу.

Лазерне опромінення чинило позитивний вплив на ріст міцелію. Залежно від спектру опромінення різнилась і лінійна швидкість радіального росту культур. Найбільша стимуляція ростових процесів спостерігалась у відповідь на дію опромінення зеленим світлом при культивуванні на субстраті з 100%-ним вмістом СП – на 71,8% краще контролю. Опромінення міцелію синім та червоним світлом викликало менш суттєві зміни швидкості росту при культивуванні на цьому субстраті. Лазерне опромінення міцелію зеленим світлом при культивуванні на субстраті, який на 100% складався з КЛКП, достовірно збільшило швидкість радіального росту з $18,14 \pm 0,53$ у контролі до $24,26 \pm 0,56$ мм/добу у дослідному варіанті (на 33,7%). Лазерне опромінення червоним та синім світлом достовірно збільшило швидкість росту на 16,6% та 22,5% відповідно. Дещо гіршою була реакція у відповідь на дію лазерного опромінення міцелію зеленим світлом при культивуванні на субстраті, який складався з СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%). Швидкість лінійного росту в цьому варіанті зросла на 24,1%. За дії червоного світла на цьому субстраті швидкість лінійного росту збільшилась лише на 9,0%, а лазерне опромінення синім світлом взагалі не призвело до зростання швидкості росту. При культивуванні міцелію на субстратах, які склалися з СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%), СЛ (100%) та СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%), опромінення червоним світлом збільшило швидкість лінійного росту міцелію на 23,5%, 13,0% та 11,0% відповідно. За дії червоного світла ріст міцелію на цих субстратах збільшився на 22,5%, 10,8% та 11,2% відповідно. Опромінення зеленим світлом викликало зростання швидкості росту міцелію від 15,4% до 33,0% (рис. 2).

В ході досліджень нами було встановлено, що на субстраті, який на 100% складався з квіткових лусок кукурудзяного початку, спостерігався найщільніший міцелій гриба з високими повітряними гіфами. На цьому субстраті міцелій штаму Р-192 гриба *P. ostreatus* мав пухнасту колонію білого кольору з радіальною зональністю та рівним краєм, щільним непрозорим шаром

субстратного міцелію, повітряним міцелієм висотою 3–5 мм з добре розвинених гіф. На субстраті із соняшникового лушпиння та соломи пшениці міцелій штаму формував шерстисті колонії білого кольору зі слабкою радіальною зональністю. Щільність колоній була дещо меншою, висота повітряного міцелію була також нижчою (2–3 мм). Культури на субстраті з СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%) та СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%) утворювали щільний пухнастий шар міцелію білого кольору з добре вираженою радіальною зональністю, непрозорим шаром субстратного міцелію та повітряним міцелієм висотою 3–4 мм з розвиненими гіфами. На субстраті з СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%) культури утворювали ще менш щільний шерстистий шар білого міцелію з повітряним міцелієм висотою 1–2 мм з розвиненими гіфами (рис. 3).

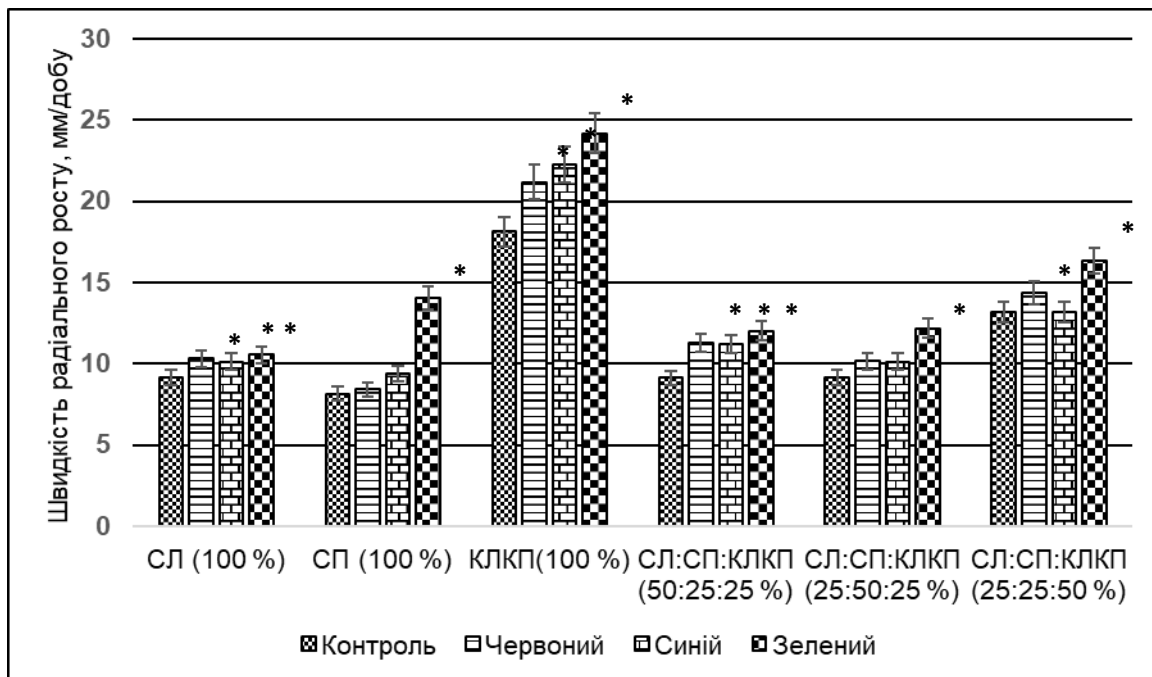


Рис. 2. Вплив лазерного опромінення на ріст міцелію штаму P-192 гриба *P. ostreatus* при культивуванні на субстратах різного складу (* різниця статистично значуща у порівнянні з контролем, $P < 0,05$)

Результати вивчення морфологічних ознак досліджуваного штаму дозволяють зробити висновок про відмінність модифікованого ростового коефіцієнту при культивуванні *P. ostreatus* на субстратах різного складу. Найвище значення ростового коефіцієнта було встановлено для міцелію, культивованого на субстраті з квіткових лусок кукурудзяного початку, – $845,1 \pm 1,7$, слід відзначити, що на цьому субстраті уже на 6 добу культивування було зафіксовано повне заростання чашки Петрі міцелієм (табл. 2).

Ростовий коефіцієнт міцелію на субстраті, який складався з СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%), становив $832,1 \pm 1,4$, що є також високим показником росту, порівняно з іншими варіантами дослідження. RK_j на субстратах, які склалися з соняшникового лушпиння та СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%), становив $203,1 \pm 1,4$ та $218,6 \pm 1,3$ відповідно. Найменше значення ростового коефіцієнта для даного штаму було зафіксовано на субстраті, який складався із соломи пшениці та СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%) – $41,0 \pm 1,1$ та $44,5 \pm 2,0$ відповідно. Опромінення міцелію монохроматичними променями різної довжини сприяло зростанню ростового коефіцієнта при культивуванні *P. ostreatus* на субстратах різного складу (табл. 3).

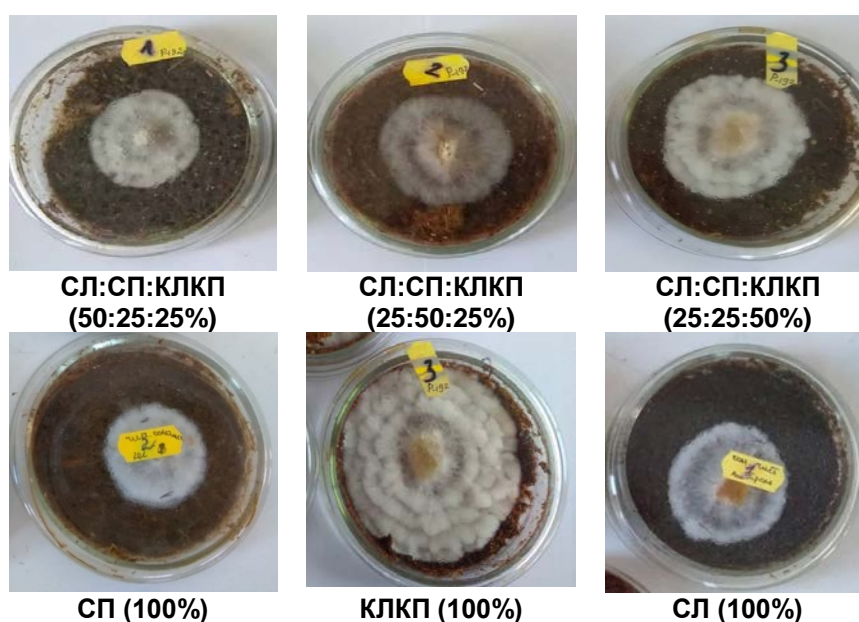


Рис. 3. Міцелій штаму P-192 гриба *P. ostreatus* при культивуванні на субстратах різного складу (культури віком 6 діб)

Таблиця 2.

Модифікований ростовий коефіцієнт міцелію штаму P-192 гриба *P. ostreatus* при культивуванні на субстратах різного складу

Склад субстрату	Параметри росту колонії					
	Діаметр колонії (мм)	Висота колонії (мм)	Щільність колонії (бал)	Однорідність колонії (бал)	Вік колонії (доба)	Ростовий коефіцієнт PK_j
СП (100%)	51,4±1,1	2	1	2	5	41,0±1,1
СЛ (100%)	56,4±1,4	3	2	3	5	203,1±1,4*
КЛКП (100%)	70,4±1,7	5	3	4	5	845,1±1,7*
СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%)	60,7±1,3	3	2	3	5	218,6±1,3*
СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%)	55,6±2,0	2	1	2	5	44,5±2,0*
СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%)	69,3±1,4	5	3	4	5	832,1±1,4*

Примітка: * різниця статистично значуща у порівнянні з контролем, $P < 0,05$.

На 5 добу культивування було зафіксовано повне заростання чашки Петрі міцелієм під час культивування на субстраті з квіткових лусок кукурудзяного початку в результаті опромінення міцелію зеленим світлом. Було зафіксовано значне зростання PK_j міцелію на субстраті із соломи пшениці – 217,3%, а збільшення ростового коефіцієнта на субстраті з СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%) – 188,3%, дані показники є найвищими порівняно з усіма варіантами дослідів. Збільшення ростового коефіцієнта міцелію на субстраті з СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%), КЛКП (100%), СЛ (100%) та СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%) становило – 20,7%, 27,6%, 35,4% та 34,7% відповідно.

За дії опромінення червоного спектру найвище значення ростового коефіцієнта було зафіксовано на субстратах з КЛКП (100%) та СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%) та на 27,6% і 24,1% перевищувало PK_j неопроміненого міцелію на даних субстратах. На субстратах, які склалися з СП (100%), СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%) та СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%), значення ростового коефіцієнта зросло на 33,9%, 23,8% та 15,7% відповідно.

Зростання PK_j для міцелію на субстраті із соняшникового лушпиння становило лише 4,3%. В результаті опромінення міцелію синім світлом найвище зростання PK_j було зафіксовано на

субстраті з соломи пшениці – на 40,2% більше контролю. Збільшення ростового коефіцієнта міцелію на субстратах, які складалися з СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%), СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%), КЛКП (100%) та СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%), становило 29,4%, 26,5%, 26,8% та 21,1% відповідно. Збільшення модифікованого ростового коефіцієнта міцелію на субстраті із соняшникового лущиння становило лише 5,5%.

Таблиця 3.

Модифікований ростовий коефіцієнт міцелію штаму P-192 гриба *P. ostreatus* за дії лазерного опромінення

Склад субстрату	Параметри росту колонії					
	Діаметр колонії (мм)	Висота колонії (мм)	Щільність колонії (бал)	Одно-рідність колонії (бал)	Вік колонії (доба)	Ростовий коефіцієнт PKj
Опромінення червоним світлом протягом 10 с						
СП (100%)	68,6±2,1	2	1	2	5	54,9±2,1*
СЛ (100%)	58,8±1,4	3	2	3	5	211,8±1,4*
КЛКП (100%)	89,8±2,5	5	3	4	5	1078,1±2,5*
СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%)	75,4±2,0	3	2	3	5	271,4±2,0*
СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%)	68,8±1,5	2	1	2	5	55,1±1,5*
СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%)	80,3±2,1	5	3	4	5	963,6±2,1*
Опромінення синім світлом протягом 10 с						
СП (100%)	71,8±1,8	2	1	2	5	57,5±1,8*
СЛ (100%)	60,4±2,0	3	2	3	5	217,4±2,0*
КЛКП (100%)	89,3±1,6	5	3	4	5	1071,8±1,6*
СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%)	78,6±2,1	3	2	3	5	283,0±2,1*
СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%)	70,4±1,5	2	1	2	5	56,3±1,5*
СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%)	84,0±1,5	5	3	4	5	1008,0±1,5*
Опромінення зеленим світлом протягом 10 с						
СП (100%)	81,7±1,7	2	2	2	5	130,7±1,7*
СЛ (100%)	76,4±2,2	3	2	3	5	275,0±2,2
КЛКП (100%)	89,9±2,1	5	3	4	5	1078,8±2,1*
СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%)	81,8±2,4	3	2	3	5	294,5±2,4*
СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%)	80,2±2,4	2	2	2	5	128,3±2,4*
СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%)	83,7±1,6	5	3	4	5	1004,4±1,6*

Примітка: * різниця статистично значуща у порівнянні з контролем, $P < 0,05$.

У процесі твердофазного культивування *P. ostreatus* на досліджуваних субстратах було досліджено строки обростання субстрату, початок появи примордіїв та плодоношення, врожайність. Так, строк обростання досліджуваних субстратів міцелієм становив у середньому 8–9 діб, тобто за цим показником субстрати не мали суттєвої різниці. Лише на солоній пшениці та СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%) строк обростання субстрату був на 3 доби довший, що, ймовірно пов'язано з більшою щільністю субстрату. Примордії на субстратах з КЛКП (100%) та СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%) з'явилися найшвидше. Пізніше (на 2 доби) почали з'являтися на субстратах з СЛ (100%) та СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%), найповільніше (на 6 діб) на субстратах з СП (100%) та СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%). За строками плодоношення на різних субстратах було встановлено вірогідну різницю. Найшвидше плодові тіла з'явилися на субстратах з КЛКП (100%) та СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%) – 24 доба культивування, трохи пізніше (30 доба) на субстратах з СЛ (100%) та СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%). Останнім плодоносив штам, культивованим на субстраті з СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%). Найкращу врожайність було встановлено на субстратах із СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%) та КЛКП (100%) – на 51,7% та на 45,2% більше контролю. Деякі нижчі показники врожайності були при

культивуванні на субстратах з СЛ (100%), СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%) та СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%) – від 11,8 до 22,2% більше контролю (табл. 4).

Таблиця 4.
Параметри росту штаму P-192 гриба *P. ostreatus* при культивуванні на субстратах різного складу

Склад субстрату	Характеристика росту колонії			
	Строк обростання субстрату міцелієм, доба	Строк появи примордіїв, доба	Початок плодоношення, доба	Врожайність (г/кг субстрату)
1	2	3	4	5
СП (100%)	11–12	25–26	34–35	12,82±0,37
СЛ (100%)	8–9	21–22	30–31*	14,33±0,47*
КЛКП (100%)	8–9	19–20	24–25*	18,62±0,71*
СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%)	8–9	21–22	30–31*	15,66±0,51*
СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%)	11–12	25–26	34–35*	14,44±0,47*
СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%)	8–9	19–20	24–25*	19,43±0,41*

Примітка: * різниця статистично значуща у порівнянні з контролем, $P < 0,05$.

Оскільки нами було встановлено, що найкраща реакція спостерігається у відповідь на опромінення зеленим світлом, ми вирішили перевірити, яким чином цей вид опромінення впливає на ростові параметри грибів роду *Pleurotus* при твердофазному культивуванні (табл. 5).

Таблиця 5.
Параметри росту штаму P-192 гриба *P. ostreatus* за впливу зеленого світла

Склад субстрату	Характеристика росту колонії			
	Строк обростання субстрату міцелієм, доба	Строк появи примордіїв, доба	Початок плодоношення, доба	Врожайність (г/кг субстрату)
СП (100%)	5–6	17–18	26–27*	19,42±0,44*
СЛ (100%)	7–8	20–21	29–30*	21,83±0,27*
КЛКП (100%)	5–6	15–16	20–21*	33,64±0,54*
СЛ:СП:КЛКП (50:25:25%)	5–6	17–18	26–27*	27,63±0,22*
СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%)	7–8	20–21	29–30*	24,65±0,57*
СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%)	5–6	17–18	20–21*	36,52±0,31*

Примітка: * різниця статистично значуща у порівнянні з контролем, $P < 0,05$.

В результаті опромінення міцелію зеленим світлом строк обростання субстрату із соломи пшениці скоротився на 6 діб. Для інших субстратів (крім СЛ (100%)) цей строк скоротився на 3–4 доби. Лазерне опромінення міцелію, культивованого на субстраті із соняшникового лушпиння, скоротило строк обростання субстрату лише на 1 добу. Під час дослідження строків появи примордіїв та початку плодоношення було встановлено їхнє прискорення на 4–5 днів. Раніше на 7–8 діб з'явилися примордії та почалося плодоношення під час культивування на субстраті із соломи пшениці. Опромінення міцелію зеленим світлом сприяло підвищенню врожайності на усіх видах субстратів від 51,5 до 80,7%. Причому найкращий результат було встановлено при культивуванні на субстраті з СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%) – на 87,9% більше контролю. Також лазерне опромінення міцелію сприяло збільшенню кількості плодових тіл.



Рис. 4. Зразки плодівих тіл *Pleurotus ostreatus*, культивовані на різних видах субстратів та за дії лазерного опромінення зеленим світлом протягом 10 с

Згідно з результатами проведених досліджень, найкращий ріст міцелію *P. ostreatus* було встановлено під час культивування на субстраті, який на 100% складався з КЛКП, на 37,7% меншим був ріст міцелію на субстраті з 50%-им вмістом КЛКП. На субстратах з 50%-им вмістом СЛ, 100%-им вмістом СЛ та 50%-им вмістом СП швидкість росту міцелію була меншою на 50,5% та на 45,0% відповідно. Найменший ріст міцелію було зафіксовано на субстраті з 100%-им вмістом СП. Лазерне опромінення значно покращило швидкість росту міцелію на досліджуваних субстратах. Найкраща реакція спостерігалась у відповідь на дію опромінення зеленим світлом при культивуванні на субстраті з 100%-им вмістом СП – на 71,8% більше контролю. При культивуванні на інших видах субстратів швидкість росту за цього режиму опромінення зростала від 23,1 до 33,2% відповідно. Опромінення червоним та синім світлом викликало незначні зміни швидкості росту міцелію. Опромінення міцелію сприяло зростанню ростового коефіцієнта при культивуванні *P. ostreatus* на субстратах різного складу. Було зафіксовано значне зростання *PK_j* міцелію, опроміненого зеленим світлом та культивованого на субстраті із соломи пшениці – 217,3%, а збільшення ростового коефіцієнта на субстраті з СЛ:СП:КЛКП (25:50:25%) – 188,3%, дані показники є найвищими порівняно з усіма варіантами дослідів. В результаті опромінення міцелію зеленим

світлом строк обростання субстрату із соломи пшениці скоротився на 6 дб. Опромінення міцелію сприяло збільшенню врожайності на усіх видах субстратів від 51,5 до 80,7%, крім субстрату з СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%), на ньому врожайність зроста найбільше – на 87,9%, також було встановлено скорочення строків обростання субстрату та прискорення плодоношення. Особливої різниці у морфології отриманих плодових тіл грибів на зазначених субстратах не було виявлено (рис. 4).

Оскільки плодові тіла, отримані з опроміненого вегетативного міцелію, з'являлися швидше, їх маса та кількість була більшою, можна зробити висновок, що зміни, викликані світлом, мають пролонговану дію і можуть передаватися на подальші стадії життєвого циклу грибів. Такі реакції можна пов'язати із змінами в параметрах клітинного гомеостазу і вони вписуються в теорію про універсальні механізми фотостимуляції, відповідно до якої фізичні чи хімічні зміни у фотоакцепторних молекулах супроводжуються каскадом біохімічних реакцій в клітинах, які не вимагають подальшої активізації світлом (Кару, 2008).

Висновки

У результаті проведеного дослідження встановлено, що склад субстрату впливає на показники росту міцелію та розвиток плодових тіл *P. ostreatus*. Визначено, що для культивування *P. ostreatus* найпродуктивнішими субстратами є КЛКП (100%) та СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%). Найкращий ріст міцелію *P. ostreatus* було встановлено під час культивування на субстраті, який на 100% складався з КЛКП, на 37,7% меншим був ріст міцелію на субстраті з 50%-им вмістом КЛКП. На цих субстратах також були встановлені найвищі значення ростового коефіцієнта, швидка поява плодових тіл та найкраща врожайність.

Встановлено, що найкраща реакція у відповідь спостерігається на одноразове опромінення міцелію зеленим світлом протягом 10 с. За дії опромінення при культивуванні міцелію на субстраті з 100%-им вмістом СП швидкість радіального росту зроста на 71,8%, а модифікований ростовий коефіцієнт міцелію збільшився на 219,2%. Опромінення міцелію сприяло збільшенню врожайності на усіх видах субстратів від 51,5 до 80,7%, крім субстрату з СЛ:СП:КЛКП (25:25:50%), на ньому врожайність зроста найбільше – на 87,9%. Було встановлено скорочення строків обростання субстрату та прискорення плодоношення. Опромінення червоним та синім світлом викликало незначні зміни показників росту міцелію та розвитку плодових тіл *P. ostreatus*. Отримані нами результати свідчать про доцільність використання лазерного опромінення під час вирощування плодових тіл *P. ostreatus*.

Список літератури / References

- Бисько Н.А., Бухало А.С., Вассер С.П. и др. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре. – К.: Наук. думка, 1983. – 312с. /Bysko N.A., Bukhalo A.S., Vasser S.P. et al. Higher edible basidiomycetes in superficial and deep culture. – Kyiv: Naukova Dumka, 1983. – 312p./
- Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. – К.: Наукова думка, 1988. – 144с. /Bukhalo A.S. Highest edible basidiomycetes in pure culture. – Kyiv: Naukova Dumka, 1988. – 144p./
- Бухало А.С., Бисько Н.А., Соломко Э.Ф. и др. Культивирование съедобных и лекарственных грибов: Практик. реком. – К., 2004. – 120с. /Bukhalo A.S., Bysko N.A., Solomko E.F. et al. Cultivation of edible and medicinal mushrooms: Practical recommendations. – Kyiv, 2004. – 120p./
- Вакарчук І.О. Квантова механіка: підручник. – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2012. – 872с. /Vakarchuk I.O. Quantum mechanics: a textbook. – Lviv: Ivan Franko National University of Lviv, 2012. – 872p./
- Васюра А.С. Елементи та пристрої систем управління автоматизації. – Вінниця: ВДТУ, 1998. – 420с. /Vasiura A.S. Elements and devices of automation control systems. – Vinnytsa: Vinnytsa National Technical University, 1998. – 420p./
- Власенко К.М. Вплив хімічного складу субстрату на показники росту, врожайності та синтез летких органічних сполук при твердофазному культивуванні *Pleurotus ostreatus* // Наукові доповіді НУБіП України. – 2018. – Т.2, №72. – С. 2–13. /Vlasenko K. M. Influence of substrate chemical composition on growth, yield and synthesis of volatile organic compounds in solid-phase cultivation of *Pleurotus ostreatus* // Naukovi dopovidi NUBiP of Ukraine – 2018. – Vol.2, no.72. – P. 2–13./
- Дорощкевич Н.В. Вплив лазерного опромінення на продуктивність гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer // Вісник Донецького університету. Сер. А. Природн. науки. – 2007. – №1. – С. 290–292. /Doroshkevich N.V. Influence of laser irradiation on *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer mushroom productivity // Visnyk of Donetsk University. Ser. A. Natural science – 2007. – No.1. – P. 290–292./

- Кару Т.Й. Универсальный клеточный механизм лазерной биостимуляции: фотоактивация фермента дыхательной цепи цитохромоксидазы. Голография: фундаментальные исследования, инновационные проекты и нанотехнологии // XXVI школа по когерентной оптике и голографии. – 2008. – С. 156–175. /Karu T.Y. Universal cellular mechanism of laser biostimulation: photoactivation of the enzyme of the respiratory chain of cytochrome oxidase. Holography: fundamental research, innovative projects and nanotechnologies // XXVI School of Coherent Optics and Holography. – 2008. – P. 156–175./
- Поединок Н.Л., Бисько Н.А., Михайлова О.Б. и др. Интенсификация технологических этапов культивирования съедобного гриба вешенки обыкновенной // Биотехнология. – 2004. – №5. – С. 64–67. /Poedynok N.L., Bysko N.A., Myhaylova O.B. et al. Intensification of the technological stages of cultivation of edible oyster mushroom // Biotechnology. – 2004. – No.5. – P. 64–67./
- Поединок Н.Л., Бисько Н.А. Использование света в биотехнологии промышленного культивирования вешенки обыкновенной и шампиньона двуспорового // Достижения, проблемы и перспективы культивирования грибов. Современные технологии. Сборник научных трудов. – 2005. – С. 24–27. /Poedynok N.L., Bysko N.A. The use of light in the biotechnology of industrial cultivation of oyster mushroom and *Agaricus bisporus* // Achievements, problems and prospects for the cultivation of mushrooms. Modern technologies. Collection of scientific papers. – 2005. – P. 24–27./
- Поединок Н.Л., Михайлова О.Б., Ходаковский В.М., Дудка И.А. Влияние на ростовую активность посевного материала культивируемых макромицетов низкоинтенсивного лазерного излучения // Микробиология и биотехнология. – 2015. – Т.29, №1. – С. 77–86. /Poedynok N.L., Myhaylova O.B., Hodakovskyy V.M., Dudka I.A. Influence on growth activity of the seed material of cultivated macromycetes of low-intensity laser radiation // Microbiology and Biotechnology. – 2015. – Vol.29, no.1. – P. 77–86./
- Поединок Н.Л. Энергоэффективные системы штучного освітлення у технологіях вирощування їстівних та лікарських грибів // Наука та інновації. – 2013. – Т.9, №3. – С. 46–59. /Poedynok N.L. Energy-efficient artificial lighting systems in edible and medicinal mushroom cultivation technologies // Science and Innovation. – 2013. – Vol.9, no.3. – P. 46–59./
- Приседський Ю.Г. Пакет програм для проведення статистичної обробки результатів біологічних експериментів. – Донецьк: ДонНУ, 2005. – 84с. /Prysedskyy Yu.G. Software package for statistical processing of the results of the biological experiments – Donetsk: DonNU, 2005. – 84p./
- Приседський Ю.Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів. – Донецьк: Кассиопея, 1999. – 210с. /Prysedskyy Yu.G. Statistical processing of the results of biological experiments. – Donetsk: Cassiopeia, 1999. – 210p./
- Федотов О.В., Брусніцина О.М. Вплив джерел вуглецевого живлення на ріст і каталазну активність штаму P-6v *Pleurotus ostreatus* // Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону. – 2008. – Т.1, №8. – С. 248–253. /Fedotov O.V., Brusnitsyna O.M. The influence of carbon sources on the growth and catalase activity of strain P-6v of *Pleurotus ostreatus* // Problems of ecology and nature protection of technogenic region. – 2008. – Vol.1, no.8. – P. 248–253./
- Bhattachariya D.K., Paul R.K., Miah Md.N., Ahmed K.U. Comparative study on nutritional composition of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Fr.) cultivated on different sawdust substrates // Bioresearch Communications. – 2015. – Vol.1 (2). – P. 93–98.
- Curvetto N.R., Figlas D., Devalis R., Delmastro S. Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH₄ and/or Mn(II) // Bioresource Technology. – 2002. – Vol.84. – P. 171–176.
- Chang S.T., Miles P.G. A new look at cultivated mushrooms // Bioscience. – 1984. – Vol.34, no. 6. – P. 358–362.
- Dubey S.C. Effect of different substrates and amendments on yield of *Pleurotus* sp. // Mycology and Plant Pathology. – 1999. – No.29. – P. 209–216.
- El Kattan M.H., Helmy Z.A., El Leithy M.A., Abdelkwaï K.A. Studies on cultivation techniques and chemical composition of oyster mushrooms // Mushroom J. Tropics. – 1991. – Vol.11. – P. 59–66.
- Figlas N.D., Matute G., Curvetto N. Sunflower seed hull: its value as a broad mushroom substrate // Annals of Food Processing and Preservation. – 2016. – Vol.1 (1). – 1002.
- Galagan G.V., Calvo S.E., Borkovich K.A. et al. The genome sequence of the filamentous fungus *Neurospora crassa* // Nature. – 2003. – Vol.422. – P. 859–868.
- Herrera-Estrella A., Horwitz B.A. Looking through the eyes of fungi: molecular genetics of photoreception // Molecular Microbiology. – 2007. – Vol.64, no.1. – P. 5–15.
- Hoà H.T., Wang C.-L., Wang C.-H. The effects of different substrates on the growth, yield, and nutritional composition of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*) // Mycobiology. – 2015. – Vol.43 (4). – P.423–434.

- Kamada T., Sano H., Nakazawa T., Nakahori K. Regulation of fruiting body photomorphogenesis in *Coprinopsis cinerea* // Fungal Genetics and Biology. – 2010. – Vol.11. – P. 917–921.
- Karu T.J. On the molecular mechanism of therapeutic action of low-intensity laser radiation // Dokl. AN SSSR. – 1986. – Vol.29. – P. 1245–1249.
- Lelley J.I., Janben A. Interactions between supplementation, fructification–surface and productivity of the substrate of *Pleurotus* // Mushroom Biology and Mushroom Products. – 1993. – Vol.9. – P. 345–349.
- Nakano Y., Fujii N., Kojima M. Identification of blue-light photoresponse genes in mushroom mycelia // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. – 2010. – Vol.10. – P. 2160–2165.
- Poyedinok N.L. Influence of low-intensity laser radiation on the growth and development of *Hericiun erinaceus* (Bull.:Fr.) Pers. and *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. // Int. J. Med. Mushr. – 2001. – Vol.3, no.2–3. – P.199.
- Poyedinok N.L., Potemkina J.V., Buchalo A.S. et al. Stimulation with low-intensity laser light of basidiospore germination and growth of monocaryotic isolates in Medicinal Mashroom *Hericiun erinaecus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllorphoromycetidae) // Int. J. Med. Mushr. – 2000. – Vol.2, no.4. – P. 339–342.
- Poyedinok N.L., Buchalo A.S., Negriyko A.M. et al. The action of argon and helium-neon laser radiation on growth and fructification of culinary-medicinal mushrooms *Pleurotus ostereatus* (Jacq.:Fr.) Kumm., *Lentinus edodes* (Berk.) Singer, and *Hericiun erinaceus* (Bull.:Fr.) Pers. // Int. J. Med. Mushr. – 2003. – Vol.5. – P. 293–299.
- Purschwitz J., Muller S., Kastner C., Fischer R. Seeing the rainbow: light sensing in fungi // Current Opinion in Microbiology. – 2006. – Vol.9. – P. 566–571.
- Reshetnyk K.S. Investigation the effect of laser irradiation on the growth characteristics of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P.Kumm. // 2nd International Conference «Smart Bio». – 2018. – P.344.
- Royse D.J., Zaki S.A. Yield stimulation of *Pleurotus flabellatus* by dual nutrient supplementation of pasteurized wheat straw // Science and Cultivation of Edible Fungi. – 1991. – P. 545–547.
- Zhenzhong Yu., Reinhard F. Light sensing and responses in fungi // Nature Reviews Microbiology. – 2018. – No.17 (1). – P. 25–36.

Представлено: В.В.Рогач / Presented by: V.V.Rogach

Рецензенти: О.Ю.Акулов, О.І.Віннікова / Reviewers: O.Yu.Akulov, O.I.Vinnikova

Подано до редакції / Received: 24.04.2019

Про автора: К.С.Решетник – Донецький національний університет імені Василя Стуса, вул. 600-річчя, 21, Вінниця, Україна, 21021, k.reshetnyk@donnu.edu.ua, <https://orcid.org/0000-0001-7419-9401>

About the author: K.S.Reshetnyk – Vasyl' Stus Donetsk National University, St. 600 anniversary, 21, Vinnitsa, Ukraine, 21021, k.reshetnyk@donnu.edu.ua, <https://orcid.org/0000-0001-7419-9401>

Об авторе: Е.С.Решетник – Донецкий национальный университет имени Василия Стуса, ул. 600-летия, 21, Винница, Украина, 21021, k.reshetnyk@donnu.edu.ua, <https://orcid.org/0000-0001-7419-9401>

*** ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ ТА ТВАРИН ***
*** PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS ***

УДК: 544.722.14:57.086.13:612.111.083.332

**Вплив амфіфільних сполук на постгіпертонічний шок еритроцитів
людини**

О.О.Чабаненко, Н.А.Єршова, Н.В.Орлова, Н.М.Шпакова

При розморожуванні криоконсервованих еритроцитів, по мірі танення льоду позаклітинне гіпертонічне середовище змінюється на ізотонічне, внаслідок чого розвивається постгіпертонічний лізис клітин. В експериментальних умовах постгіпертонічний шок еритроцитів моделює вплив факторів крипошкодження, які діють на етапі розморожування еритроцитів, а також при перенесенні в кровоносне русло клітин, криоконсервованих під захистом проникаючого криопротектора. Постгіпертонічний шок еритроцитів здійснювали перенесенням клітин з гіпертонічного розчину, що містить 1,65 моль/л NaCl (середовище дегідратації), в ізотонічний розчин, що містить 0,15 моль/л NaCl (середовище регідратації), при температурі 0°C. Вивчали вплив представників різних класів амфіфільних сполук (аніонний децилсульфат натрію, неіонний децил- β ,D-глюкопіранозид і катіонний хлорпромазин) на чутливість еритроцитів людини до постгіпертонічного шоку. Амфіфільні речовини додавали в середовище регідратації перед внесенням в нього клітин. Показано, що в умовах постгіпертонічного шоку еритроцитів всі досліджувані амфіфільні речовини при використанні в ефективних концентраціях проявляють високу антигемолітичну активність (на рівні 70%). Порівняльне вивчення ефективності амфіфільних речовин в умовах постгіпертонічного шоку еритроцитів показало відмінність в розмірі плато (діапазон концентрацій амфіфільних сполук, в межах яких спостерігається мінімальний рівень гемолізу еритроцитів). Так, встановлено, що для неіонного децил- β ,D-глюкопіранозиду плато в 3 рази більше, ніж для аніонного децилсульфату натрію і катіонного хлорпромазину. Виявлена мінімальна ефективна концентрація для децилсульфату натрію і максимальна – для децил- β ,D-глюкопіранозиду в умовах постгіпертонічного шоку еритроцитів. Передбачається, що виявлений захисний ефект амфіфільних сполук в умовах постгіпертонічного шоку еритроцитів пов'язаний з їх здатністю вбудовуватися в мембрану. Це призводить до збільшення площі поверхні мембрани і, отже, критичного гемолітичного об'єму клітини, що дозволяє їй набухати до більшого об'єму.

Ключові слова: *постгіпертонічний шок; еритроцити людини; амфіфільні речовини.*

**Impact of amphiphilic compounds on post-hypertonic shock of human
erythrocytes**

O.O.Chabanenko, N.A.Yershova, N.V.Orlova, N.M.Shpakova

When the cryopreserved erythrocytes are thawed, with the ice melting the extracellular hypertonic medium changes to isotonic one, resulting in post-hypertonic cell lysis development. Under experimental conditions, the post-hypertonic shock of erythrocytes simulates the influence of cryodamage factors, acting at the erythrocyte thawing stage, as well as when the cells, cryopreserved under protection of penetrating cryoprotectant are transferred into bloodstream. Post-hypertonic shock of erythrocytes was carried out by transferring the cells from a hypertonic solution contained 1.65 mol/l NaCl (dehydration medium) into an isotonic one with 0.15 mol/l NaCl (rehydration medium) at 0°C. The effect of specimens of various classes of amphiphilic compounds (anionic sodium decyl sulfate, non-ionic decyl- β ,D-glucopyranoside, and cationic chlorpromazine) on the human erythrocyte sensitivity to post-hypertonic shock, was studied. Amphiphilic substances were supplemented into rehydration medium prior to cell introduction into it. It was shown that under post-hypertonic shock of erythrocytes, all the studied amphiphilic substances, when used in efficient concentrations, manifested a high anti-hemolytic activity (at the level of 70%). A comparative study of the efficiency of amphiphilic substances under post-hypertonic shock of erythrocytes showed differences in size of the plateau (the concentration range of amphiphilic compound, within the limits of which the minimum level of erythrocyte hemolysis was observed). Thus, it was found that for non-ionic decyl- β ,D-glucopyranoside the plateau was 3 times more than for anionic sodium decyl sulfate and cationic chlorpromazine. The minimum efficient concentration for sodium decyl sulfate and the maximum one for decyl- β ,D-glucopyranoside under post-hypertonic shock of erythrocytes were revealed. It is assumed that the revealed protective effect of amphiphilic compounds under post-hypertonic shock of erythrocytes is associated with their capability to

integrate into membrane. This entails an increase in the surface area of the membrane and, therefore, the critical hemolytic volume of cell, which allows it to swell to a larger volume.

Key words: *post-hypertonic shock; human erythrocytes; amphiphilic compounds.*

Влияние амфифильных соединений на постгипертонический шок эритроцитов человека

Е.А.Чабаненко, Н.А.Єршова, Н.В.Орлова, Н.М.Шпакова

При размораживании криоконсервированных эритроцитов, по мере таяния льда внеклеточная гипертоническая среда сменяется на изотоническую, вследствие чего развивается постгипертонический лизис клеток. В экспериментальных условиях постгипертонический шок эритроцитов моделирует влияние факторов криоповреждения, которые действуют на этапе размораживания эритроцитов, а также при перенесении в кровеносное русло клеток, криоконсервированных под защитой проникающего криопротектора. Постгипертонический шок эритроцитов осуществляли перенесением клеток из гипертонического раствора, содержащего 1,65 моль/л NaCl (среда дегидратации), в изотонический раствор, содержащий 0,15 моль/л NaCl (среда регидратации), при температуре 0°C. Изучали влияние представителей различных классов амфифильных соединений (анионный децилсульфат натрия, неионный децил- β ,D-глюкопиранозид и катионный хлорпромазин) на чувствительность эритроцитов человека к постгипертоническому шоку. Амфифильные вещества добавляли в среду регидратации перед внесением в нее клеток. Показано, что в условиях постгипертонического шока эритроцитов все исследуемые амфифильные вещества при использовании в эффективных концентрациях проявляют высокую антигемолитическую активность (на уровне 70%). Сравнительное изучение эффективности амфифильных веществ в условиях постгипертонического шока эритроцитов показало различие в размере плато (диапазон концентраций амфифильного соединения, в пределах которого наблюдается минимальный уровень гемолиза эритроцитов). Так, установлено, что для неионного децил- β ,D-глюкопиранозид плато в 3 раза больше, чем для анионного децилсульфата натрия и катионного хлорпромазина. Выявлена минимальная эффективная концентрация для децилсульфата натрия и максимальная – для децил- β ,D-глюкопиранозид в условиях постгипертонического шока эритроцитов. Предполагается, что выявленный защитный эффект амфифильных соединений в условиях постгипертонического шока эритроцитов связан с их способностью встраиваться в мембрану. Это приводит к увеличению площади поверхности мембраны и, следовательно, критического гемолитического объема клетки, что позволяет ей набухать до большего объема.

Ключевые слова: *постгипертонический шок; эритроциты человека; амфифильные соединения.*

Введение

Процесс низкотемпературного консервирования состоит из нескольких стадий: подготовка биологического материала (насыщение проникающим криопротектором), замораживание, хранение, размораживание и удаление проникающего криопротектора. На каждом из указанных этапов развивается целый комплекс событий, которые в той или иной мере будут определять результирующий успех низкотемпературного хранения биологического материала.

В настоящее время в криобиологии является актуальным исследование процессов, протекающих на разных этапах низкотемпературного консервирования биологических объектов (Henkelman et al., 2010). Постгипертонический шок эритроцитов (ПГШ) моделирует влияние факторов криоповреждения, которые действуют на этапе размораживания эритроцитов, а также при перенесении в кровеносное русло клеток, криоконсервированных под защитой проникающего криопротектора. При размораживании криоконсервированных эритроцитов, по мере таяния льда внеклеточная гипертоническая среда сменяется на изотоническую (Zou et al., 2015), вследствие чего развивается постгипертонический лизис клеток (ПГЛ). Модель «ПГШ» предполагает изучение чувствительности эритроцитов при их перенесении из гипертонических условий в изотонические.

Использование модельного подхода при исследовании криоповреждающих факторов, которые действуют на этапе замораживания биологических объектов, позволило выявить антигемолитическую активность амфифильных соединений, относящихся к разным классам поверхностно-активных веществ (ПАВ). Так, они защищают эритроциты от повреждения в условиях гипертонического шока и гипертонического криогемолиза, а также гипотонического шока (Шпакова, 2014; Iershov et al., 2007; Semionova et al., 2016b).

При изучении особенностей развития постгипертонического лизиса эритроцитов человека в присутствии положительно заряженного амфифильного соединения хлорпромазина (ХПР) был выявлен его антигемолитический эффект (Semionova et al., 2017). Катионные ПАВ, к которым относится ХПР, встраиваются в эритроцитарную мембрану и преимущественно распределяются во внутреннем монослое липидного бислоя. Характер указанного распределения обусловлен электростатическим взаимодействием между положительно заряженными амфифильными молекулами ХПР и отрицательно заряженными компонентами внутреннего монослоя мембраны. В пользу этого (распределение во внутреннем монослое бислоя) свидетельствуют особенности трансформации эритроцитов по типу дискоцит-стоматоцит (Manaargadoo-Catin et al., 2015).

Представляло интерес исследовать развитие ПГЛ эритроцитов в присутствии амфифильных соединений, относящихся к разным классам поверхностно-активных веществ, которые различаются по физико-химическим свойствам.

Цель работы: провести сравнительное изучение влияния представителей различных классов амфифильных соединений (анионный децилсульфат натрия, неионный децил- β ,D-глюкопиранозид и катионный хлорпромазин) на чувствительность эритроцитов человека к постгипертоническому шоку.

Материалы и методы исследования

В работе были использованы следующие реактивы: децилсульфат натрия («СинтезПАВ», Россия), хлорпромазин гидрохлорид, децил- β ,D-глюкопиранозид («Calbiochem», США), тритон X-100 («Мерск», Германия) и реактивы отечественного производства квалификации «хч» и «чда».

Все среды были приготовлены на фосфатном буфере (0,01 моль/л, pH 7,4). Осмоляльность растворов определяли криоскопическим методом с использованием осмометра ОМКА-1Ц-01 («Медлабортехника», Украина).

В работе исследовали эритроциты человека, полученные из донорской крови по стандартной методике (Semionova et al., 2016b). После удаления плазмы эритроциты трижды центрифугировали при 3000 об/мин (центрифуга «ОПН-3У4.2», Кыргызстан) в течение 3 мин в 10-кратном объеме физиологического раствора (0,15 моль/л NaCl). Лейкоцитарную пленку и супернатант удаляли аспирацией.

Постгипертонический шок эритроцитов осуществляли перенесением клеток из гипертонического раствора, содержащего 1,65 моль/л NaCl (среда дегидратации), в изотонический раствор, содержащий 0,15 моль/л NaCl (среда регидратации), при температуре 0°C. Продолжительность инкубирования эритроцитов в среде дегидратации 20 мин, в среде регидратации – 5 мин. Амфифильные вещества добавляли в среду регидратации перед внесением в нее клеток (Semionova et al., 2017). Конечный гематокрит составлял 0,4%. Количество вышедшего в супернатант гемоглобина определяли спектрофотометрически при длине волны 543 нм. За 100% принимали поглощение пробы, в которую добавляли детергент тритон X-100 в концентрации 0,1%.

Для того чтобы оценить и сравнить эффективность действия исследованных амфифильных соединений в условиях ПГШ эритроцитов, использовали понятия максимальной антигемолитической активности, плато и эффективных концентраций. Антигемолитическую активность амфифильного соединения выражали как процент снижения гемолиза клеток в присутствии веществ по отношению к гемолизу в пробе, не содержащей амфифил. Значение максимальной антигемолитической активности амфифильного соединения рассчитывали по формуле: $A_{Г_{\max}} = ((k - a) / k) \times 100\%$, где k – величина гемолиза эритроцитов при отсутствии амфифильного вещества; a – минимальная величина гемолиза эритроцитов в присутствии амфифильного вещества.

Плато определяли как диапазон концентраций амфифильного соединения, в пределах которого наблюдается минимальный уровень гемолиза эритроцитов, а эффективную концентрацию ($S_{AG_{\max}}$) – как концентрацию вещества, соответствующую середине плато.

Статистическую обработку полученных экспериментальных результатов проводили с помощью программы «Statistica 6.0» («StatSoft Inc., США). Экспериментальные данные представляли как среднее арифметическое значение количественных показателей (M) \pm стандартная ошибка среднего арифметического (m).

Результаты

Для развития ПГЛ эритроцитов млекопитающих важным является этап дегидратации, поскольку концентрация хлорида натрия в среде и продолжительность инкубирования в ней определяют уровень гемолиза клеток при перенесении в изотонические среды (Semionova et al., 2016a). При исследовании эффективности амфифильных соединений в условиях ПГШ эритроцитов в качестве среды дегидратации использовали 1,65 моль/л NaCl, для того чтобы исходный уровень ПГЛ клеток составлял 60–70 %.

В данной работе использовали амфифильные соединения, относящиеся к разным классам ПАВ, которые различаются по физико-химическим свойствам. Анионные амфифилы представлены децилсульфатом натрия (ДС), катионные – хлорпромазином (ХПР), неионные – децил- β ,D-глюкопиранозидом (ДГП). Амфифильные соединения представляют собой молекулы, содержащие гидрофильную и гидрофобную части, благодаря чему они легко встраиваются в плазматическую мембрану (Managadoo-Catin et al., 2015; Tacheva et al., 2019; Sblano et al., 2012).

Развитие детергентного лизиса эритроцитов связывают со способностью амфифильных молекул к мицеллообразованию. Амфифилы при использовании в низких концентрациях существуют в виде истинных растворов. С увеличением концентрации ПАВ их дифильные молекулы или ионы ассоциируют друг с другом и образуют мицеллы. Концентрацию ПАВ, при которой в растворе возникает большое количество мицелл и изменяются свойства раствора, называют критической концентрацией мицеллообразования (ККМ). В отличие от ДС и ХПР, которые характеризуются близкими значениями ККМ ($3,3 \times 10^{-2} > 2,2 \times 10^{-2}$ моль/л соответственно), эта величина для ДГП на порядок ниже ($2,2 \times 10^{-3}$ моль/л) (Castro et al., 2005; Sblano et al., 2012). Однако именно ДГП приводит к развитию гемолиза при использовании в достаточно высокой концентрации (выше 1600 мкмоль/л).

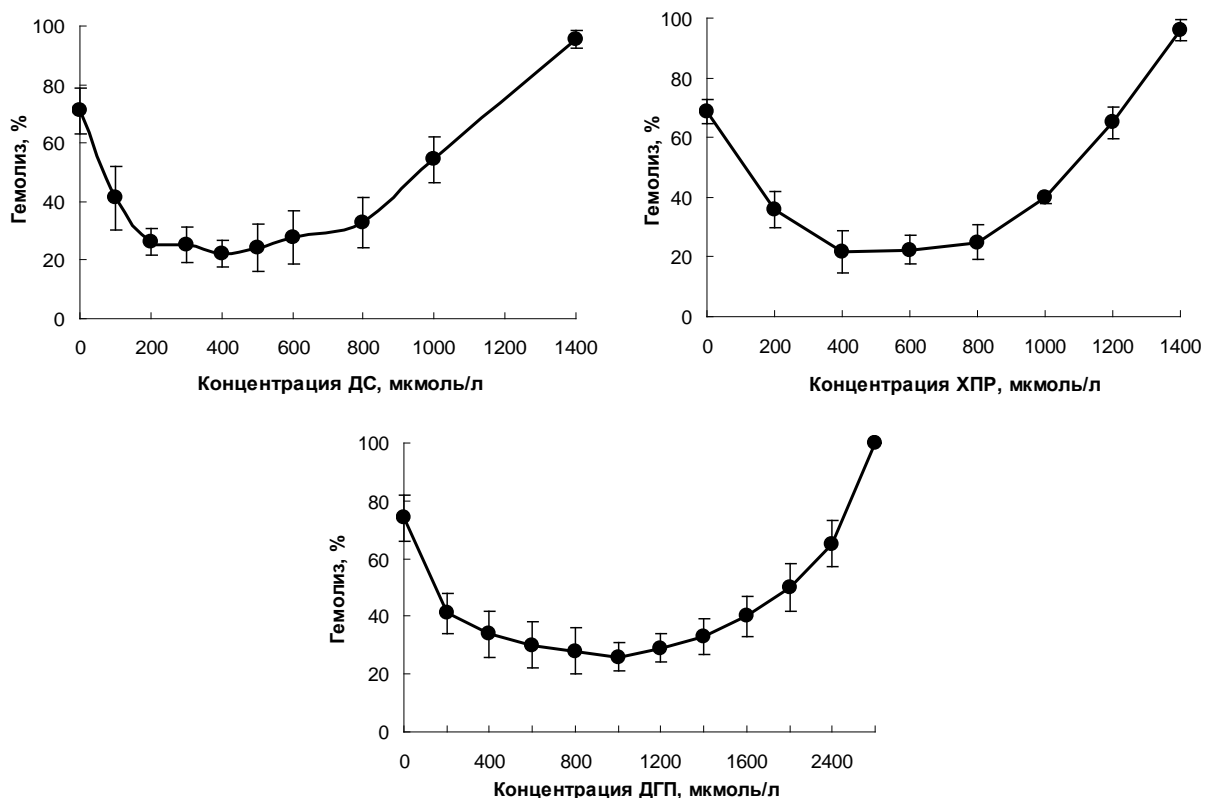


Рис. 1. Зависимость уровня постгипертонического гемолиза эритроцитов человека от концентрации амфифильных соединений

Для количественной оценки эффективности действия исследованных амфифильных соединений в условиях ПГШ эритроцитов из представленных зависимостей (рис. 1) были рассчитаны величины антигемолитической активности, размеры плато и значения эффективных концентраций веществ и представлены в табл. 1.

Таблица 1.

Значения максимальной антигемолитической активности ($A_{G_{max}}$), эффективных концентраций ($C_{эф}$) и размер плато амфифильных соединений в условиях ПГШ эритроцитов человека

Вещество	$A_{G_{max}}$, %	$C_{эф}$, мкмоль/л	Размер плато, мкмоль/л
ДС	69 ± 5	400	200–600
ДГП	65 ± 5	1000	400–1600
ХПР	68 ± 5	600	400–800

Плато – это диапазон концентраций амфифильного соединения, при которых наблюдается минимальный уровень гемолиза. По размеру плато заряженные амфифилы (ДС и ХПР) не отличаются, хотя для ХПР плато несколько сдвинуто в сторону более высоких значений концентрации амфифила. Для неионного ДГП концентрационное плато гораздо шире (в 3 раза). Несмотря на указанные различия в размерах плато для исследуемых веществ, существуют его участки, которые перекрываются, т.е. являются общими (400–600 мкмоль/л) для всех изучаемых амфифилов. Поскольку значения эффективных концентраций соответствуют середине плато, то они будут определяться его размерами (шириной) и положением по оси абсцисс. Соответственно, самая высокая эффективная концентрация характерна для ДГП (1000 мкмоль/л), а самая низкая – для ДС (400 мкмоль/л).

Из данных табл. 1 видно, что в условиях ПГШ эритроцитов все исследуемые амфифильные вещества (при использовании в указанных эффективных концентрациях) проявляют высокую антигемолитическую активность (на уровне 70%).

В отличие от молекул ХПР, которые встраиваются во внутренний монослой липидного бислоя мембраны и вызывают трансформацию клеток по типу дискоцит – стоматоцит, молекулы ДС и ДГП распределяются во внешнем монослое, о чем свидетельствует изменение формы эритроцитов от дискоцитов к эхиноцитам (Manaargadoo-Catin et al., 2015). Поскольку все исследуемые вещества проявляют высокую антигемолитическую активность (~70%) в условиях ПГШ эритроцитов, можно сделать вывод о том, что эффективность амфифилов не зависит от их трансмембранного распределения, которое определяется физико-химическими свойствами веществ, относящихся к разным классам ПАВ.

Известно, что в гипертонических растворах эритроциты сжимаются в результате выхода из них воды, что проявляется в изменении формы и уменьшении объема клеток. Предполагают, что кренирование эритроцитов может сопровождаться частичным откреплением цитоскелета от мембраны, что индуцирует образование микродефектов, через которые в клетку входят внеклеточные вещества (Piety et al., 2016; Mukhopadhyay et al., 2002). При последующем перенесении таких эритроцитов в среду регидратации клетки набухают в результате входа в них воды и лизируют при достижении значений критического гемолитического объема (Muldrew, 2008; Benga, 2013).

Можно предположить, что выявленный защитный эффект амфифильных соединений в условиях ПГШ эритроцитов связан с их способностью встраиваться в мембрану и увеличивать площадь ее поверхности, в результате чего увеличивается критический гемолитический объем клетки, что позволяет ей набухать до большего объема.

Выводы

Сравнительное изучение влияния представителей различных классов амфифильных соединений на чувствительность эритроцитов человека к постгипертоническому шоку показало, что анионный децилсульфат натрия и неионный децил- β ,D-глюкопиранозид проявляют высокую антигемолитическую активность, как и катионный хлорпромазин (на уровне 70%).

Установлено 3-кратное увеличение размера плато неионного децил- β ,D-глюкопиранозида по сравнению с децилсульфатом натрия и хлорпромазином. Выявлена минимальная эффективная концентрация для децилсульфата натрия и максимальная – для децил- β ,D-глюкопиранозида.

Список литературы / References

- Шпакова Н.М. Температурна та осмотична стійкість еритроцитів різних видів ссавців. Автореф. дис. ... доктора биол. наук. – Харків, 2014. – 44с. /Shpakova N.M. Temperature and osmotic resistance of erythrocytes of different mammalian species. Abstract of Ph.D. thesis (Biology). – Kharkiv, 2014. – 44p./
- Benga G. Comparative studies of water permeability of red blood cells from humans and over 30 animal species: an overview of 20 years of collaboration with Philip Kuchel // Eur. Biophys. J. – 2013. – Vol.42 (1). – P. 33–46.
- Castro E., Taboada P., Barbosa S., Mosquera V. Size control of styrene oxide- ethylene oxide diblock copolymer aggregates with classical surfactants: DLS, TEM, and ITC study // Biomacromolecules. – 2005. – Vol.6. – P. 1438–1447.
- Henkelman S., Lagerberg J.W., Graaff R. et al. The effects of cryopreservation on red blood cell rheologic properties // Transfusion. – 2010. – Vol.50 (11). – P. 2393–2401.
- Iershov S.S., Pysarenko N.A., Orlova N.V., Shpakova N.M. Effect of cationic and anionic amphiphilic compounds on hypertonic cryohemolysis of mammalian red blood cells // Fiziolohichniy zhurnal. – 2007. – Vol.53 (6). – P. 78–84.
- Manaargadoo-Catin M., Ali-Cheri A., Pougna J-L., Perrin C. Hemolysis by surfactant – a review // Advances in Colloid and Interface Science. – 2015. – Vol.228. – P. 1–16.
- Mukhopadhyay R., Lim H.W.G., Wortis M. Echinocyte shapes: bending, stretching, and shear determine spicule shape and spacing // Biophys. J. – 2002. – Vol.82 (4). – P. 1756–1772.
- Muldrew K. The salting-in hypothesis of post-hypertonic // Cryobiology. – 2008. – Vol.57 (3). – P. 251–256.
- Piety N.Z., Reinhart W.H., Poureau P.H. et al. Shape matters: the effect of red blood cell shape on perfusion of an artificial microvascular network // Transfusion. – 2016. – Vol.56 (4). – P. 844–851.
- Sblano C., Micelli S., Notarachille G., Meleleo D. Effect of n-octyl- β -D-glucopyranoside on human and rat erythrocyte // The Open Biology Journal. – 2012. – Vol.5 (1). – P. 1–5.
- Semionova E.A., Yershova N.A., Yershov S.S., Orlova N.V. Peculiarities of posthypertonic lysis in erythrocytes of several mammals // Probl. Cryobiol. Cryomed. – 2016a. – Vol.26 (1). – P. 73–83.
- Semionova E.A., Iershova N.A., Orlova N.V., Shpakova N.M. Hypotonic lysis of mammalian erythrocytes in chlorpromazine presence // Eastern European Scientific Journal. – 2016b. – No. 2. – P. 7–17.
- Semionova E.A., Chabanenko E.A., Orlova N.V. et al. About mechanism of antihemolytic action of chlorpromazine under posthypertonic stress in erythrocytes // Probl. Cryobiol. Cryomed. – 2017. – Vol.27 (3). – P. 219–229.
- Tacheva B., Paarvanova B., Ivanov I.T. et al. Drug exchange between albumin nanoparticles and erythrocyte membranes // Nanomaterials (Basel). – 2019. – Vol.9 (1). – P. 47–61.
- Zou L., Ding W., Sun S. et al. Fatigue damage to pig erythrocytes during repeated swelling and shrinkage // Cryobiology. – 2015. – Vol.71 (2). – P. 210–215.

Представлено: О.В.Шаповалова / Presented by: O.V.Shapovalova

Рецензент: Л.В.Коба / Reviewer: L.V.Koba

Подано до редакції / Received: 10.06.2019

Про авторів: О.О.Чабаненко – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, chabanenkoolena@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1977-3495>

Н.А.Єршова – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, ershas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9332-6752>

Н.В.Орлова – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, NataliaOrlova1965@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6569-9906>

Н.М.Шпакова – Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61016, starling.nataly@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0148-7522>

About the authors: O.O.Chabanenko – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NASU, Pereyaslavskaya Str., 23, Kharkiv, Ukraine, 61016, chabanenkoolena@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1977-3495>

N.A.Yershova – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NASU, Pereyaslavskaya Str., 23, Kharkiv, Ukraine, 61016, ershbas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9332-6752>

N.V.Orlova – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NASU, Pereyaslavskaya Str., 23, Kharkiv, Ukraine, 61016, NataliaOrlova1965@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6569-9906>

N.M.Shpakova – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NASU, Pereyaslavskaya Str., 23, Kharkiv, Ukraine, 61016, starling.nataly@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0148-7522>

Об авторах: Е.А.Чабаненко – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, Харьков, Украина, 61016, chabanenkoolena@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1977-3495>

Н.А.Ершова – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, Харьков, Украина, 61016, ershbas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9332-6752>

Н.В.Орлова – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, Харьков, Украина, 61016, NataliaOrlova1965@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6569-9906>

Н.М.Шпакова – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, Харьков, Украина, 61016, starling.nataly@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0148-7522>

УДК: 577.112.386+546:223.2:636.082.454:612.391.595.772

Вплив сірковмісних сполук на стресостійкість *Drosophila melanogaster* О.Г.Чака, Р.В.Янко, С.Л.Сафонов, І.І.Коломієць, М.І.Левашов

Вивчали стійкість імаго *D. melanogaster* лінії Oregon-R, які розвивались на поживному середовищі, що містило метіонін у концентрації 1 мг/мл або тіосульфат натрію у концентрації 0,05 моль/л або 0,1 моль/л, до термічного та аліментарного стресів. Також досліджували вплив додавання цих речовин до поживного середовища на плодючість та смертність на стадії лялечки *D. melanogaster*. Проведені дослідження показали підвищення стійкості особин, які розвивались на середовищі з додаванням метіоніну, до термостресу. Відсоток особин, які витримали термотестування, збільшився на 35,5%. Збільшився також час виживання особин в умовах аліментарної депривації: у цій групі середня тривалість життя зросла на 3,7 год., максимальна – на 7,5 год. При розведенні на середовищі з додаванням метіоніну спостерігали збільшення плодючості в лінії: кількість лялечок, отриманих від однієї самки, була більше, ніж у контролі, на 44%. Серед особин цієї групи зменшилась (втричі) смертність на стадії лялечки. У дослідній групі, яка розвивалась на середовищі з додаванням 0,05 моль/л тіосульфату натрію, стійкість до термостресу збільшилась. Кількість особин, які вижили після термотесту, була на 10% більше, ніж у контролі. Резистентність до аліментарної депривації, навпаки, зменшилась. Середня тривалість життя була на 3,2 год. менше, ніж у контролі, а максимальна – на 5,4 год. менше. Для особин, яких утримували на середовищі з вмістом тіосульфату натрію в концентрації 0,1 моль/л, характерна знижена стійкість до термічного стресу. Відсоток особин, що витримали термотест, був удвічі меншим. В цій групі збільшилась середня (на 3,4 год.) та максимальна (на 5,5 год.) тривалість життя при аліментарній депривації. Плодючість в дослідній групі, яка розвивалась на середовищі з вмістом тіосульфату натрію у концентрації 0,05 моль/л, збільшилась на 48%, а на середовищі з вмістом тіосульфату натрію у концентрації 0,1 моль/л, навпаки, мала чітку тенденцію до зменшення на 33%. Смертність на стадії лялечки в обох групах, при споживанні личинками тіосульфату натрію, зменшилася на 28% та 35% відповідно. Таким чином, споживання личинками *D. melanogaster* лінії Oregon-R метіоніну (1 мг/мл) супроводжується підвищенням стресостійкості та плодючості лінії. Характер впливу тіосульфату натрію на досліджувані показники пристосованості дрозофіл залежить від його концентрації в поживному середовищі.

Ключові слова: *Drosophila melanogaster*; метіонін; тіосульфат натрію; термострес; аліментарна депривація; плодючість.

The effect of sulfur-containing compounds on stress resistance of *Drosophila melanogaster* O.G.Chaka, R.V.Yanko, S.L.Safonov, I.I.Kolomiets, M.I.Levashov

We have studied the resistance of *D. melanogaster* imago, Oregon-R stock, reared on the culture medium, supplied either with methionine (1 mg/ml), or with sodium thiosulphate (0.05 mol/l or 0.1 mol/l), to heat (thermal) and alimentary stress. Also we have analyzed the effect of these substances addition to the medium on fertility and pupa lethality of *D. melanogaster*. A significant increase of resistance to heat stress was shown in flies reared on the culture medium supplied with methionine. Percent of individuals survived after heat stress increased by 35.5%. Imago survival, in the conditions of alimentary deprivation, increased; in this group average life span increased for 3.7 hours, maximal – for 7.5 hours. Fertility of drosophila reared on the medium with addition of methionine increased; number of pupas obtained from one female was more, than in control by 44%. Pupa lethality in this group decreased in three times. Resistance to heat stress of flies reared on the medium with addition of sodium thiosulphate (0.05 mol/l) increased. Number of individuals survived after heat stress was more, than in control by 10%. However, resistance to alimentary deprivation decreased. Their average life span was less for 3.2 hour, than in the control group, and maximal life span was less for 5.4 hour. Resistance to heat stress of flies reared on the medium supplemented with 0.1 mol/l sodium thiosulphate decreased. Percent of individuals survived after heat stress was twice less. Average life span and maximal life span in the conditions of alimentary deprivation increased by 3.4 hours and by 5.5 hours respectively. Fertility of flies developed in the medium with sodium thiosulfate (0.05 mol/l) supplement increased by 48 %, while same index for those consumed sodium thiosulfate 0.1 mol/l had a clear tendency to reduction by 33%. Pupa lethality in both groups consumed sodium thiosulphate (0.05 mol/l and 0.1 mol/l) decreased by 28% and 35% respectively. Thus, methionine consumption by larvae of *D. melanogaster* promotes resistance to stress and fertility of Oregon-R stock. The effect of sodium thiosulphate on drosophila fitness indexes studied depends on its concentration in the culture medium.

Key words: *Drosophila melanogaster*; methionine; sodium thiosulfate; heat stress; alimentary deprivation; fertility.

Влияние серосодержащих соединений на устойчивость к стрессу
Drosophila melanogaster

Е.Г. Чака, Р.В. Янко, С.Л. Сафонов, И.И. Коломиец, М.И. Левашов

Изучали устойчивость имаго *D. melanogaster* линии Oregon-R, которые развивались на питательной среде, содержащей метионин в концентрации 1 мг/мл или тиосульфат натрия в концентрации 0,05 моль/л или 0,1 моль/л, к термическому и алиментарному стрессам. Также оценивали влияние добавления этих веществ в питательную среду на плодовитость и смертность на стадии куколки *D. melanogaster*. Проведенные исследования показали повышение устойчивости особей, которые развивались на среде с добавлением метионина, к термострессу. Доля особей, которые выдержали термотест, увеличилась на 35,5%. Увеличилось время выживания имаго в условиях алиментарной депривации. В этой группе особей средняя продолжительность жизни увеличилась на 3,7 часов, максимальная – на 7,5 часов. При разведении на среде с добавлением метионина наблюдали увеличение плодовитости линии: количество куколок, полученных от одной самки, было больше, чем в контроле, на 44%. Среди особей этой группы уменьшилась (втрое) смертность на стадии куколки. У особей, которые развивались на среде с добавлением 0,05 моль/л тиосульфата натрия, устойчивость к термострессу увеличилась. Количество особей, которые выжили после термотеста, было на 10% больше, чем в контроле. Устойчивость к алиментарной депривации, напротив, уменьшилась. Средняя продолжительность жизни была на 3,2 часа меньше, чем у представителей контрольной группы, а максимальная – на 5,4 часа меньше. В группе, которую содержали на среде с тиосульфатом натрия в концентрации 0,1 моль/л, уменьшилась устойчивость особей к термическому стрессу. Доля особей, которые выдержали термотест, была вдвое меньше. При этом для этой группы характерно увеличение средней (на 3,4 часа) и максимальной (на 5,5 часов) продолжительности жизни особей при алиментарной депривации. Плодовитость в группе, которая развивалась на среде с тиосульфатом натрия в концентрации 0,05 моль/л, увеличилась на 48%, а при развитии на среде с тиосульфатом натрия в концентрации 0,1 моль/л, напротив, имела четкую тенденцию к уменьшению на 33%. Смертность на стадии куколки в обеих группах особей, личинки в которых употребляли тиосульфат натрия, уменьшилась на 28 и 35% соответственно. Таким образом, употребление личинками *D. melanogaster* линии Oregon-R метионина (1 мг/мл) повышает стрессоустойчивость и плодовитость линии. Влияние тиосульфата натрия на исследуемые показатели приспособленности дрозофил зависит от его концентрации в питательной среде.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*; метионин; тиосульфат натрия; термостресс; алиментарная депривация; плодовитость.

Вступ

У багатьох дослідженнях було показано, що незамінна амінокислота метіонін може підвищувати стресостійкість організмів. У експериментах на культурі клітин *Saccharomyces cerevisiae* спостерігали зміну активності пентозофосфатного шляху окиснення, підвищення рівня метаболітів пентозофосфатного окиснення, НАДФН та ферменту 6-фосфоглюконатдегідрогенази після збільшення концентрації метіоніну в середовищі культивування (Campbell et al., 2016). Попередня інкубація з метіоніном підвищувала толерантність клітин до впливу окисника діаміду тіолу (Campbell et al., 2016). Підвищення стійкості організму до стресу може бути пов'язане з протекторними властивостями метіоніну, його здатністю виводити мікотоксини (Surai, Meze, 2005). У дослідженнях на *D. melanogaster* виявлено, що додавання до поживного середовища метіоніну, з одночасним зменшенням кількості інших незамінних амінокислот, призводить до підвищення плодючості та тривалості життя (Orgeron et al., 2014). В іншому дослідженні, навпаки, виявили зменшення числа особин, які розвилися до стадії імаго, при додаванні до поживного середовища метіоніну, внаслідок підвищення смертності на стадії метаморфозу (Волкова и др., 2013). Також у дослідженнях, проведених на дрозофілі, було показано підвищення плодючості при додаванні 0,7 мМ метіоніну до поживного середовища (Grandison et al., 2009). Було виявлено, що метіонін чинить залежний від концентрації вплив на тривалість життя дрозофіли. Так, при концентрації метіоніну 0,135% тривалість життя імаго збільшувалась, а при підвищенні вмісту метіоніну до 0,4% у поживному середовищі – тривалість життя скорочувалась (Troen et al., 2007). Відомо, що цикл обміну метіоніну відіграє критичну роль у метаболізмі клітин. Порушення обміну цієї амінокислоти призводить до багатьох захворювань (Gavin, Sharma, 2010; Davis, Uthus, 2004). S-аденозилметионін – один з метаболітів метіонінового циклу, є універсальними донором метильних груп і субстратом для гістонових та ДНК метилтрансфераз, які регулюють генну активність та епігенетичне успадкування (James et al., 2004). Робота метіонінового циклу залежить від

надходження з їжею певних речовин (метіоніну, холіну, бетаїну) та перебуває під впливом генів ферментів, які регулюють цей цикл (Ulrich, 2006; Wagner, 2000). Вивчення регуляторних механізмів, які контролюють ДНК метилювання, є важливим для розуміння нормального функціонування клітин та експресії генів.

Сірковмісні сполуки різноспрямовано впливають на показники пристосованості та розвиток дрозофіли. Так, при утриманні личинок у газовій суміші з 0,7 ppm SO₂ протягом 11 діб та у газовій суміші з 0,4 ppm протягом 10 діб суттєво збільшився час розвитку і зменшилась частка особин, що вижили (Ginevan, Lane, 1978). В іншому дослідженні був показаний радіопротекторний ефект сірководню при опроміненні яєць дрозофіли (Matter et al., 1969). Коли яйця опромінювали в присутності сірководню, ембріональна смертність зменшувалась. Однією з неорганічних сполук сірки, яка легко засвоюється організмом і широко використовується в медичній практиці, є тіосульфат натрію. У дослідженні (Katz et al., 1989) був встановлений протекторний ефект тіосульфату натрію (200 мМ) щодо мутагенної дії цисплатину на клітини соматичних тканин дрозофіли. Відомо, що дана сполука має імуномодулюючі, антиоксидантні, детоксуючі властивості, гальмує накопичення пероксидів, знижує інтенсивність окиснення ненасичених жирних кислот (Sen et al., 2008). Хоча метіонін та тіосульфат натрію давно використовується в медицині, їх значення як епігенетичних факторів регуляції експресії генів залишається не дослідженим. В останні роки накопичено велику кількість доказів того, що епігенетичні процеси відіграють важливу роль у формуванні стійкості організму до стресу.

Тому, метою нашої роботи було дослідити вплив метіоніну та тіосульфату натрію на стресостійкість *Drosophila melanogaster*.

Об'єкти та методи досліджень

Дослідження проведено на *Drosophila melanogaster* лінії Oregon-R. Всього було сформовано чотири експериментальні групи. Особин контрольної групи (I) утримували на стандартному поживному середовищі (агар, цукор, манна крупа, дріжджі та пропіонова кислота). Особини II групи на личинковій стадії розвитку розвивалися на поживному середовищі з додаванням незамінної сірковмісної амінокислоти метіонін у концентрації 1 мг/мл. На личинковій стадії розвитку особини III групи споживали поживне середовище з додаванням тіосульфату натрію у концентрації 0,05 моль/л, а личинки дрозофіли IV групи розвивалися на поживному середовищі з додаванням тіосульфату натрію у концентрації 0,1 моль/л. Після вильоту імаго переносили на стандартне поживне середовище. Обрані нами концентрації метіоніну і тіосульфату дозволяли, з одного боку, отримати більш чітко виражений вплив на досліджувані показники стресостійкості дрозофіли, а з іншого – не викликали токсичних порушень.

Досліджували стійкість отриманих імаго (віком 3–5 діб) до термостресу та до аліментарної депривації. Для визначення термостійкості імаго проводили термотест. Особин піддавали дозованому тепловому стресу при підбраній сублетальній температурі (41,8°C) та тривалості впливу (45 хв), при яких можна оцінити різницю в термостійкості між різними групами (Чепель, Алексеев, 1971). Стійкість до підвищеної температури визначали як частку особин, що вижили після дії чинника, від загальної кількості особин. У наступному експерименті визначали стійкість особин кожної групи до повної аліментарної депривації. Імаго розсаджували по 10–15 особин у пробірки без корму. Для підтримання постійної високої вологості в пробірках їх закривали ваткою, змоченою у дистильованій воді (Жукова, Киселева, 2011). Визначали кількість живих особин кожні 4 години. За отриманими даними будували криві виживання, розраховували середню (СТЖ) та максимальну (МТЖ) тривалість життя, а також час вимирання 50% особин ($t_{1/2}$). Для визначення плодючості імаго розсаджували у пробірки з поживним середовищем по 5 самців та 5 самок (віком 3–4 доби) в одну пробірку. Через 1 добу батьків видалляли з пробірок. Визначали кількість лялечок та кількість імаго нащадків у перерахунку на одну самку, розраховували частку загиблих особин на стадії лялечки.

Статистичний аналіз отриманих даних здійснювали за допомогою пакету статистичних програм STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001, США). Для оцінки статистичної значущості відмінностей між групами за результатами термотесту використовували критерій χ^2 Пірсона. Визначення розбіжностей між групами за стійкістю до голодування проводили за допомогою тесту Гехана–Вілкоксона. Різницю між групами за показниками плодючості встановлювали за допомогою дисперсійного аналізу. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Адаптаційні можливості організму можна оцінювати по результатах дослідження його стійкості до несприятливих впливів оточуючого середовища. Відомо, що підвищення температури оточуючого середовища є одним з найбільш несприятливих факторів для дрозофіли (Педан, Тимченко, 2014). Відповідно до отриманих у даному дослідженні результатів споживання личинками метіоніну супроводжувалось підвищенням стійкості до термостресу імаго дрозофіл. Кількість особин, що витримали термотестування, в групі II збільшилась на 35,5% (табл. 1).

Таблиця 1.

Стійкість дрозофіл до термостресу (% живих особин після термотесту)

Група	I	II	III	IV
Кількість живих особин, %	55,5	91,0*	65,0*	25,0*

Примітка: *статистично значущі зміни порівняно з контролем ($p < 0,01$).

При додаванні до поживного середовища тіосульфату натрію (0,05 моль/л) стійкість імаго до гіпертермії мала тенденцію до збільшення на 9,5%. Частка особин, які витримали термотест, при розведенні на середовищі з тіосульфатом натрію (0,1 моль/л), зменшилась на 30%. Отримані нами результати свідчать про те, що тіосульфат натрію чинить дозозалежний ефект на термостійкість імаго дрозофіли.

Іншим стресовим фактором, стійкість до якого ми визначали, була аліментарна депривація. У особин групи II показники тривалості життя при повному голодуванні певною мірою збільшились відносно контролю. Так, середня тривалість життя (СТЖ) збільшилась на 3,7 години, максимальна (МТЖ) – на 7,5 годин, час вимирання половини особин ($t_{1/2}$) – на 4 години (рис. 1). Однак, тест Гехана-Вілкоксона не виявив статистично значущих відмінностей між групами ($p > 0,05$).

Проведені нами дослідження показали статистично значуще, за даними тесту Гехана-Вілкоксона ($p < 0,01$), зниження середньої та максимальної тривалості життя при голодуванні імаго, які на личинковій стадії розвивались на середовищі з тіосульфатом натрію (0,05 моль/л), порівняно з тими, які розвивались на стандартному середовищі. СТЖ імаго групи III знизилась на 3,2 години, МТЖ – на 5,4 години, а $t_{1/2}$ – на 2 години. Для імаго дрозофіли, які на личинковій стадії споживали поживне середовище з додаванням тіосульфату натрію (0,1 моль/л), час виживання при повній аліментарній депривації збільшився порівняно з тими, яких під час личинкового розвитку утримували на звичайному середовищі (рис. 1). У особин цієї групи СТЖ зросла на 3,4 години, МТЖ – на 5,5 години, а $t_{1/2}$ збільшився на 6,7 годин. Ці розбіжності були статистично значущими згідно з розрахунками критерію Гехана-Вілкоксона ($p < 0,05$).

Проведені дослідження показали, що додавання до поживного середовища метіоніну у концентрації 1 мг/мл та тіосульфату натрію у концентрації 0,1 моль/л сприяло збільшенню терміну виживання дрозофіл в умовах повного голодування.

Отримані нами результати свідчать, що споживання метіоніну особинами на личинковій стадії розвитку супроводжувалось підвищенням стійкості імаго до обох видів стресу. Натомість стресостійкість імаго дрозофіл, які на стадії личинки споживали тіосульфат натрію у надлишку, залежала від його концентрації у поживному середовищі. При розведенні дрозофіли на середовищі з 0,05 моль/л тіосульфату натрію підвищувалась термостійкість імаго, але зменшувалась їх стійкість до повної аліментарної депривації. Наявність тіосульфату натрію у концентрації 0,1 моль/л в поживному середовищі супроводжувалась протилежним впливом – погіршенням термостійкості, але збільшенням часу виживання в умовах аліментарної депривації.

Сульфгідрильні групи або тіолові зв'язки (-SH) відіграють важливу роль в активних центрах ензимів. Маючи унікальні фізико-хімічні властивості та найбільш високу реакційну здатність, вони здійснюють зворотню окислювально-відновлювальну реакцію в нормальних умовах. Сульфгідрильні групи, які є складовою частиною коферменту А та ліпоевої кислоти, беруть участь у ферментативних реакціях утворення та перенесення ацильних залишків, пов'язаних з метаболізмом ліпідів і вуглеводів. Доведено, що блокування сульфгідрильних груп за допомогою специфічних реагентів викликає часткове або повне гальмування активності багатьох ферментів (Friedman, 1973).

Показано, що у відповідь на підвищення температури середовища у личинок дрозофіли відбувається активація синтезу специфічної групи білків (Панасенко и др., 2003). Ця група білків отримала назву білки теплового шоку (heat shock proteins, Hsp). Пізніше було показано, що ці білки належать до групи молекулярних шаперонів. Головна їх функція – відновлення правильної нативної третинної та четвертинної структури білків, а також утворення та дисоціація білкових комплексів (Hartl, Nayer-Hartl, 2002). Також Hsp беруть участь в процесі пригнічення апоптозу (Jacobson et al., 2010). Встановлено, що N-кінцевий домен sHsp складається з 26 амінокислотних залишків, більшість яких припадає на метіонін. Висловлюється думка, що функціональні ефекти шаперонів пов'язані з тіловими системами, через які забезпечується їх антиоксидантна та інша дія (Тапбергенов и др., 2015).

Можливо, підвищення стійкості піддослідних особин, які на стадії личинки споживали метіонін, до термічного та аліментарного стресу пов'язане саме зі збільшенням активності білків теплового шоку під впливом надлишку цієї сірковмісної амінокислоти.

Одним із показників пристосованості живих організмів вважають їх плодючість. Відомо, що дрозофіли мають високу плодючість. Одна самка може відкласти до 600 яєць за життя. Саме така висока плодючість забезпечує підтримку чисельності популяції на достатньо високому рівні. Нами встановлено, що кількість лялечок від однієї самки з групи II, які розвивались на середовищі з додаванням метіоніну, була більше, ніж від імаго контрольної групи, на 44%. У той самий час у цій групі смертність на стадії лялечки зменшилась на 65% (табл. 2).

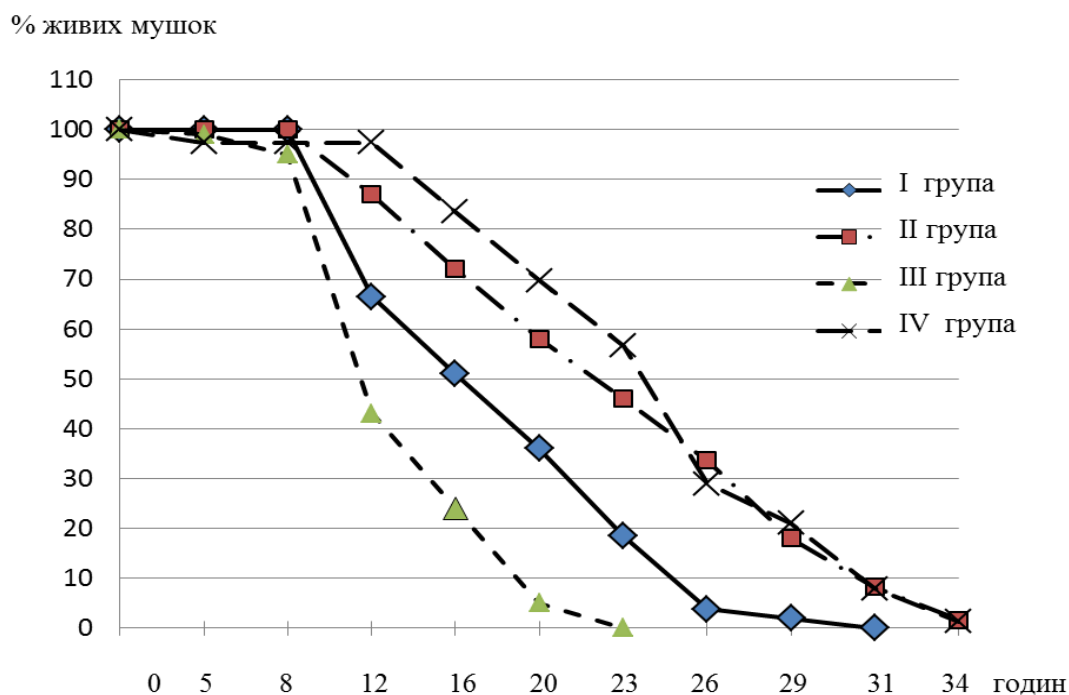


Рис. 1. Тривалість життя імаго різних груп в умовах аліментарної депривації

Таблиця 2.

Плодючість та життєздатність лінії Oregon-R у контрольних та дослідних умовах (кількість лялечок та імаго, у перерахунку на одну самку)

Група	I	II	III	IV
Кількість лялечок, шт. (плодючість)	7,9±1,9	10,87±1,04*	11,3±0,9	4,9±0,6
Кількість імаго, шт. (життєздатність)	7,2±1,7	10,78±1,01*	10,7±0,9*	4,8±0,6
Смертність на стадії лялечки, %	8,1	2,84*	5,81	5,2

Примітка: *статистично значущі зміни порівняно з контролем ($p < 0,05$).

Для імаго, яких на личинковій стадії розвитку утримували на середовищі з додаванням тіосульфату натрію (0,05 моль/л), кількість нащадків (лялечок та імаго) в перерахунку на одну самку мала тенденцію до збільшення на 48%. При підвищенні концентрації тіосульфату натрію у поживному середовищі до 0,1 моль/л ці показники мали тенденцію до зниження на 33%. Смертність на стадії лялечки серед особин, які розвивалися на середовищі з тіосульфатом натрію як у концентрації 0,05 моль/л, так і у концентрації 0,1 моль/л, знизилась на 28% та 35% відповідно, порівняно з контролем. За даними дисперсійного аналізу метіонін здійснював суттєвий вплив на кількість відкладених яєць та отриманих імаго нащадків особин групи II. У той же час тіосульфат в обох досліджуваних концентраціях, за даними дисперсійного аналізу, не мав статистично значущого впливу на ці показники. Проведені нами дослідження показали, що споживання надлишку метіоніну сприяло підвищенню плодючості лінії Oregon-R та зниженню смертності на стадії лялечки. Тоді як надлишок тіосульфату натрію, хоча і супроводжувався зменшенням плодючості та життєздатності, але також сприяв зниженню рівня смертності на стадії лялечки.

Одним із механізмів, активно задіяних у перебудові тіла комах на стадії метаморфозу, є автофагія. Блокування цього процесу (Камышев, 1999) призводить до загибелі особини на стадії лялечки. В цілому, автофагія виконує багато функцій в організмі. Це є спосіб, за допомогою якого клітини можуть відповідати на метаболічний стрес або адаптуватися до мінливих умов середовища. Тобто це є базовим процесом, завданням якого є видалення дефектних органел, макромолекулярних структур, компонентів цитозолу, а також низки інших, специфічних для певного типу клітин функцій (Juhasz et al., 2003). Загальновідомими індукторами автофагії є брак поживних речовин і голодування (Mathew, White, 2007). Це означає, що даний процес чутливий до концентрацій нутрієнтів (амінокислот, глюкози), гормонів (інсуліну, глюкагону), факторів росту і цитокінів (інсулін-подібний фактор росту I, фактор некрозу пухлин α , інтерлейкін-3) (Kadowski et al., 2006). Зменшення смертності на стадії лялечки під впливом метіоніну та тіосульфату натрію може бути пов'язане з їх впливом на процеси автофагії, завдяки їх антиоксидантним та імуномодельючим властивостям. Метіонін необхідний для створення і підтримки в здоровому стані нових клітин. Його наявність в оптимальній кількості особливо важлива в періоди швидкого розвитку організму – на стадії раннього ембріогенезу та метаморфозу.

Висновки

1. Споживання надлишку метіоніну на личинковій стадії супроводжується підвищенням стійкості дрозофіл до теплового та аліментарного стресу, збільшенням плодючості та зниженням смертності на стадії лялечки.
2. Додавання до поживного середовища тіосульфату натрію у концентрації 0,05 моль/л супроводжується підвищенням стійкості імаго лінії Oregon-R до термостресу, але зменшенням часу виживання при повній аліментарній депривації.
3. Утримання дрозофіл на середовищі з тіосульфатом натрію (0,1 моль/л) супроводжується зменшенням стійкості імаго до термічного стресу, але підвищенням стійкості до повної аліментарної депривації.
4. Вплив тіосульфату натрію на плодючість дрозофіл має дозозалежний характер. Імаго, виведені на середовищі з концентрацією тіосульфату натрію 0,05 моль/л, характеризуються більш високою плодючістю, а на середовищі з вмістом тіосульфату натрію 0,1 моль/л – навпаки, зменшеною. Смертність на стадії лялечки зменшилась в обох групах.

Список літератури / References

- Волкова Н.Е., Филиппоненко Н.С., Красовская В.В. и др. Влияние фолиевой кислоты и метионина на приспособленность *Drosophila melanogaster* // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – 2013. – Вип.17, №1056. – С. 62–77. / Volkova N.Ye., Filiponenko N.S., Krasovska V.V. et al. Effect of the folic acid and methionine on *Drosophila melanogaster* fitness // The Journal of V.N.Karazin Kharkiv National University. Series "Biology". – 2013. – Vol.17 (1056). – P. 62–77./
- Жукова М.В., Киселева Е.В. Влияние голодания на продолжительность жизни и апоптоз в клетках яичников *Drosophila melanogaster* // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011, Т.15, №1. – С. 148–155. /Zhukova M.V, Kiseleva E.V. Influence of starvation on the lifespan and apoptosis in ovarian cells of *Drosophila melanogaster* // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2011. – Vol.15 (1). – P.148–155./
- Камышев Н.Г. Физиолого-генетический анализ поведения и естественных форм обучения у дрозофилы. Автореф. дисс. ... доктора биол. наук. – Санкт-Петербург, 1999. – 20с. /Kamyshev N.G.

- Physiological and genetic analysis of behavior and natural forms of learning in drosophila. Abstract of thesis of dissertation for the doctor degree in biological sciences. – Saint Petersburg, 1999. – 20p./
- Панасенко О.О., Ким М.В., Гусев Н.Б. Структура и свойства малых белков теплового шока // Успехи биологической химии. – 2003. – Т.43. – С. 59–98. /Panasenko O.O., Kim M.V., Gusev N.B. Structure and properties of small proteins of thermal shock // Successes of Biological Chemistry. – 2003. – Vol.43. – P. 59–98./
- Педан Л.Р., Тимченко О.І. Вплив зовнішніх факторів на виникнення мутацій у популяції дрозофіли і їхній зв'язок з плодовитістю (огляд літератури) // Гігієна населених місць. – 2014. – №64. – С. 356–368. /Pedan L.R., Timchenko O.I. Influence of external factors on the origin of mutations in the populations of drosophila and their connection with fecundity (review of literature) // Hygiene of inhabited places. – 2014. – No. 64. – P. 356–368./
- Тапбергенів С.О., Бекбосынова Р.Б., Советов Б.С., Болысбекова С.М. Функциональное состояние компонентов белков теплового шока глутатионредуктазы и глутатионовой редокс-системы при перегревании и охлаждении // Успехи современного естествознания. – 2015. – №1 (часть 5) – С. 781–784. /Tapbergenov S.O., Bekbosynova R.B., Sovetov B.S., Bolysbekova S.M. Functional status of the components of heat shock proteins of glutathione reductase and glutathione redox system by overheating and cooling // Advances in Current Natural Sciences. – 2015. – No. 1 (part 5). – P. 781–784./
- Чепель Л.М., Алексеев В.М. Сравнительное изучение теплоустойчивости инбредных линий и гибридов шелкопрядов и дрозофилы // Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. – Харьков, 1971. – С. 58–61. /Chepel L.M., Aleseev V.M. Comparative study of thermostability of inbred stocks and hybrids of silkworms and drosophila // Stability to the extreme temperatures and temperature adaptations. – Kharkiv, 1971. – P. 58–61./
- Campbell K., Vowinckel J., Keller A., Ralser M. Methionine metabolism alters oxidative stress resistance via the pentose phosphate pathway // Antioxid. Redox Signal. – 2016. – Vol.24 (10). – P. 543–547.
- Davis C., Uthus E. DNA methylation, cancer susceptibility, and nutrient interactions // Exp. Biol. Med. – 2004. – Vol.229 (10). – P. 988–995.
- Friedman M. The chemistry and biochemistry of the sulfhydryl group in amino acids, peptides and protein. – Pergamon Pr., Oxford, England and Elmsford, New York, 1973. – 485p.
- Gavin D., Sharma R. Histone modifications, DNA methylation, and schizophrenia // Neurosci. Biobehav. Rev. – 2010. – Vol.34 (6). – P. 882–888.
- Ginevan M.E., Lane D.D. Effects of sulfur dioxide in air on the fruit fly, *Drosophila melanogaster* // Environmental Science and Technology. – 1978. – Vol.12 (7). – P. 828–831.
- Grandison R.C., Piper M.D., Partridge L. Amino-acid imbalance explains extension of lifespan by dietary restriction in *Drosophila* // Nature. – 2009. – Vol.462 (7276). – P. 1061–1064.
- Hartl F.U., Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein // Science. – 2002. – Vol.295 (5561). – P. 1852–1858.
- Jacobson J., Lambert A.J., Portero-Otin M. et al. Biomarkers of aging in *Drosophila* // Aging Cell. – 2010. – Vol.9 (4). – P. 466–477.
- James S., Cutler P., Melnyk S. et al. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism // Am. J. Clin. Nutr. – 2004. – Vol.80 (6). – P. 1611–1617.
- Juhász G., Csikos G., Sinka R. et al. The *Drosophila* homolog of *Aut1* is essential for autophagy and development // FEBS Lett. – 2003. – Vol.543 (1–3). – P. 154–158.
- Kadowski M., Karim M., Carpi A., Miotto G. Nutrient control of macroautophagy in mammalian cells // Mol. Aspects Med. – 2006. – Vol.27. – P. 426–443.
- Katz A.J. Sodium thiosulfate inhibits cisplatin-induced mutagenesis in somatic tissue of *Drosophila* // Environ. Mol. Mutagen. – 1989. – Vol.13 (2). – P. 97–99.
- Mathew R., White E. Why sick cells produce tumors // Autophagy. – 2007. – Vol.3. – P. 502–505.
- Matter B.E., Würgler F.E., Ulrich H. On the radioprotective effect of hydrogen sulfide in *Drosophila melanogaster* // International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine. – 1969. – Vol.15. – P. 557–562.
- Orgeron M.L., Stone K.P., Wanders D. et al. The impact of dietary methionine restriction on biomarkers of metabolic health // Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. – 2014. – Vol.121. – P. 351–376.
- Sen U.M., Vasek T.P., Hughest W.M. Cardioprotective role of sodium thiosulfate on chronic heart failure by modulating endogenous H₂S generation // Pharmacology. – 2008. – Vol.82. – P. 201–213.
- Surai P.F., Meze M. Mycotoxins and immunity: theoretical consideration and practical application // Praxis veterinaria. – 2005. – Vol.53 (1–2). – P. 71–88.
- Troen A.V., French E.E., Roberts J.F. et al. Lifespan modification by glucose and methionine in *Drosophila melanogaster* fed a chemically defined diet // Age (Dordr). – 2007. – Vol.29 (1). – P. 29–39.

Ulrich C.M. Genetic variability in folate-mediated one-carbon metabolism and cancer risk // In: S.-W.Choi, S.Friso (eds.) Nutrient-gene interactions in cancer. – Taylor and Francis, 2006. – 296p.

Wagner C. Biochemical role of folate in cellular metabolism // In: L.B.Bailey (ed.) Folate in health and disease. – New York: Marcel Dekker, 2000. – P. 23–42.

Представлено: О.В.Проценко / Presented by: O.V.Protsenko

Рецензент: Н.Є.Волкова / Reviewer: N.Ye.Volkova

Подано до редакції / Received: 09.04.2019

Про авторів: О.Г.Чака – Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, Київ, Україна, 01024, lenchaka@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-7425-2751>

Р.В.Янко – Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, Київ, Україна, 01024, biolag@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-0397-7517>

С.Л.Сафонов – Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, Київ, Україна, 01024, sersaffiz@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4785-0315>

І.І.Коломієць – Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, Київ, Україна, 01024, kolomiets.ira@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-2951-8666>

М.І.Левашов – Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, Київ, Україна, 01024, levashov@biph.kiev.ua, <https://orcid.org/0000-0003-1354-2047>

About the authors: O.G.Chaka – Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Bogomoletz Str., 4, Kyiv, Ukraine, 01024, lenchaka@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-7425-2751>

R.V.Yanko – Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Bogomoletz Str., 4, Kyiv, Ukraine, 01024, biolag@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-0397-7517>

S.L.Safonov – Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Bogomoletz Str., 4, Kyiv, Ukraine, 01024, sersaffiz@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4785-0315>

I.I.Kolomiets – Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Bogomoletz Str., 4, Kyiv, Ukraine, 01024, kolomiets.ira@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-2951-8666>

M.I.Levashov – Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Bogomoletz Str., 4, Kyiv, Ukraine, 01024, levashov@biph.kiev.ua, <https://orcid.org/0000-0003-1354-2047>

Об авторах: Е.Г.Чака – Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАН Украины, ул. Богомольца, 4, Киев, Украина, 01024, lenchaka@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-7425-2751>

Р.В.Янко – Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАН Украины, ул. Богомольца, 4, Киев, Украина, 01024, biolag@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-0397-7517>

С.Л.Сафонов – Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАН Украины, ул. Богомольца, 4, Киев, Украина, 01024, sersaffiz@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4785-0315>

И.И.Коломиец – Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАН Украины, ул. Богомольца, 4, Киев, Украина, 01024, kolomiets.ira@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-2951-8666>

М.И.Левашов – Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАН Украины, ул. Богомольца, 4, Киев, Украина, 01024, levashov@biph.kiev.ua, <https://orcid.org/0000-0003-1354-2047>

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

УДК: 581.132:577.14:577.15:633.111.1

Добова динаміка олігоцукрів, амілазна та інвертазна активність у ізогенних за генами *PPD* ліній пшениці в умовах різного фотоперіоду О.О.Авксентьева, О.І.Зубрич

В роботі представлені результати дослідження залежності накопичення і відтікання розчинних вуглеводів та активності амілаз і інвертази від стану генів *PPD* в листках ізоліній пшениці озимої м'якої *Triticum aestivum* L. при дії різної тривалості фотоперіоду. Як рослинний матеріал використовували моногеннодомінантні майже ізогенні по генах *PPD* (photoperiod) лінії озимої м'якої пшениці, створені в генфоні сорту Миронівська 808: *PPD-D1a*, *PPD-B1a*, *PPD-A1a*, та сорт, що є носієм тільки рецесивних алелів за трьома генами *ppd*. Експерименти проводили у польових та вегетаційних умовах, культивуючи дослідні рослини за контрастних фотоперіодичних умов: 16 годин – довгий день та 9 годин – короткий день. Визначали вміст, накопичення, відтікання олігоцукрів та швидкість цих процесів в листках рослин, проводячи фіксацію матеріалу протягом фотоперіодичного циклу – «ранок», «вечір» та «ранок наступного фотоперіодичного циклу». Активність основних ферментів вуглеводного обміну олігоцукрів – кислої інвертази та амілолітичного комплексу визначали в середині світлового періоду. За результатами проведених експериментів встановлено, що в умовах короткого фотоперіоду на початку і в кінці світлого періоду, а також в кінці темного періоду (у наступний фотоперіодичний цикл) вміст олігоцукрів у всіх досліджуваних ліній, незалежно від їх генотипу по генах *PPD*, був нижчим, ніж в ці періоди добового циклу в умовах довгого фотоперіоду. У всіх ізоліній і сорту короткий фотоперіод зумовлював зниження як сумарного накопичення вуглеводів за світловий період, так і їх відтікання протягом нічного періоду, порівняно до них в умовах довгого фотоперіоду. Швидкість відтікання у всіх ліній і сорту в умовах короткого фотоперіоду також була меншою, ніж в умовах довгого і не залежала від їх генотипу за генами *PPD*. Показано, що лінія *PPD-B1a*, яка найповільніше переходить до колосіння, характеризується максимальною швидкістю накопичення олігоцукрів, але мінімальною швидкістю їх відтікання. Водночас, у ліній *PPD-D1a* і *PPD-A1a*, які значно швидше переходять до колосіння, ніж лінія *PPD-B1a*, встановлені протилежні закономірності. Виявлено, що під впливом короткого фотоперіоду у всіх досліджуваних ліній і сорту, незалежно від генотипу за генами *PPD*, активність амілаз підвищувалася, порівняно до активності в умовах довгого фотоперіоду, активність кислої інвертази змінювалася по-різному. Найбільш високий рівень активності інвертази в умовах короткого фотоперіоду у ліній *PPD-B1a* та сорту співпадає з найбільш високою у них активністю амілаз та з більш інтенсивним нічним відтіканням олігоцукрів. Обговорюється положення, що гени *PPD* або певне поєднання їх стану (домінантний/рецесивний) можуть детермінувати темпи розвитку досліджених ліній опосередковано, зокрема, через участь у регуляції обміну олігоцукрів.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L.; фотоперіод; ізогенні лінії; гени *PPD*; розчинні вуглеводи; накопичення та відтікання олігоцукрів; інвертаза; амілаза.

Daily dynamics of oligosaccharides, amylase and invertase activity in wheat lines isogenic for *PPD* genes under conditions of different photoperiod O.O.Avksentieva, O.I.Zubrych

The paper presents the results of the study of the accumulation dependence and outflow of soluble carbohydrates and amylases and invertase activity on the state of *PPD* genes in leaves of isolines of winter wheat soft *Triticum aestivum* L. under the influence of different photoperiod durations. As plant material used monogenic dominant nearly isogenic by genes *PPD* (photoperiod) lines of winter wheat created in the genotype of Mironovskaya 808 variety: *PPD-D1a*, *PPD-B1a*, *PPD-A1a* and the variety, which is the carrier of exclusively recessive alleles of three genes *ppd*. Experiments were carried out in field and greenhouse conditions, the test plants were cultivating in contrasting photoperiodic conditions: 16 hours – a long day and 9:00 – a short day. The content, accumulation, outflow of oligosaccharides and the speed of these processes in plant leaves were determined by fixing the material during the photoperiodic cycle – “morning”, “evening”, and “morning of the next photoperiodic cycle”. The activity of the main enzymes of the carbohydrate metabolism of oligosaccharides – acid invertase and amylolytic complex was determined in the middle of the light period. According to the results of the experiments, it was found that under the conditions of a short photoperiod at the beginning and at the end of the light period, as well as at the end of the dark period (in the next photoperiodic cycle), the content of oligosaccharides in all the studied lines, regardless of their genotype in *PPD* genes, was lower than during these periods of the diurnal cycle under conditions of a long

photoperiod. A short photoperiod caused a decrease in both the total accumulation of carbohydrates during the light period and their outflow during the night period for all the isolines and the variety, in comparison to the conditions of a long photoperiod. The outflow rate for all lines and the variety under the conditions of a short photoperiod was also lower than under the conditions of a long photoperiod and did not depend on their genotype for the *PPD* genes. It was shown that the *PPD*-B1a line, which proceeds to heading more slowly, is characterized by the maximum rate of oligosaccharide accumulation, but the minimum outflow rate. At the same time, the *PPD*-D1a and *PPD*-A1a lines, which switch to heading much faster than the *PPD*-B1a line, show the opposite regularities. It was revealed that under the influence of a short photoperiod in all studied lines and cultivar, regardless to the genotype for the *PPD* genes, the activity of amylases increased, compared with activity under the conditions of a long photoperiod, the activity of acid invertase changed differently. The highest level of invertase activity under conditions of a short photoperiod in the *PPD*-B1a line and cultivar coincides with the highest amylase activity and a more intense night outflow of oligosaccharides. The position is discussed that *PPD* genes or a certain combination of their state (dominant/recessive) may determine the development rate of the studied lines indirectly, in particular, through participation in the regulation of oligosaccharides metabolism.

Key words: *Triticum aestivum* L.; photoperiod; isogenic lines; *PPD* genes; soluble carbohydrates; accumulation and outflow of oligosaccharides; invertase; amylase.

Суточная динамика олигосахаридов, амилазная и инвертазная активность у изогенных по генам *PPD* линий пшеницы в условиях разного фотопериода **О.А.Авксентьева, О.И.Зубрич**

В работе представлены результаты исследования зависимости накопления и оттока растворимых углеводов и активности амилаз и инвертазы от состояния генов *PPD* в листьях изолиний пшеницы озимой мягкой *Triticum aestivum* L. при воздействии разной продолжительности фотопериода. В качестве растительного материала использовали моногеннодоминантные почти изогенные по генам *PPD* (photoperiod) линии озимой мягкой пшеницы, созданные в генофоне сорта Мироновская 808: *PPD*-D1a, *PPD*-B1a, *PPD*-A1a, и сорт, который является носителем только рецессивных аллелей по трем генам *ppd*. Эксперименты проводили в полевых и вегетационных условиях, культивируя опытные растения в контрастных фотопериодических условиях: 16 часов – длинный день и 9 часов – короткий день. Определяли содержание, накопление, отток олигосахаридов и скорость этих процессов в листьях растений, проводя фиксацию материала в течение фотопериодического цикла – «утро», «вечер» и «утро следующего фотопериодического цикла». Активность основных ферментов углеводного обмена олигосахаридов – кислой инвертазы и амилазы определяли в середине светового периода. По результатам проведенных экспериментов установлено, что в условиях короткого фотопериода в начале и в конце светлого периода, а также в конце темного периода (в следующий фотопериодический цикл) содержание олигосахаридов у всех исследуемых линий, независимо от их генотипа по генам *PPD*, было ниже, чем в эти периоды суточного цикла в условиях длинного фотопериода. У всех изолиний и сорта короткий фотопериод обуславливал снижение как суммарного накопления углеводов за световой период, так и их оттока в течение ночного периода, по сравнению с ними в условиях длинного фотопериода. Скорость оттока у всех линий и сорта в условиях короткого фотопериода также была меньше, чем в условиях длинного, и не зависела от их генотипа по генам *PPD*. Показано, что линия *PPD*-B1a, которая медленнее переходит к колошению, характеризуется максимальной скоростью накопления олигосахаридов, но минимальной скоростью их оттока. В то же время, у линий *PPD*-D1a и *PPD*-A1a, которые значительно быстрее переходят к колошению, чем линия *PPD*-B1a, установлены противоположные закономерности. Выявлено, что под влиянием короткого фотопериода у всех исследуемых линий и сорта, независимо от генотипа по генам *PPD*, активность амилаз повышалась, по сравнению с активностью в условиях длинного фотопериода, активность кислой инвертазы изменялась по-разному. Наиболее высокий уровень активности инвертазы в условиях короткого фотопериода у линии *PPD*-B1a и сорта совпадает с наиболее высокой активностью амилазы и с более интенсивным ночным оттоком олигосахаридов. Обсуждается положение, что гены *PPD* или определенное сочетание их состояния (доминантный/рецессивный) могут детерминировать темпы развития исследованных линий опосредованно, в частности, через участие в регуляции обмена олигосахаридов.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; фотопериод; изогенные линии; гены *PPD*; растворимые углеводы; накопление и отток олигосахаридов; инвертаза; амилаза.

Вступ

Фотоперіод є одним з головних факторів зовнішнього середовища, який визначає тривалість вегетаційного періоду рослин і пов'язану з нею поширеність по зонах вирощування, продуктивність та якість врожаю (Жмурко, 2009). Тому дослідження фізіолого-біохімічних процесів, які змінюються під впливом різної тривалості дня, визначають темпи розвитку рослин має важливе прикладне значення.

Пшениця м'яка *Triticum aestivum* L. належить до однієї з найважливіших продовольчих культур у світі, в тому числі і в Україні. Вивчення закономірностей її розвитку необхідно для обґрунтування шляхів подальшого зростання продуктивності і стійкості до факторів середовища з метою достатнього забезпечення населення хлібом (Моргун и др., 2010; Стельмах, Файт, 2016; Gol et al., 2017). В даний час у пшениці ідентифіковані гени *PPD*, які детермінують її фотоперіодичну чутливість, тобто зміну термінів переходу до колосіння в умовах різної тривалості фотоперіоду (Сократ et al., 2007). Відомі три локуси цих генів – *PPD D1*, *PPD B1* і *PPD A1*, які в залежності від стану домінують/рецесивний визначають терміни переходу пшениці до колосіння (Стельмах и др., 2000; Kiss et al., 2017). Створено ізогенні за цими генами лінії, які розрізняються за ступенем чутливості до фотоперіоду (Kiseleva et al., 2017), проводиться вивчення механізмів експресії цих генів (Kitagava et al., 2012; Peter-Gianmarco et al., 2018), досліджуються їх ефекти на господарсько цінні ознаки пшениці (Жмурко та ін., 2017; Файт, Федорова, 2007).

Вуглеводи відіграють центральну роль у метаболізмі рослинного організму на рівні клітини та цілого організму. Ці сполуки є продуктами фотосинтезу та, насамперед, виконують енергетичну та пластичну (метаболічну) функції у рослині (Хелд, 2011). Взаємоперетворення фотосинтетичного крохмалю, сахарози та гексоз в листках є найважливішим метаболічним циклом, який регулює розподіл асимілятів в рослині на процеси росту, розвитку та формування продуктивності (Eveland, Jackson, 2011). Відомо, що розчинні вуглеводи (цукри) беруть участь у реакціях на ряд стресорів (Rosa et al., 2009) та діють як сигнальні молекули, що активізують специфічні шляхи трансдукції сигналу, в результаті чого відбуваються важливі модифікації експресії генів (Baier et al., 2004; Cho et al., 2006). Цукровий сигналінг може також перетинатися з іншими сигнальними шляхами (Rolland et al., 2002). Сахароза – один із головних транспортних метаболітів рослинного організму, який виконує енергетичну, пластичну, сигнальну та інші функції (Koch, 2004). Саме сахароза є переважною транспортною формою цукрів у флоємі, проте вона не може безпосередньо бути використана для процесів обміну (Хелд, 2011).

Серед ферментів вуглеводного обміну вагома роль у взаємоперетвореннях цукрів та крохмалю належить інвертазі (основний фермент розщеплення сахарози) та амілазам – каталізаторам розщеплення крохмалю. Інвертаза (КФ 3.2.1.26) – це гідролаза, яка розщеплює молекулу сахарози на дві гексози – глюкозу і фруктозу (Sturm, 1999). У рослині виявлено три форми інвертази, що відрізняються за своїми біохімічними властивостями і місцем локалізації – вакуолярна, цитоплазматична і апопластна. Показано, що інвертази беруть участь в створенні концентраційного градієнту сахарози в місці розвантаження флоєми, основна роль належить апопластній (кислій) інвертазі (Галибіна и др., 2015), саме співвідношення активностей різних форм інвертази визначає переважне включення сахарози в ті чи інші метаболічні шляхи. За сучасними даними амілази також локалізовані у різних компартментах рослинної клітини – пластидах, цитозолі та апопласті (Stanley et al., 2005; Orzechowski, 2008) та різняться за активністю протягом світового дня, що пов'язано з циркадною ритмікою (Graf, Smith, 2011).

Відомо, що розчинні вуглеводи грають істотну роль у зміні темпів розвитку довгоденних і короткоденних рослин в умовах різної тривалості фотоперіоду (Жмурко та ін., 2017). Посилене накопичення олігоцукрів в листках і їх відтік до меристеми у різних фотоперіодичних груп рослин в умовах сприятливого для розвитку фотоперіоду визначає прискорений перехід рослин до цвітіння. Це дало підставу припустити, що і у ізогенних по генах *PPD* ліній пшениці накопичення і відтік вуглеводів також може визначати швидкість переходу їх до колосіння в різних фотоперіодичних умовах. Але вивчення зв'язку обміну вуглеводів з темпами розвитку цих ліній при різній тривалості дня не проводилося. Оскільки ізогенні лінії розрізняються за станом локусів генів *PPD* (домінують/рецесивний), що визначає ступінь їх чутливості до тривалості дня, то, вірогідно, вони можуть відрізнятися і за характером фізіолого-біохімічних процесів. Ймовірно, що різний стан локусів в різній мірі може впливати на ці процеси, що проявляється, в кінцевому рахунку, в різній швидкості зміни темпів розвитку рослин. Однак ці питання до теперішнього часу не вивчені. Викладене зумовило доцільність проведення наших досліджень.

Метою роботи було з'ясування можливої залежності накопичення і відтікання розчинних вуглеводів та активності амілаз і інвертази від стану генів *PPD* у ізолінії пшениці озимої м'якої при дії різної тривалості фотоперіоду.

Матеріали та методи

Рослинний матеріал. Дослідження проводили на моделі ізогенних моногеннодомінантних ліній (NILs) за генами фотоперіодичної чутливості (*PPD*) пшениці м'якої – *Triticum aestivum* L., створених у генофоні озимого сорту Миронівська 808. Ізолінії у генотипі мають домінуючі алелі – *PPD-D1a*, *PPD-B1a*, *PPD-A1a*, а сорт є носієм тільки рецесивних алелів за трьома генами *ppd*.

Дизайн дослідження. Оскільки за літературними даними ефекти генів *PPD* повною мірою проявляються тільки після проходження рослинами пшениці озимої м'якої періоду яровизації (верналізації) (Стальмах и др., 2000), ми проводили яровизацію дослідних рослин за природних умов. Насіння ізоліній висівали восени (вересень) в польових умовах на експериментальній ділянці кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів ХНУ імені В.Н.Каразіна. Після сходів рослини зростали і розвивалися до фенофази кущіння та проходили яровизацію в природних умовах до настання зимового періоду. Потім дослідні рослини були перенесені в факторостатну камеру кафедри, адаптовану до умов вегетаційного дослідження протягом двох тижнів, та культивувалися за умов 20–22/14–16°C (день/ніч), інтенсивність освітленості – 20 клк, фотоперіод: контрольні рослини – 16 годин, дослідні рослини – 9 годин. Фотоперіодичну індукцію проводили протягом 20 діб. В досліді вивчали денне накопичення та нічне відтікання олігоцукрів в листках NILs та в динаміці активності ферментів вуглеводного обміну – кислої інвертази (β -D-фруктофуранозид-фруктогідролаза, К.Ф. 3.2.1.) та сумарну активність амілолітичного комплексу – α -амілаза (1,4- α -D-глюкан-4-глюканогідролаза К.Ф. 3.2.1.1.), β -амілаза (1,4- α -D-глюкан-4-мальтогідролаза К.Ф. 3.2.1.2), глюкоамілаза (1,4- α -D-глюкан-4-глюканглюкогідролаза. К.Ф. 3.2.1.3).

Фіксація матеріалу. Для визначення добової динаміки вмісту олігоцукрів використовували другі від верхівки пагону повністю розвинені листки, відібрані від 15–20 рослин кожного варіанту досліді. Листя фіксували водяною парою та висушували у термостаті до повітряно-сухого стану.

Схема відбору проб була наступною: 16-годинний фотоперіод – 6⁰⁰ «ранок», 22⁰⁰ «вечір», 6⁰⁰ «ранок наступного фотоперіодичного циклу»; 9-годинний фотоперіод – 9⁰⁰ «ранок», 18⁰⁰ «вечір», 9⁰⁰ «ранок наступного фотоперіодичного циклу». За вмістом олігоцукрів протягом фотоперіодичного циклу розраховували: денне накопичення цукрів = «вечір»–«ранок»; нічне відтікання = «ранок наступного циклу»–«вечір», крім того, розраховували швидкість накопичення і відтікання олігоцукрів (мг/год). Сумарну активність амілаз та кислої інвертази визначали також у других від верхівки пагону листках, які відбирали від 15–20 рослин протягом фотоперіодичної індукції через кожні 5 діб. Проби листя для аналізів активності ферментів відбирали в денні години (12–13 годин) одночасно на короткому і довгому фотоперіоді.

Вміст водорозчинних вуглеводів визначали за методом Швецова і Лук'яненко (Ермаков и др., 1987). Метод заснований на відновленні ферриціаніду калію редуруючими цукрами в лужному середовищі до фероціаніду. Останній утворює з $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ в присутності желатину стійке синє забарвлення. Його інтенсивність вимірювали на фотоелектроколориметрі КФК-2МП при довжині хвилі 610 нм. Цукри екстрагували водою при 80°C протягом 30 хвилин. В екстракті визначали моноцукри. Потім аліквотну частину екстракту піддавали слабкому гідролізу в розчині 1 н HCl при 70°C протягом 5 хвилин. При цьому всі невідновні цукри розщеплювалися і переходили в редуруючу форму. У гідролізованому екстракті визначали суму водорозчинних цукрів (моноцукри + олігоцукри). За різницею у вмісті суми та моноцукрів розраховували вміст олігоцукрів, що переважно представлені сахарозою. Вміст цукрів розраховували за калібрувальним графіком, побудованим з використанням глюкози, та виражали в мг/г сухої маси листя.

Визначення амілазної активності. Метод полягає у визначенні кількості розчинного крохмалю, що залишився в інкубаційному середовищі після гідролізу його амілазами. Ферментну витяжку отримували шляхом гомогенізації 1 г листя в порцеляновій ступці з 10 мл 0,5 н CaCl_2 . Гомогенат центрифугували 10 хв при 2000 г. Супернатант використовували як ферментний препарат. Інкубаційна суміш включала: 3 мл 0,1 М ацетатного буфера (рН 5,0), 1 мл 0,5 М CaCl_2 , 1 мл ферментного препарату, 1 мл 3%-ного свіжоприготовленого розчинного крохмалю. Інкубацію проводили протягом 30 хвилин при 37°C. По її завершенні фермент інактивували, додаючи в інкубаційну суміш 0,5 мл 1 н HCl . Для визначення вмісту не гідролізованого амілазами протягом

інкубації крохмалю 1 мл інкубаційної суміші в мірних колбах на 50 мл змішували з 0,5 мл 1 н HCl, додавали 0,1 мл йодного розчину (0,3% розчин I₂ в 3%-ому розчині KI), доводили дистильованою водою до мітки. Розчин набував синього забарвлення, оптична щільність якого пропорційна вмісту крохмалю. Її визначали на фотоелектроколориметрі КФК-2МП при довжині хвилі 610 нм (Ермаков и др., 1987). Активність ферменту розраховували за кількістю гідролізованого крохмалю протягом інкубації і виражали в мг гідролізованого крохмалю на 1 г сирової маси за годину. Вміст крохмалю розраховували за калібрувальним графіком.

Визначення активності інвертази. Метод заснований на визначенні кількості моноцукрів, які утворюються в результаті гідролізу інвертазою сахарози. За різницею у вмісті моноцукрів в контрольній пробі, в якій фермент інактивований шляхом кип'ятіння, і в пробі після інкубації визначали активність інвертази. Ферментну витяжку кислої інвертази отримували шляхом гомогенізації 1 г сирого листя в 10 мл 100 мМ ацетатного буферу, рН 4,7 в порцеляновій ступці. Гомогенат центрифугували при 2000 г протягом 10 хв, супернатант використовували як ферментний препарат. Інкубаційна суміш включала 1,5 мл ферментного препарату і 0,2 мл 20 мМ розчину сахарози в 100 мМ ацетатному буфері, рН 4,7. Суміш інкубували протягом 30 хв при 30°C. Реакцію зупиняли шляхом занурення пробірок з інкубаційною сумішшю в киплячу водяну баню на 3 хв. Контрольна проба містила прокип'ячений ферментний препарат і 0,2 мл 20 мМ розчину сахарози в 100 мМ ацетатному буфері, рН 4,7. Активність ферменту виражали в мг гідролізованої сахарози на 1 г сирих листків на годину. В інкубаційному середовищі і контрольній пробі визначали вміст моноцукрів за методом Швецова і Лук'яненко, як описано вище (Ермаков и др., 1987).

Всі біохімічні аналізи виконані в триразовій аналітичній повторності, проведено статистичний аналіз. У таблицях і на рисунках наведені середні значення і помилка середнього. Для встановлення суттєвості відмінностей між варіантами дослідів використовували метод парного порівняння варіант (критерій Стьюдента t при $p \leq 0,5$) (Атраментова, Утевская, 2008).

Результати та обговорення

Ми визначали вміст олігоцукрів, виходячи з того положення, що ця група вуглеводів в листках злаків представлена переважно сахарозою, яка є основним неструктурним вуглеводом, що утворюється в процесі фотосинтезу, а також основною транспортною формою, за рахунок якої здійснюється відтік (Koch, 2004).

Результати визначення вмісту олігоцукрів в листі досліджених ізогенних ліній в різні години фотоперіодичного циклу показали, що в умовах короткого фотоперіоду на початку і в кінці світлого періоду, а також в кінці темного періоду (у наступний фотоперіодичний цикл) вміст олігоцукрів у всіх досліджуваних ліній, незалежно від їх генотипу по генах *PPD*, був нижчим, ніж в ці періоди добового циклу в умовах довгого фотоперіоду (табл. 1).

Отримані нами результати збігаються з літературними даними, одержаними у дослідях з іншими видами довгоденних рослин (ріпак, горох, гірчиця біла), які не були ізогенними лініями по генах фотоперіодичної чутливості (Жмурко, 2009). Отже, ізогенні по генах фотоперіодичної чутливості лінії пшениці за характером зміни вмісту олігоцукрів в листі під впливом короткого фотоперіоду є довгоденними рослинами. Оскільки досліджені лінії розрізняються по генах *PPD*, в результаті чого вони в різному ступені реагують на скорочення дня, то для з'ясування можливої детермінації цими генами інтенсивності утворення олігоцукрів ми проаналізували відмінності між лініями за цією ознакою. Результати аналізу показали, що в умовах довгого фотоперіоду за вмістом олігоцукрів на початку і в кінці світлого періоду та в кінці темного періоду («ранок» наступного фотоперіодичного циклу) досліджені лінії практично не відрізнялись. Винятком була ізолінія *PPD-A1a*, в листках якої вміст олігоцукрів на довгому фотоперіоді ранком був нижчим, ніж у інших ліній та сорту. Зазначимо також, що у листках сорту, у якого всі гени *ppd* рецесивні, вміст олігоцукрів у всі години визначення був, хоч і незначно, але вищим, ніж у ліній, та в кінці світлого періоду таким же, як у лінії *PPD-D1a* (табл. 1).

В умовах короткого фотоперіоду вміст олігоцукрів у листках лінії *PPD-D1a* і сорту на початку світлого періоду був однаковим і вищим, ніж у ліній *PPD-B1a* і *PPD-A1a*. В кінці світлого періоду досліджені лінії і сорт не відрізнялись за вмістом олігоцукрів у листках. На початку нового фотоперіодичного циклу вміст цих вуглеводів у ліній *PPD-B1a*, *PPD-A1a* і сорту був однаковим та істотно нижчим, ніж у лінії *PPD-D1a* (табл. 1). Отже, чіткого зв'язку між вмістом олігоцукрів у листках і станом генів *PPD* у досліджених ліній та сорту у різні періоди як довгоденного, так і

короткоденного фотоперіодичного циклу виявити не вдалося. Можна відзначити лише незначний прояв різниці за вмістом цих вуглеводів між сортом і лініями в умовах довгого фотоперіоду у всі години визначення.

Таблиця 1.

Добова динаміка вмісту олігоцукрів в листках ізогенних по генах *PPD* ліній пшениці сорту Миронівська 808 за контрастних фотоперіодичних умов

Генотип ізоляції	Вміст олігоцукрів, мг/г сухої маси		
	16-год. фотоперіод		
Час відбору проб	6 ⁰⁰	22 ⁰⁰	6 ⁰⁰
PPD D1a	33,3 ± 0,9	80,7 ± 1,1	30,4 ± 0,8
PPD B1a	33,4 ± 1,3	75,3 ± 1,3	29,4 ± 1,0
PPD A1a	22,6 ± 0,9	78,8 ± 2,1	29,6 ± 1,1
сорт*	34,8 ± 1,1	80,7 ± 1,9	32,6 ± 0,8
	9-год. фотоперіод**		
Час відбору проб	9 ⁰⁰	18 ⁰⁰	9 ⁰⁰
PPD D1a	24,1 ± 1,3	49,8 ± 1,6	24,1 ± 1,1
PPD B1a	18,4 ± 1,1	49,2 ± 1,4	17,8 ± 0,9
PPD A1a	18,6 ± 0,9	45,3 ± 1,0	18,9 ± 1,0
сорт*	24,4 ± 0,7	50,2 ± 1,1	17,7 ± 0,8

Примітки: * всі гени *ppd* у рецесивному стані; ** різниця за вмістом на короткому фотоперіоді і на довгому фотоперіоді істотна при $p \leq 0,05$.

Вміст вуглеводів чи інших метаболітів, визначений у певні години фотоперіодичного циклу, хоча б і у добовій динаміці, не дозволяє судити про накопичення їх у листку та відтікання з нього до атрагуючих центрів, зокрема апікальних меристем, а саме ці процеси, як показано раніше (Жмурко та ін., 2017), є провідними у зміні темпів розвитку рослин за різної тривалості фотоперіоду. Відповідно до цього положення ми розраховували денне накопичення і нічне відтікання олігоцукрів та швидкість цих процесів у досліджених ізоляціях і сорту. Одержані результати показали (табл. 2), що у всіх ізоляціях, незалежно від їх генотипу за генами *PPD*, і сорту короткий фотоперіод зумовлював зниження як сумарного накопичення вуглеводів за світловий період, так і їх відтікання протягом нічного періоду, порівняно до них в умовах довгого фотоперіоду. Швидкість відтікання у всіх ліній і сорту в умовах короткого фотоперіоду також була меншою, ніж в умовах довгого і не залежала від їх генотипу за генами *PPD* (табл. 2). Хоча характер накопичення і відтікання олігоцукрів під впливом короткого фотоперіоду у всіх ліній змінювався однаково, вони відрізнялися за інтенсивністю цих процесів як в умовах довгого, так і в умовах короткого фотоперіоду, залежно від генотипу по генах *PPD*. Так, в умовах довгого фотоперіоду олігоцукрів найбільше накопичувалось у лінії PPD-B1a, дещо менше їх накопичувалось у лінії PPD-A1a та значно менше у лінії PPD-D1a і сорту. Відповідно цьому була і швидкість накопичення вуглеводів в умовах довгого фотоперіоду (табл. 2). Нічне відтікання вуглеводів на довгому дні найнижчим було у лінії PPD-B1a, незначно більшим у лінії PPD-A1a і сорту, а найбільшим у лінії PPD-D1a.

Зіставлення характеру накопичення і відтікання вуглеводів у досліджених ліній в умовах довгого дня з темпами їх розвитку за цих фотоперіодичних умов показало, що у лінії PPD-B1a, яка найповільніше переходить до колосіння, це відбувається за найшвидшого накопичення олігоцукрів, але за найнижчого їх відтікання. Водночас, у лінії PPD-D1a і PPD-A1a, які значно швидше переходять до колосіння, ніж лінія PPD-B1a, швидкість накопичення олігоцукрів нижча при вищій швидкості їх відтікання. Це дає підставу вважати, по-перше, що саме швидкість відтікання олігоцукрів з листка до меристем є вагомим чинником у регуляції темпів розвитку досліджених ліній. По-друге, вірогідно, що гени *PPD*, залежно від поєднання їх стану у генотипі (домінантний/рецесивний), можуть бути задіяними у регуляції темпів розвитку, зокрема через їх участь у процесах накопичення і відтікання вуглеводів. В умовах короткого фотоперіоду, як і в умовах довгого, найбільше накопичується вуглеводів у лінії PPD-B1a, і цей процес у неї відбувається найшвидше, порівняно з ним у інших ліній і сорту (табл. 2). Щодо відтікання, то воно,

як і накопичення, у лінії PPD-B1a відбувається значно інтенсивніше, ніж у лінії PPD-D1a і PPD-A1a (табл. 2). У сорту, як і у лінії PPD-B1a, нічне відтікання олігоцукрів інтенсивніше, ніж у всіх досліджених ліній (табл. 2).

Таблиця 2.
Добова динаміка накопичення/відтікання олігоцукрів в листках ізогенних по генах PPD ліній пшениці сорту Миронівська 808 за контрастних фотоперіодичних умов

Генотип ізоляції	Денне накопичення		Нічне відтікання	
	вміст	швидкість, мг/год	вміст	швидкість, мг/год
16-год. фотоперіод				
PPD D1a	47,3	2,96	50,3	6,29
PPD B1a	61,4**	3,83**	45,9**	5,74**
PPD A1a	56,2	3,51**	49,2	6,14
сорт*	46,0	2,88	48,2	6,03
9-год фотоперіод				
PPD D1a	25,7	2,85	25,7	1,71
PPD B1a	30,9**	3,43**	31,4**	2,09**
PPD A1a	26,7	2,97	26,4	1,76
сорт*	25,8	2,86	32,5**	2,16**

Примітки: * всі гени *ppd* у рецесивному стані; ** різниця у порівнянні з іншими генотипами істотна при $p \leq 0,05$.

Таким чином, в умовах короткого фотоперіоду, як і в умовах довгого фотоперіоду, у досліджених ліній з різною інтенсивністю відбуваються процеси накопичення і відтікання вуглеводів. Це дає підставу припустити, що ці процеси детерміновані генами *PPD*.

Це припущення базується на наступних міркуваннях.

По-перше, лінії різняться за генотипом по генах *PPD* при однаковому генофоні сорту, у якому вони створені. По-друге, всі лінії в однаковій мірі піддавались дії короткого фотоперіоду. По-третє, при цьому проявлялась чітка різниця за накопиченням і відтіканням вуглеводів між лініями. Отже, саме гени *PPD* (їх стан домінантний/рецесивний) є тими внутрішніми факторами, які визначають цю різницю. Зіставлення одержаних даних про накопичення і відтікання вуглеводів у досліджуваних ліній з темпами їх розвитку в умовах короткого фотоперіоду (Avksentieva, Zubrych, 2019) показало, що у лінії PPD-B1a, яка розвивається найповільніше, накопичення і відтікання вуглеводів у листках відбувається значно інтенсивніше, ніж у ліній PPD-D1a і PPD-A1a, які розвиваються швидше. Тобто просте зіставлення цих процесів вказує на те, що між темпами розвитку ліній та накопиченням і відтіканням вуглеводів зв'язок відсутній.

Так, у раніше проведених дослідках нами показано, що лінія PPD-B1a, яка розвивається повільніше за лінії PPD-D1a і PPD-A1a, накопичує більшу вегетативну масу і утворює більшу кількість пагонів кушіння (Avksentieva, Zubrych, 2019) в онтогенезі, хоча вона розвивається повільніше. Подібні дані одержані у дослідках з ізоляціями по генах *VRN*, які показали, що ростові процеси у лінії з найбільш повільними темпами розвитку *VRN-B1a*, накопичення біомаси протягом онтогенезу відбуваються значно інтенсивніше, ніж у ліній *VRN-A1a* і *VRN-D1a*, які розвиваються прискорено (Zhmurko et al., 2013). Виходячи з викладеного, ми припускаємо, що більше накопичення і відтікання олігоцукрів ізоляції PPD-B1a пов'язане з тим, що вони використовуються переважно для ростових процесів, у той час як у ліній PPD-D1a і PPD-A1a, навпаки, на забезпечення протікання морфогенетичних процесів. Це дає підставу вважати, що гени *PPD* задіяні у регуляції темпів розвитку пшениці озимої м'якої опосередковано, через детермінацію накопичення і відтікання вуглеводів та, можливо, регуляцію їх використання на вегетативний ріст та/або морфогенез.

Активність амілаз і інвертази. Відомо, що в числі основних ферментів взаємоперетворення крохмалю і сахарози важлива роль належить амілазі та інвертазі. Під впливом амілолітичного комплексу асиміляційний крохмаль гідролізується до мономерів, що є необхідною умовою залучення в обмін цього запасного неструктурного полісахариду. Цей процес у рослин протікає переважно в нічний період добового циклу, а також в денні години (Graf, Smith, 2011). Інвертаза,

розщеплюючи сахарозу до глюкози і фруктози, грає важливу роль в її залученні в обмін (метаболічні процеси), оскільки нерозщеплена молекула не здатна брати участь у вуглеводному обміні, а може виконувати тільки транспортну функцію (Хелд, 2011). Тому вивчення активності амілази і інвертази має важливе значення для розуміння закономірностей зв'язку вуглеводного обміну з темпами розвитку рослин.

Не виключено, що активність цих ферментів може знаходитися під генетичним контролем генів *PPD*, які, як показали наші результати, проявляють ефекти на вміст олігоцукрів в листі ізогенних по ним ліній пшениці. У зв'язку з викладеним нами проведено визначення активності амілаз та інвертази в листі ізогенних по генах *PPD* ліній пшениці в умовах різної тривалості фотоперіоду.

Результати визначення активності амілаз показали, що в умовах довгого фотоперіоду протягом проведення досліду активність амілаз у досліджуваних ліній і сорту змінювалася по-різному (рис. 1). Так, на початку досліду вона у лінії *PPD-D1a*, *PPD-B1a* і сорту була однаковою, а у лінії *PPD-A1a* істотно нижчою. Через 10 діб у лінії *PPD-D1a* знижувалась, у лінії *PPD-B1a* і сорту зростала, а у лінії *PPD-A1a* не змінювалась. На 15-ту добу досліду у лінії *PPD-D1a*, *PPD-B1a* і сорту знижувалась, в той час як у лінії *PPD-A1a*, навпаки, зростала. Через 20 діб досліду амілазна активність у лінії *PPD-D1a* і *PPD-B1a* незначно підвищувалась, у лінії *PPD-A1a* не змінювалась, а у сорту незначно знижувалась. На нашу думку, такі виявлені зміни у активності амілаз досліджуваних ліній можуть бути пов'язані з онтогенетичними особливостями перебігу ензиматичних процесів.

Закономірних відмінностей за активністю амілаз між лініями в умовах довгого фотоперіоду виявити не вдалось. Відзначимо лише, що найнижчою активністю амілаз протягом досліджуваного періоду характеризувалась лінія *PPD-A1a*, а найвищою – лінія *PPD-D1a* і сорт. Це дає підставу для припущення можливої участі генів *PPD* у регуляції амілазної активності.

В умовах короткого фотоперіоду (рис. 1) протягом 20-добової фотоперіодичної індукції відбувалися зміни активності амілаз у досліджуваних ліній. Вони проявлялися у зростанні чи/або зниженні активності порівняно до активності на початку досліду. Вірогідно, що це могло бути пов'язано з онтогенетичними змінами ензиматичних процесів і, зокрема, амілазної активності.

Разом з тим, під впливом короткого фотоперіоду у всіх досліджуваних ліній і сорту, незалежно від генотипу за генами *PPD*, активність амілаз значно підвищувалася, порівняно до активності в умовах довгого фотоперіоду (рис. 1). Тільки у лінії *PPD-D1a* на 10-й та 20-й день дії коротким фотоперіодом – активність амілаз була такою ж, як і на довгому фотоперіоді.

Аналіз різниці за активністю ферментів між досліджуваними лініями в умовах короткого фотоперіоду показав, що у лінії *PPD-B1a* на 10, 15, 20 день дії коротким фотоперіодом вона була більш високою, ніж у лінії *PPD-D1a* і *PPD-A1a*. Тільки на 10-ту добу впливу коротким фотоперіодом активність амілаз у лінії *PPD-B1a* була практично такою ж, як і у лінії *PPD-A1a* (рис. 1). Амілазна активність у сорту в умовах короткого фотоперіоду на 5, 10 і 20-й день його дії була вищою, ніж у всіх ліній. Тільки на 15-й день вона ставала практично такою ж, як у лінії *PPD-A1a*, і незначно нижчою, ніж у лінії *PPD-B1a* (рис. 1).

Одержані результати з активності амілаз у ліній та сорту в умовах короткого фотоперіоду дають підставу припустити, що вона може бути пов'язана з генотипом їх за генами *PPD*, оскільки вони різнилися за цим показником. Це припущення до певної міри підтверджується тим, що у лінії *PPD-B1a* і сорту в умовах короткого фотоперіоду інтенсивніше відбувається нічне відтікання цукрів з листків, ніж у лінії *PPD-D1a* і *PPD-A1a* (див. табл. 2). Вірогідно, що підвищена амілазна активність у лінії *PPD-B1a* і сорту є одним з вагомих чинників інтенсивного відтоку олігоцукрів.

Результати вивчення активності інвертази показали, що в умовах довгого фотоперіоду на початку досліду активність ферменту була найвищою у лінії *PPD-B1a* і сорту. У наступний термін визначення вона у всіх ліній зростала, а у сорту практично не змінювалася. Надалі активність ферменту знижувалась у лінії *PPD-D1a*, зростала у лінії *PPD-B1a* і майже не змінювалася у лінії *PPD-A1a* та сорту. У останній термін визначення у всіх ліній і сорту активність інвертази знижувалася порівняно до активності у попередній термін (рис. 2). Вірогідно, що змінення активності інвертази, як і активності амілаз, протягом проведення досліду може бути пов'язане з онтогенетичними змінами у ензиматичних процесах.

Отже, чіткої різниці між лініями за активністю інвертази в умовах довгого фотоперіоду протягом досліду не проявлялося. Тим не менше, була виявлена тенденція до підвищення активності ферменту у лінії *PPD-B1a* та сорту порівняно до його активності у лінії *PPD-D1a* і *PPD-*

A1a. Це дає підставу для припущення, що активність інвертази може бути пов'язана з генотипом ліній і сорту за генами *PPD*.

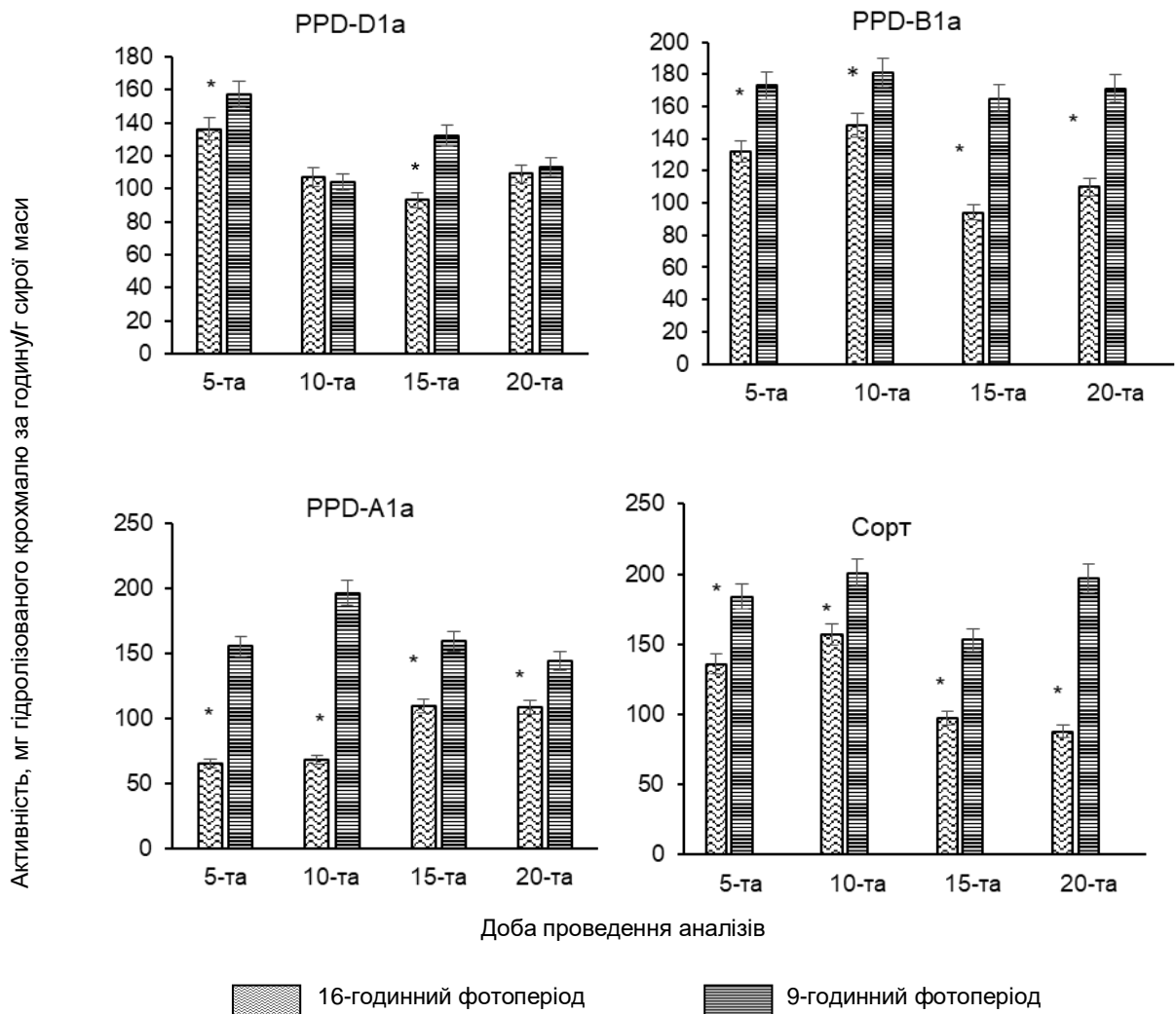


Рис. 1. Активність амілаз в листках ізогенних по генах *PPD* ліній пшениці сорту Миронівська 808 за контрастних фотоперіодичних умов
 Примітка: * різниця істотна при $p \leq 0,05$.

В умовах короткого фотоперіоду у досліджених ліній і сорту протягом його дії на рослини відбувалися зміни у активності ферменту, що проявлялося у її зростанні або зниженні відносно рівня на початку досліду. Вірогідно, що це, як і в умовах довгого фотоперіоду, може бути пов'язано з онтогенетичними змінами в ензиматичних процесах. Під впливом короткого фотоперіоду активність інвертази у перший термін визначення – через 5 днів його дії – у ліній PPD-D1a, PPD-B1a і сорту знижувалася, а у ліній PPD-A1a, навпаки, зростала порівняно до активності в умовах довгого фотоперіоду (рис. 2). Через десять діб впливу коротким фотоперіодом активність інвертази не зростала тільки у ліній PPD-D1a порівняно до активності на довгому фотоперіоді. У наступний термін визначення активність ферменту на короткому фотоперіоді ставала вищою, ніж на довгому у ліній PPD-D1a і PPD-B1a. В той же час у ліній PPD-A1a вона не змінювалася, а у сорту дещо знижувалася порівняно до активності на довгому фотоперіоді (рис. 2). У останній термін визначення – 20 діб дії коротким фотоперіодом – активність інвертази у ліній PPD-D1a була такою ж, як і на довгому фотоперіоді, а у інших ліній та сорту вона була вищою, ніж в умовах довгого фотоперіоду (рис. 2). Аналіз відмінностей за активністю ферменту між лініями та сортом в умовах короткого фотоперіоду показав наступне. По-перше, його дія спричинювала зростання активності

інвертази у лінії PPD-B1a, PPD-A1a і сорту у більшості термінів визначення. По-друге, найнижчою активністю ферменту серед ліній вирізнялася лінія PPD-D1a, за виключенням активності в одному випадку через 15 коротких днів. По-третє, найвищою активністю інвертази серед усіх ліній вирізнялася лінія PPD-B1a. Як і у цієї лінії, у сорту активність ферменту, за одним виключенням – через 15 коротких днів, – була вищою, ніж у всіх ліній.

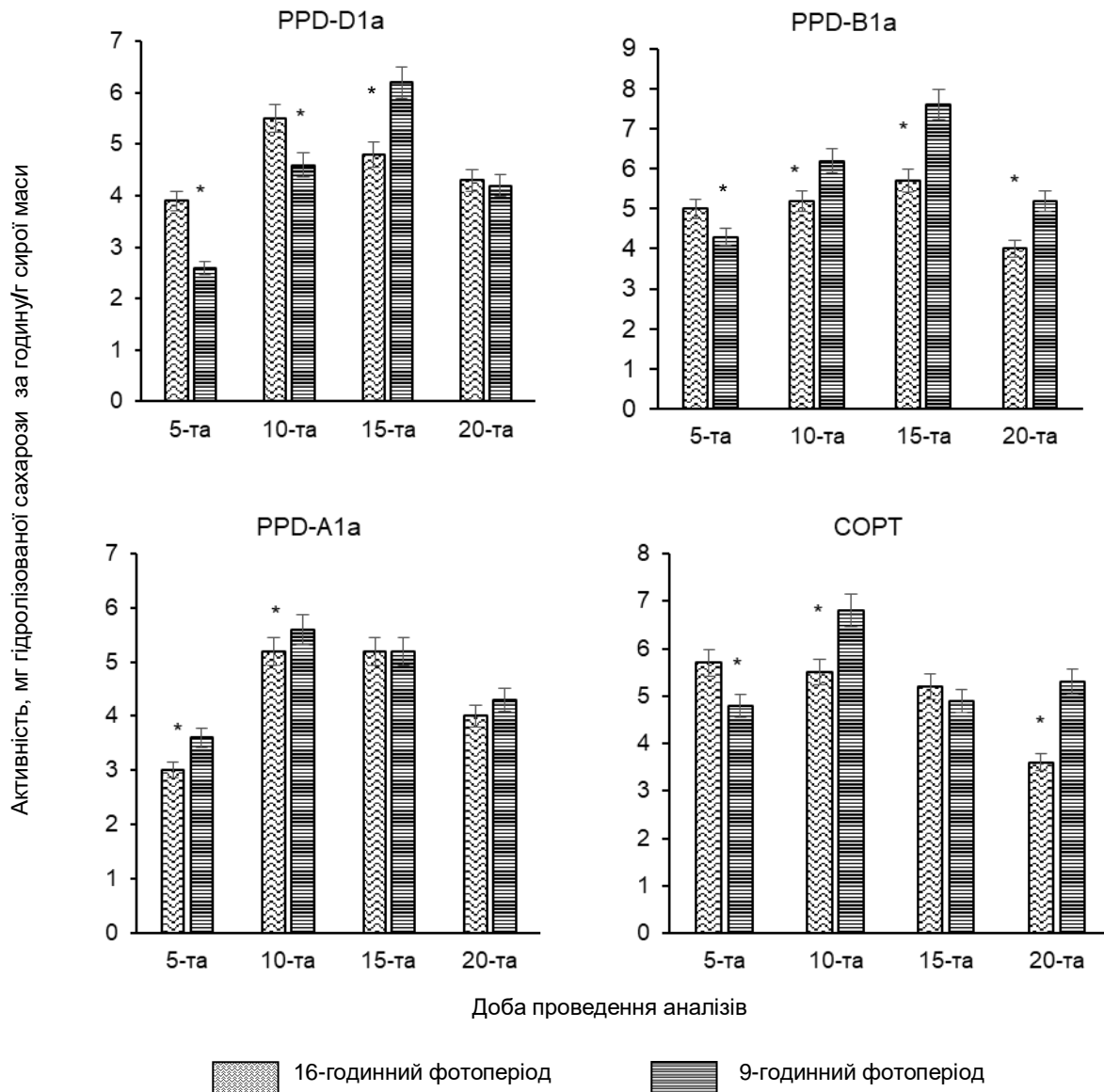


Рис. 2. Активність інвертази в листках ізогенних по генах *PPD* ліній пшениці сорту Миронівська 808 за контрастних фотоперіодичних умов

Примітка: * різниця істотна при $p \leq 0,05$.

Отже, різниця між лініями за активністю інвертази в умовах короткого фотоперіоду може бути пов'язана з їх генотипом за генами *PPD*. Зазначимо також, що найбільш високий рівень активності інвертази в умовах короткого фотоперіоду у лінії PPD-B1a та сорту співпадає з найбільш високою у них активністю амілази за цих умов (рис. 1). Крім того, підвищена активність інвертази у лінії PPD-B1a та сорту співпадає з більш інтенсивним нічним відтіканням цукрів (табл. 2). Це може також свідчити про участь інвертази у регуляції процесу відтікання цукрів у досліджених ліній та сорту.

Узагальнення

Встановлені в наших досліджах закономірності накопичення і відтікання олігоцукрів, як основного пластичного та енергетичного матеріалу для забезпечення протікання процесів росту і розвитку рослин, а також активності амілаз та інвертази, як вагомих факторів регуляції цих процесів у досліджуваних ізогенних за генами *PPD* ліній і сорту, у генофоні якого вони створені, дають підставу для наступних припущень. У ліній, які піддавалися дії одного і того ж зовнішнього фактору – довгого та короткого фотоперіоду – з різною інтенсивністю відбувалися процеси накопичення і відтікання олігоцукрів, а також по-різному проявлялася амілазна та інвертазна активність. Всі лінії створені у генофоні сорту Миронівська 808, який у них однаковий, але різняться вони тільки за станом генів *PPD* (домінантний/рецесивний), що зумовлює різні темпи їх розвитку. Отже, гени *PPD* чи/або певне поєднання їх стану (домінантний/рецесивний) можуть детермінувати темпи розвитку досліджених ліній опосередковано, зокрема, через участь у регуляції обміну вуглеводів.

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Дослідження молекулярно-генетичних та фізіолого-біохімічних механізмів яровизаційного та фотоперіодичного контролю онтогенезу рослин in vivo та in vitro», № держреєстрації 0118U 002104.

Список літератури / References

- Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии. – Горловка: Ліхтар, 2008. – 248с. /Atramentova L.A., Utevskaia O.M. Statistical methods in biology. – Horlovka: Likhtar, 2008. – 248p./
- Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Красавина М.С., Мощенская Ю.Л. Активность инвертазы в тканях ствола карельской березы // Физиология растений. – 2015. – Т.62, №6. – С. 804–813. /Galibina N.A., Novitskaya L.L., Krasavina M.S., Moshchenskaya Yu.L. Invertase activity in the tissues of the trunk of the Karelian birch // Russian Journal of Plant Physiology. – 2015. – Vol.62, no.6. – P. 804–813./
- Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430с. /Yermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P. et al. Methods of biochemical study of plants. – Leningrad: Agropromizdat, 1987. – 430p./
- Жмурко В.В. Фотопериодизм растений: физиолого-биохимичні та генетичні аспекти // Физиология растений: проблемы та перспективи. – К.: Логос, 2009. – С. 537–564. /Zhmurko V.V. Photoperiodism of plants: physiological, biochemical and genetic aspects // Plant physiology: problems and perspectives. – K.: Logos, 2009. – P. 537–564./
- Жмурко В.В., Авксентьева О.О., Юхно Ю.Ю. та ін. Эффекты генів фотоперіодичної чутливості і потреби в яровизації на фізіолого-біохімічні процеси у рослин пшениці м'якої та сої культурної // Физиология растений: достижения та нові напрями розвитку. – К.: Логос, 2017. – С. 187–197. /Zhmurko V.V., Avksentieva O.O., Yukhno Yu.Yu. et al. The effects of photoperiodic sensitivity genes and the need for vernalization in soft and soybean cultivated wheat plants // Plant physiology: achievements and new directions of development. – Kyiv: Logos, 2017. – P. 187–197./
- Моргун В.В., Киризий Д.А., Шадчина Т.К. Экофизиологические и генетические аспекты адаптации культурных растений к глобальным изменениям климата // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т.42, №1. – С. 3–23. /Morgun V.V., Kiriziy D.A. Shadchina T.K. Ecophysiological and genetic aspects of the adaptation of cultivated plants to global climate change // Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants. – 2010. – Vol.42, no.1. – P. 3–23./
- Стельяма А.Ф., Файт В.И., Мартынюк В.Р. Генетические системы типа и контроля скорости развития мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 2000. – Т.34, №2. – С. 39–45. /Stelmakh A.F., Fait V.I., Martynuk V.R. Genetic systems of type and control of the rate of development of soft wheat // Cytology and Genetics. – 2000. – Vol.34, no.2. – P. 39–45./
- Стельяма А.Ф., Файт В.И. Возможность улучшения адаптивности озимой пшеницы путем усиления фотопериодизма и потребности в яровизации // Збірник наукових праць СГІ-НЦНС. – 2016. – Вип.27 (67). – С. 103–108. /Stelmakh A.F., Fait V.I. The possibility of improving the adaptability of winter wheat by enhancing photoperiodism and the need for vernalization // Proceedings of Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation. – 2016. – Issue 27 (67). – P. 103–108./
- Файт В.И., Федорова В.Р. Влияние различий генов Ppd на агрономические признаки озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 2007. – Т.41, №6. – С. 26–33. /Fait V.I., Fedorova V.R. The effect of differences in Ppd genes on agronomic traits of winter wheat // Cytology and Genetics. – 2007. – Vol.41, no.6. – P. 26–33./
- Хелд Г.-В. Биохимия растений. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 471с. /Held G.-V. Biochemistry of plants. – Moscow: BINOM. Laboratory of Knowledge, 2011. – 471p./
- Avksentieva O.O., Zubrych O.I. Growth and morphogenetic reactions in near-isogenic lines of *PPD* genes of winter wheat *Triticum aestivum* L. under in vivo and in vitro conditions // Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences. – 2019. – VII (23). – Issue 193. – P. 16–20.

- Baier M., Hemman G., Holman R. et al. Characterization of mutants in *Arabidopsis* showing increased sugar-specific gene expression, growth, and developmental responses // *Plant Physiology*. – 2004. – Vol.134, no.1. – P. 81–91.
- Cho Y.H., Yoo S.D., Sheen J. Regulatory functions of nuclear hexokinase 1 complex in glucose signaling // *Cell*. – 2006. – Vol.127, no.3. – P. 579–589.
- Cockram J., Jones H., Leigh F. et al. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication and sustainable productivity // *J. Exp. Botany*. – 2007. – Vol.58, no.6. – P. 1231–1244.
- Eveland A., Jackson D. Sugars, signaling, and plant development // *Journal of Experimental Botany*. – 2011. – Vol.63, no.3. – P. 1–11.
- Graf A., Smith A.M. Starch and the clock: the dark side of plant productivity // *Trends Plant Sci*. – 2011. – Vol.16 (3). – P. 169–175.
- Gol L., Tomé T., Korff M. Floral transitions in wheat and barley: interactions between photoperiod, abiotic stresses, and nutrient status // *Journal of Experimental Botany*. – 2017. – Vol.68, no.7. – P. 1–12.
- Kiseleva A.A., Potokina E.K., Salina E.A. Features of Ppd-B1 expression regulation and their impact on the flowering time of wheat near-isogenic lines // *BMC Plant Biol*. – 2017. – Vol.17 (Suppl.1). – P. 172.
- Kiss T., Dixon L.E., Soltész A. et al. Effects of ambient temperature in association with photoperiod on phenology and on the expressions of major plant developmental genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Plant Cell Environ*. – 2017. – Vol.40 (8). – P. 1629–1642.
- Kitagawa S., Shimada S., Murai K. Effect of Ppd-1 on the expression of flowering-time genes in vegetative and reproductive growth stages of wheat // *Genes Genet. Syst*. – 2012. – Vol.87. – P. 161–168.
- Koch K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development // *J. Current Opinion in Plant Biology*. – 2004. – No.7. – P. 235–246.
- Orzechowski S. Starch metabolism in leaves // *Acta Biochimica Polonica*. – 2008. – Vol.55, no.3. – P. 435–445.
- Pérez-Gianmarco T.I., Slafer G.A., González F.G. Photoperiod-sensitivity genes (Ppd-1) shape floret development in wheat // *J. Exp. Bot*. – 2018. – Vol.70 (4). – P.1339–1348.
- Rolland F., Moore B., Sheen J. Sugar sensing and signaling in plants // *J. Plant Cell*. – 2002. – Vol.14. – P. 185–205.
- Rosa M., Prado C., Podazza G. et al. Soluble sugars – Metabolism, sensing and abiotic stress // *Plant Signaling & Behavior*. – 2009. – Vol.4, no.5. – P. 388–393.
- Sturm A. Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning // *Plant Physiol*. – 1999. – Vol.121. – P. 1–8.
- Stanley D., Farnden K.J.F., Macrae E.A. Plant α -amylases: functions and roles in carbohydrate metabolism // *Biologia*. – 2005. – Vol.60, no.16. – P. 65–71.
- Zhmurko V., Avksentyeva O., Bing H. Influence of photoperiodic conditions on the development and content of nitrogenous compounds in the VRN NILs wheat *Triticum aestivum* L. // *Biologija*. – 2013. – Vol.59, no.2. – P. 231–240.

Представлено: О.Ю.Леонов / Presented by: O.Yu.Leonov

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 13.08.2019

Про авторів: О.О.Авксентьева – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, avksentyeva@karazin.ua, <http://orcid.org/0000-0002-3274-3410>
О.І.Зубрич – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, zubrych.a.i@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9822-6221>

About the authors: O.A.Avksentieva – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, avksentyeva@karazin.ua, <http://orcid.org/0000-0002-3274-3410>
O.I.Zubrych – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, zubrych.a.i@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9822-6221>

Об авторах: О.А.Авксентьева – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, avksentyeva@karazin.ua, <http://orcid.org/0000-0002-3274-3410>
А.И.Зубрич – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, zubrych.a.i@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9822-6221>

УДК: 635.952.2:581.4+581.1

Морфолого-анатомічні та фізіолого-біохімічні ознаки адаптації *Pittosporum tobira* (Thunb.) W.T.Aiton та *P. heterophyllum* Franch. до рівня освітлення

Л.І.Бойко, О.М.Зубровська

Досліджено анатомо-морфологічні та фізіолого-біохімічні ознаки адаптації листка, як найбільш екологічно чутливого органа, у видів *P. tobira* та *P. heterophyllum*, що вирощувалися в різних за ступенем освітлення зонах оранжерейного комплексу (1 зона – рівень освітленості 100–300 лк; 2 зона – 3000–7000 лк та 3 зона – більше 10 тис. лк). Виявлено структурні морфо-анатомічні адаптації, що проявлялися у зростанні ксероморфності листової структури (потовщення листка, адаксіальної епідерми та стовбчастої паренхіми, зростання щільності опушення) в умовах високого рівня інсоляції. За низького рівня освітлення у рослин обох видів зменшувалася товщина листової пластинки, що відбувалося переважно за рахунок мезофілу, а саме скорочення кількості шарів стовбчастої паренхіми і розмірів самих клітин. Знайдено міжвидові відмінності вмісту фотосинтезуючих пігментів у обох досліджуваних видів. Загальною тенденцією у рослин, що знаходилися в умовах низького рівня освітленості, було зменшення вмісту хлорофілу *a*, тоді як концентрація хлорофілу *b* в листках рослин збільшувалася як при затіненні, так і при високій інсоляції. Результатом адаптації фотосинтетичного апарату рослин *Pittosporum*, що нормалізує його функціонування, є зниження індексу хлорофілів як за умови затінення, так і інтенсивної сонячної радіації. Максимум визначено в діапазоні 3–7 тис. лк. Такий світловий режим є оптимальним для рослин досліджених видів. Виявлене зменшення індексу пігментів у листках *P. heterophyllum* розглядаємо як адаптивну реакцію більш світлолюбних видів роду на їх тіньове утримання. Вивчено залежність активності пероксидази у листках *Pittosporum* від рівня освітленості. Адаптивні реакції проявлялися у зміні фракційного складу пероксидази в листках рослин дослідних видів за різних умов вирощування. Отримані результати по активації та інактивації ферментативної активності вільної та іонно-зв'язаної з клітинною стінкою пероксидази є інформативними для використання їх в якості додаткового діагностичного показника ступеню стресорності рослин інтер'єрів. Встановлено, що адаптивні зміни у досліджених рослин детерміновано походженням видів та їх еколого-біологічними особливостями.

Ключові слова: адаптація; *Pittosporum tobira*; *Pittosporum heterophyllum*; ступінь освітлення; листові пластинки; морфологія; анатомія; пігменти; пероксидаза.

Morphological, anatomical, physiological and biochemical adaptations of *Pittosporum tobira* (Thunb.) W.T.Aiton and *P. heterophyllum* Franch. to the illumination level

L.I.Boyko, O.M.Zubrovskya

Anatomical, morphological, physiological and biochemical adaptations of leaf as the most ecologically sensitive organ in the species *P. tobira* and *P. heterophyllum*, grown in the zones of greenhouse complex with different degree of illumination (1 zone – the level of illumination is 100–300 lx, zone 2 – 3000–7000 lx, and zone 3 – more than 10 thousand lx.) were studied. We revealed the structural morphological and anatomical adaptations, which manifested in the increase of leaf structure xeromorphy (thickening of the leaf, adaxial epidermis and columnar parenchyma, increasing pubescence density) under conditions of high insolation. With a low level of illumination in plants of both species, the thickness of the lamina decreased, mainly due to the mesophyll – the number of layers of the columnar parenchyma and the size of the cells reduced. Interspecific differences in the content of photosynthetic pigments in both species studied were found. A common trend in plants under low light conditions was decrease of chlorophyll *a* compared with the control, whereas the concentration of chlorophyll *b* in the leaves of plants increased with shading and high insolation. The result of the adaptation of the photosynthetic apparatus of *Pittosporum* plants, which normalizes its functioning, is a decreasing chlorophyll index both during shading and intense solar radiation. The maximum is determined in the range of 3–7 thousand lx. Such light regime is optimal for plants of the species studied. The observed decreasing pigment index in *P. heterophyllum* leaves is considered as an adaptive response of more light-loving species of the genus to their cultivation in the shade. The dependence of the peroxidase activity in *Pittosporum* leaves on the illumination level was studied. Adaptive reactions manifested in changes of peroxidase fractional composition in the leaves of the plants grown in different conditions. The obtained results on the activation and inactivation of the enzymatic activity of free and cell wall-associated peroxidase are interesting for using as an additional diagnostic indicator of stress degree for the plants of the interiors. It was

established that adaptive changes in experimental plants were determined by the origin of species and their ecological and biological features.

Key words: *adaptation; Pittosporum tobira; Pittosporum heterophyllum; degree of illumination; lamina, morphology, anatomy, pigments, peroxidase.*

Морфолого-анатомические и физиолого-биохимические признаки адаптации *Pittosporum tobira* (Thunb.) W.T.Aiton и *P. heterophyllum* Franch. с уровнем освещения Л.И.Бойко, О.Н.Зубровская

Исследованы анатомо-морфологические и физиолого-биохимические признаки адаптации листа, как наиболее экологически чувствительного органа, у видов *P. tobira* и *P. heterophyllum*, которые культивировались в разных по степени освещенности зонах оранжерейного комплекса (1 зона – освещенность 100–300 лк; 2 зона – 3000–7000 лк и 3 зона – более 10000 лк). Выявлены структурные морфолого-анатомические адаптации, проявлявшиеся в возрастании ксероморфности листовой структуры (утолщение листа, адаксиальной эпидермы и столбчатой паренхимы, увеличение плотности опушенности) в условиях высокого уровня инсоляции. При низком уровне освещения у растений обоих видов уменьшалась толщина листовой пластинки, что происходило преимущественно за счет мезофилла, а именно сокращения количества слоев столбчатой паренхимы и размеров самих клеток. Найдены межвидовые различия содержания фотосинтезирующих пигментов у обоих исследуемых видов. Общей тенденцией у растений, находившихся в условиях низкого уровня освещенности, было снижение содержания хлорофилла *a*, тогда как концентрация хлорофилла *b* в листьях растений увеличивалась как при затенении, так и при высокой инсоляции. Результатом адаптации фотосинтетического аппарата растений *Pittosporum*, нормализующей его функционирование, является снижение индекса хлорофиллов как при затенении, так и при интенсивной солнечной радиации. Максимум определен в диапазоне 3–7 тыс. лк. Такой световой режим является оптимальным для растений исследуемых видов. Обнаруженное уменьшение индекса пигментов в листьях *P. heterophyllum* рассматривается как адаптивная реакция более светолюбивых видов рода на их выращивание в тени. Изучена зависимость активности пероксидазы в листьях *Pittosporum* от уровня освещенности. Адаптивные реакции проявлялись в изменении фракционного состава пероксидазы в листьях растений исследуемых видов в разных условиях выращивания. Полученные результаты по активации и инактивации ферментативной активности свободной и ионно-связанной с клеточной стенкой пероксидазы информативны для использования их в качестве дополнительного диагностического показателя степени стрессорности растений интерьеров. Установлено, что адаптивные изменения в исследуемых растениях детерминированы происхождением видов и их эколого-биологическими особенностями.

Ключевые слова: *адаптация; Pittosporum tobira; Pittosporum heterophyllum; степень освещения; листовая пластинка; морфология; анатомия; пигменты; пероксидаза.*

Вступ

Дослідження адаптації рослин до вирішальних факторів середовища зростання є досить актуальним за умов глобальних змін клімату. Не менш важливим в цьому аспекті є й визначення характеру адаптаційних змін і у рослин захищеного ґрунту. Для виявлення шляхів пристосувальних реакцій рослин до різних екологічних умов особливого значення набувають анатомічні дослідження (Бойко, 2016; Osunkoya et al., 2014), при цьому у структурних аспектах адаптації значна увага приділяється вивченню окремих органів рослин. Оскільки у рослин листок є одним з найбільш пластичних та екологічно чутливих органів, велика кількість досліджень присвячена з'ясуванню впливу умов зростання на його морфолого-анатомічні зміни. Низкою дослідників (Овруцька, 2012; Иванова, 2014; Криворучко, Бессонова, 2018) відмічено, що в порівняльному дослідженні найбільш інформативними є саме структурні параметри листової пластинки. Провідну роль у формуванні листків відіграє світло, яке в умовах інтер'єрів, як правило, є лімітуючим фактором (Богатир, Сніжко, 1982; Kozłowska et al., 2011; Van Ieperen, 2012). Тому дослідження фоліарних структурних адаптацій до умов освітлення та визначення межі тіневитривалості рослин в приміщеннях є надзвичайно важливим.

Зауважимо, що більшість адаптивних механізмів рослинного організму ґрунтуються на саморегуляції біохімічних процесів завдяки зміні активності та каталітичних властивостей ферментних систем. Пероксидаза – один з найважливіших ферментів, який бере активну участь в

багатьох процесах життєдіяльності рослин, таких як лігніфікація (Шарова, Медведєв, 2017; Rai et al., 2016), контроль росту і розвитку рослин (Рогожин, 2010; Pandey et al., 2017) тощо. Крім того, за рахунок підвищеної чутливості до зовнішніх подразників, в тому числі і надмірного освітлення чи затінення в умовах закритого ґрунту (Томилин и др., 2011; Kumar et al., 2017), пероксидаза, в певній мірі, може відображати функціональний стан рослинного організму в цілому (Колупаєв, Карпец, 2010; Гольшкіна и др., 2014; Francoz et al., 2015; Shigeto, Tsutsumi, 2016).

Вирішення питання оптимізації середовища життєдіяльності людини передбачає розширення асортименту рослин для інтер'єрного озеленення стійкими високодекоративними видами. В процесі інтродукційних досліджень серед рослин тропічної і субтропічної флори нами виділено досить декоративні та стійкі в умовах інтер'єрів види роду *Pittosporum* Banks ex Sol., що практично не використовуються для цілей фітодизайну. У природі дані види зростають серед вічнозелених чагарників морського узбережжя та долин гірських річок Японії та Китаю. За даними дослідників (Горницькая, Ткачук, 2005; Ratsimiebo et al., 2015), для успішного культивування в умовах захищеного ґрунту цим видам необхідне розсіяне світло або напівтінь. Для більшості видів *Pittosporum* оптимальними умовами для вирощування є розсіяне світло та напівтінь (3–10 тис. лк) (Cayzer et al., 2000). Alkurdi та Supuka (2014) встановлено ряд пристосувальних змін пагона у рослин даного роду при вирощуванні на ділянках різної освітленості. Вивчення біоекологічних властивостей, особливостей морфогенезу та формування пагонової системи видів даного роду свідчать про можливість широкого використання їх для озеленення інтер'єрів (Бойко, 2014; 2015), що, в свою чергу, потребує більш детального дослідження їх адаптивних змін в різних умовах зростання. Оскільки пристосувальні зміни у рослин відбуваються на різних рівнях, нами було досліджено і функціональні адаптивні зміни, як-от динаміка фотосинтетичних пігментів у рослин видів роду *Pittosporum* при світловому (більше 10000 лк) та тіньовому (ступінь освітлення 300–3000 лк) утриманні у молодих та зрілих листках.

Саме тому метою роботи було дослідити анатомо-морфологічні ознаки та фізіолого-біохімічні процеси адаптації листка, як найбільш екологічно чутливого органа рослин, у перспективних для фітодизайну видів *P. tobira* (Thunb.) W.T.Aiton та *P. heterophyllum* Franch. за різних умов освітлення.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктом дослідження були асиміляційні органи *P. tobira* та *P. heterophyllum*, які культивуються в умовах оранжерейного комплексу Криворізького ботанічного саду НАН України. Матеріал для дослідження відбирали із середнього ярусу крони 5–7-річних рослин, що вирощуються в різних за ступенем освітлення зонах оранжерейного комплексу (I зона – рівень освітленості 100–300 лк; II зона – більше 10 тис. лк). Рівень освітленості вимірювали люксометром Ю-117. Контролем слугував матеріал з рослин, що вирощувалися в зоні оптимального для дослідних видів рівні освітлення (3–7 тис. лк). Для визначення активності пероксидази відбирали непошкоджені листки з 5 рослин, використовуючи 3–4-ий листок однорічного приросту бокових гілок.

Препарати готували за загальноприйнятими методиками (Барыкіна и др., 2000). Фіксація матеріалу здійснювалася у суміші 70% етилового спирту з формаліном. Поперечні зрізи листків зроблені з попередньо виготовлених парафінових блоків санним мікротомом МС-2. В якості фарбника використано спиртовий розчин алціанового синього. На поперечному зрізі листків визначали товщину листка, адаксіальної та абаксіальної епідерми, палісадної і губчастої паренхіми, а також розміри клітин палісадної паренхіми. Кількісне визначення пігментів проводили шляхом екстракції пігментів димексидом з наважки 0,1 г за методикою (Wellburn, 1994). Оптичну густину пігментних витяжок визначали за допомогою спектрофотометра СФ-2000 при довжинах хвилі 480, 649 і 665 нм. Концентрації фотосинтетичних пігментів розраховували за формулами:

$$\begin{aligned}C_a &= 12,19 \cdot A_{665} - 3,45 \cdot A_{649} \\C_b &= 21,99 \cdot A_{649} - 5,32 \cdot A_{665} \\C_{кар} &= (1000 \cdot A_{480} - 2,14 \cdot C_a - 70,16 \cdot C_b)/200,\end{aligned}$$

де C – концентрація пігментів, мг/мл; A – оптична щільність при відповідних довжинах хвилі.

Морфометричні дослідження продигового апарату проводили на відбитках епідермісу, знятих із живих рослин, за допомогою світлового мікроскопу XSP-139TR. Виміри анатомічних ознак

виконано у комп'ютерній програмі Axio Vision Rel. 4.8. Морфологічна термінологія використовується згідно з ілюстрованим довідником (Зиман та ін., 2004).

Екстракцію окремих фракцій пероксидази проводили за методикою Lee (1973), модифікованою Гамбург зі співавторами (Гамбург и др., 1977). Вільну фракцію пероксидази екстрагували з листків 0,05 М ацетатним буфером, рН 5,4. Іонно-зв'язану фракцію ферменту екстрагували із осаду 0,2 М ацетатним буфером з додаванням 1 М КСІ. Після кожного етапу екстракції супернатант відділяли центрифугуванням при 3500 g у рефрижераторній центрифугі при температурі +4°C протягом 15 хв. Активність пероксидази визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі СФ-2000 за загальноприйнятою методикою (Ермаков и др., 1987; Сибгатуллина и др., 2011). Пероксидазну активність виражали у відносних одиницях (зміна оптичної густини за 1 сек. на 1 мг білка). Визначення білку проводили за методикою (Greenberg, Gaddock, 1982) за реакцією з бромфеноловим синім. Для оцінки рівня зв'язаності ферменту із мембранним матриксом використовували коефіцієнт структурованості (K_c), що дорівнює відношенню активності іонно-зв'язаної фракції до активності вільної пероксидази. Повторність у межах окремого варіанту дослідження складала 5 рослин, аналітична повторність кожного дослідження 4-кратна, біологічна повторність – 3-кратна. Статистичний аналіз результатів проводили згідно з методикою Зайцева (1973), використовуючи t -критерій Стьюдента при 95% рівні значущості ($p < 0,05$).

Результати та обговорення

Враховуючи те, що кількісно-анатомічні ознаки листка мають істотне значення для екологічної характеристики рослин, а їх мінливість є важливим показником їх еколого-морфологічного пристосування до умов середовища, нами досліджувалися морфолого-анатомічні особливості листової пластинки *P. tobira* та *P. heterophyllum* за різних умов зростання.

Недостатній (а іноді й надлишковий) ступінь освітлення викликає у рослин пристосувальні морфологічні зміни, ступінь яких визначає адаптивний потенціал рослин (Marba et al., 2007). Морфолого-анатомічними дослідженнями листових пластинок у рослин обох видів *Pittosporum* визначено низку пристосувальних змін. Так, виявлено, що розміри листків як за довжиною, так і за шириною у різних, за рівнем освітленості місцях зростання, відрізнялися (табл. 1). По мірі збільшення ступеня освітленості, від тіньового до оптимального, розміри листової пластинки зростають в обох дослідних видів. При подальшому підвищенні ступеня освітленості листові пластинки у рослин *P. tobira* майже не втрачали в розмірах, тоді як у *P. heterophyllum* в умовах високої інсоляції відмічено незначне їх зменшення.

Загальною реакцією на рівень освітленості була і зміна щільності опушення асиміляційних органів. Так, за нашими даними, у видів *Pittosporum* листові пластинки мають трихоми двох типів: гіллясті розпростерто-двовершинні та прості ниткоподібні, які розміщені переважно на адаксіальному боці. В умовах високого рівня інсоляції виявлено збільшення щільності трихом на адаксіальній поверхні листків *P. tobira* і *P. heterophyllum* (на 70% та 84% відповідно) порівняно з контролем. В умовах затінення щільність опушення зменшувалася відносно контрольних рослин і більш значно це проявлялося у *P. heterophyllum* (табл. 1). Отримані дані свідчать про зростання ознак ксероморфності в умовах високого рівня освітлення, що, як відомо, підвищує стійкість рослин до умов утримання (Николаевский, 1979; Горницкая и др., 2006).

Мікроморфологічне вивчення листової пластинки показало, що листки у рослин дослідних видів анізостоматичні, тобто продихи розміщені лише на одному боці (Зиман та ін., 2004; Ratsimiebo et al., 2015). Продихи аноміцитарні, розташовані хаотично. Як відомо, щільність продихів у рослин варіює за різних умов освітлення (Волошина, Білявська, 2013; Nejad, Van Meeteren, 2005; Криворучко, Бессонова, 2018). Нами ж виявлено зменшення кількості продихів епідерми в затіненому місці на 30% та 40% у *P. tobira* і *P. heterophyllum* відповідно. В умовах високого рівня освітлення не відбувалося майже ніяких змін (табл. 1).

Дослідження анатомічної будови листової пластинки рослин обох видів *Pittosporum* засвідчують, що адаксіальна та абаксіальна епідерма одношарова, вкрита кутикулою. Мезофіл складається з 2–3 шарів щільної палисадної паренхіми та з більш дрібних клітин губчастої, а також великих міжклітинників. Як показано в табл. 2, в умовах різного рівня освітлення анатомо-морфологічні показники асиміляційних органів зазнають змін. Загальною реакцією рослин на низький рівень освітлення, порівняно з оптимальним, було зменшення товщини листової

пластинки переважно за рахунок стовпчастого мезофілу, а також згрупування пластид здебільшого у поверхневих шарах паренхіми. Встановлене вище характерне для світлолюбних рослин в умовах недостатньої освітленості і, на думку Н.А.Кириленко (2018), є важливою адаптивною ознакою, яка дозволяє підтримувати достатньо високу інтенсивність фотосинтезу. Істотніше ці зміни проявлялися у виду, що має товщу листову пластинку – *P. tobira* (табл. 2).

Таблиця 1.
Зміни морфологічних ознак листка видів роду *Pittosporum* за різних умов утримання

Вид	Ділянка	Розміри листової пластинки		Кількість трихом на адаксіальній поверхні листка на 1,5 см ² , шт.	Кількість продихів на 1 мм ² , шт.
		довжина, см	ширина, см		
<i>P. tobira</i>	1	7,2±0,28*	3,1±0,15*	2,70±0,28*	89,6±0,08*
	2	8,4±0,38	3,5±0,21	2,92±0,19	130,0±0,14
	3	8,3±0,40*	3,5±0,17*	5,08±0,23*	133,0±0,21*
<i>P. heterophyllum</i>	1	6,1±0,24*	1,7±0,09*	1,03±0,16*	101,3±0,18*
	2	7,1±0,29	2,1±0,19	1,46±0,13	173,0±0,28
	3	6,8±0,19*	2,0±0,14*	2,69±0,17*	172,6±0,19*

Примітка. У цій та інших таблицях: 1 – тіньова ділянка, ступінь освітленості 100–300 лк; 2 – контрольна ділянка, ступінь освітленості 3000–7000 лк; 3 – світлова ділянка, ступінь освітленості від 10000 лк і вище; * – статистично значуща різниця відносно контролю при $p < 0,05$.

Таблиця 2.
Анатомо-морфологічні показники листової пластинки видів *Pittosporum tobira* та *P. heterophyllum* за рівного рівня освітлення

Вид	Ділянка	Товщина листка, мкм	Товщина епідерми, мкм		Товщина стовбчастого мезофілу, мкм	Товщина губчастого мезофілу, мкм
			адакс.	абакс.		
<i>P. tobira</i>	1	288,4±1,9	30,7±0,68*	15,9±0,65	108,4±1,29	160,5±2,4*
	2	319,4±2,4	27,9±0,67	17,4±0,65	124,0±1,19	151,8±1,3
	3	324,3±3,4*	29,7±0,82*	16,7±0,65*	128,2±2,04*	149,7±1,7
<i>P. heterophyllum</i>	1	277,8±3,7*	28,1±1,08*	15,5±0,81	100,7±1,24	111,8±2,3
	2	283,0±3,1	26,3±0,70	16,9±0,75	110,5±1,46	120,7±1,5
	3	298,2±1,9*	28,4±1,08*	16,5±0,81*	129,4±1,3*	119,6±1,7*

В умовах високого рівня інсоляції структурно-анатомічні зміни проявлялися у потовщенні листової пластинки за рахунок значного розвитку стовбчастої паренхіми, що призводило, відповідно, до зростання коефіцієнту палісадності. Такі структурні адаптації були більш характерними у листках *P. heterophyllum* (табл. 2). Значний розвиток палісадної паренхіми можна розглядати як пристосування до високого рівня освітлення (Криворучко, Бессонова, 2018).

Адаптаційні зміни в будові листка супроводжуються різноманітними фізіологічними реакціями. Оскільки суттєвим показником фізіологічного стану рослин є перебіг фотосинтезу, який залежить від забезпеченості відповідними пігментами, нами були досліджені деякі параметри пігментної системи дослідних рослин, а саме встановлені кількісні показники вмісту хлорофілів і каротиноїдів у листках та їх зміни за різних умов вирощування.

Результати досліджень свідчать, що вміст хлорофілу *a* у рослин *Pittosporum*, які знаходилися в умовах низького рівня освітленості, зменшувався (табл. 3) і становив 47–95 % відносно контрольних рослин. Загальною реакцією рослин, як на зменшення рівня освітлення, порівняно з оптимальним, так і на високий рівень інсоляції, було збільшення вмісту хлорофілу *b* (табл. 3), що

збігається з думкою інших дослідників щодо синтезу більш стійкого хлорофілу *b* в умовах недостатнього освітлення або збільшення сонячної радіації (Ладыженко и др., 2014; Zhang et al., 2018; Xiaoa et al., 2018).

Таблиця 3.

Зміни вмісту фотосинтетичних пігментів в асиміляційних органах видів роду *Pittosporum* в різних умовах зростання, мг/100г сирової речовини

Вид	Ділянка	Хлорофіл <i>a</i>		Хлорофіл <i>b</i>		Сума хлорофілів	Каротиноїди	
		вміст	% до контр.	вміст	% до контр.		вміст	% до контр.
<i>P. tobira</i>	1	6,23	95,0	4,56*	188,0	10,79*	0,96	69,0
	2	6,55	–	2,42	–	8,96	1,39	–
	3	6,73*	102,8	3,07*	126,9	9,80*	2,80*	201,4
<i>P. heterophyllum</i>	1	4,12	47,0	3,63*	154,5	7,75	1,11	56,0
	2	8,81	–	2,35	–	12,44	1,91	–
	3	9,01*	102,3	4,17*	177,4	13,18*	3,40*	178,0

Порівняння кількісного вмісту хлорофілів в асиміляційних органах досліджуваних видів вказує на те, що зменшення вмісту хлорофілу у листках – це закономірна адаптаційна відповідь рослин на рівень сонячного опромінення. Беручи до уваги динаміку вмісту хлорофілів у листках рослин *Pittosporum* за різного рівня освітленості, можна констатувати, що краще витримує затінення місця зростання *P. tobira*. Поряд з тим, на думку низки дослідників (Eckhardt et al., 2004; Costa et al., 2010), зниження індексу хлорофілів при зміні умов зовнішнього середовища є показником пластичності та стійкості виду. Таким чином, виявлене нами зменшення співвідношення хлорофілу *a* до хлорофілу *b* у листках *P. heterophyllum* є одним із способів адаптації в умовах низького рівня освітленості (табл. 4).

Таблиця 4.

Співвідношення різних форм пігментів в листках видів роду *Pittosporum* за різного рівня освітлення

Вид	Ділянка	Індекси співвідношення різних форм пігментів	
		Хлорофіл <i>a</i> /хлорофіл <i>b</i>	Сума хлорофілів/каротиноїди
<i>P. tobira</i>	1	2,9	3,6
	2	2,9	3,9
	3	2,6	4,6
<i>P. heterophyllum</i>	1	2,9	3,7
	2	3,7	4,6
	3	2,8	5,4

На думку Ладигіна (Ладыгин, 2000) і L.Y. Yang зі співавторами (2018), саме каротиноїди більш чутливі до дії стресорів різноманітної природи. Нами встановлено, що вміст каротиноїдів в листках обох видів зменшувався в умовах затінення і дещо зростав в умовах високого рівня інсоляції (табл. 3). Деякі дослідники (Дымова, Головка, 1998; Costa et al., 2010) вважають, що за високої інсоляції каротиноїди виконують переважно фотозахисну функцію, а за низької вони є додатковими світлозбираючими пігментами. Виявлена в ході досліджень динаміка вмісту каротиноїдів, на нашу думку, є показником високих адаптивних можливостей рослин досліджуваного роду.

Співвідношення суми хлорофілів до каротиноїдів відіграє не менш важливу роль при характеристиці роботи фотосинтетичного апарату. Це співвідношення досить чутливе до змін навколишнього середовища (Yang et al., 2018). Виявлене варіювання індексу пігментів у дослідних видів роду *Pittosporum* (3,6–5,4) характеризує їх як рослини, що адаптовані до широкого діапазону рівня освітленості (табл. 4).

Для характеристики функціонального стану рослин у відповідь на дію екстремальних факторів середовища (Rai et al., 2016), в тому числі і надмірного освітлення чи затінення

техногенного походження (Pandey et al., 2017), часто використовують рівень активності пероксидази в їх органах.

Початковий рівень активності та структурованості пероксидази в рослинних клітинах є видоспецифічним (Газарян и др., 2006; Колупаев, 2007) і може слугувати критерієм фізіологічного стану конкретного виду та його стійкості до різноманітних стресових факторів, що підтверджується нашими даними. Так, проведені нами дослідження показали, що на початку морфогенезу листків (лютий) як у затіненому, так і в добре освітленому місці високий рівень пероксидазної активності був характерним для *P. tobira* (табл. 5), котрий серед представників роду належить до більш тіневитривалих (Горницкая, Ткачук, 2005; Meletiou-Christou, Rhizopoulou, 2012). При цьому, у згаданого виду в умовах затінення частка вільної (розчинної) пероксидази була більшою, ніж іонно-зв'язаною з клітинною стінкою у 10 разів, а в освітленому місці – у 8,7 разів. Схожу закономірність у функціонуванні згаданих фракцій ферменту на початку вегетації асиміляційних органів *Helianthus annuus* L. було встановлено Esfahani і Rezayatmand (2015).

Таблиця 5.

Динаміка активності вільної (розчинної) та іонно-зв'язаної пероксидаз у листках видів роду *Pittosporum*, відн. од. за 1 с/мг білка

Вид	Ділянка	Лютий				Липень			
		$M \pm m$	% до контр.	t-критерій		$M \pm m$	% до контр.	t-критерій	
				факт.	табл.			факт.	табл.
Вільна пероксидаза									
<i>P. tobira</i>	1	1,01±0,020	–	–	–	0,29±0,020	–	–	–
	3	1,13±0,012	111,69	5,0	2,6	0,66±0,024	222,56	11,5	2,6
<i>P. heterophyllum</i>	1	0,21±0,004	–	–	–	0,30±0,029	–	–	–
	3	0,28±0,008	131,57	8,1	2,6	0,74±0,048	246,41	7,8	2,6
Іонно-зв'язана пероксидаза									
<i>P. tobira</i>	1	0,08±0,001	–	–	–	0,30±0,003	–	–	–
	3	0,13±0,007	162,50	10,7	2,6	0,21±0,020	69,75	25,7	2,6
<i>P. heterophyllum</i>	1	0,25±0,004	–	–	–	0,25±0,005	–	–	–
	3	0,27±0,006	108,00	15,1	2,6	0,21±0,005	85,93	4,8	2,6

Зазначимо, що світло на даному етапі морфогенезу листків індукувало підвищення пероксидазної активності. Причому більш чутливою до дії яскравого освітлення виявилася фракція іонно-зв'язаної пероксидази, що проявлялося у збільшенні її активності на 16% відносно затінених умов зростання. Встановлене вище, скоріш за все, призводило до гальмування ростових процесів у листках *P. tobira* в умовах оранжереї в зимовий період. На відміну від цього, інтенсивність функціонування розчинної фракції пероксидази у листках виду в умовах надмірного освітлення зростала лише на 11%.

В процесі морфогенезу листової пластинки *P. tobira* (липень) відбувався перерозподіл активності ферменту на користь іонно-зв'язаної з клітинною стінкою пероксидази, а співвідношення обох фракцій пероксидази в умовах затінення складало 1:1 (табл. 5). При цьому рівень зв'язку пероксидази з компартментами клітини був досить високим, а коефіцієнт структурованості становив 1,03 (рис. 1).

Підвищення активності іонно-зв'язаної фракції пероксидази у затіненому місці, скоріш за все, пов'язане з її безпосередньою участю у лігніфікації клітинних оболонок у період сповільнення росту листової пластинки (Вакоп et al., 1997). Рівень активності вільної (розчинної) пероксидази у листках *P. tobira* на даному етапі навпаки знижувався у 3,5 раза, оскільки асиміляційні органи виду в умовах затінення виступають в якості донора знову синтезованих органічних речовин для росту та диференціації тканин стовбура (червень, липень).

На відміну від цього, в добре освітленому місці у фазу завершення росту листків у *P. tobira* активність вільної пероксидази хоч і пригнічувалася у 1,7 раза, проте втричі перевищувала активність іонно-зв'язаної з клітинною стінкою фракції ферменту (табл. 5). Встановлене, скоріш за все, пов'язане з адаптацією виду до яскравого освітлення та високих температур в оранжерейному комплексі у літній період і відображає механізм світлового контролю стійкості у *P. tobira*, який

здійснюється за участі перерозподілу співвідношення різних фракцій пероксидаз або шляхом зміни просторової структури пероксидази задля ефективного її функціонування, як показано у роботах Голишкіної зі співавторами (Голишкіна и др., 2014).

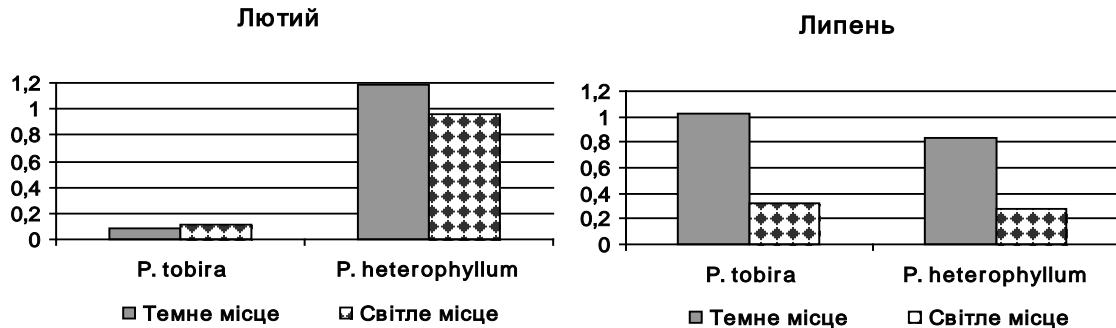


Рис. 1. Коефіцієнти структурованості (K_c) пероксидази у листках *Pittosporum* протягом морфогенезу асиміляційних органів

Порівняно з *P. tobira*, у листках *P. heterophyllum*, який при вирощуванні потребує яскравого, проте розсіяного, освітлення (Горницкая, Ткачук, 2005; Meletiou-Christou, Rhizopoulou, 2012), загальна пероксидазна активність була у 4,8 раза нижчою (табл. 5). Слід зазначити, що у затіненому місці зростання співвідношення активностей розчинної та іонно-зв'язаної з клітинною стінкою пероксидаз було практично однаковим як на початку морфогенезу асиміляційних органів, так і у фазу завершення їх росту (табл. 5). Коефіцієнти структурованості при цьому були досить високими і становили $K_c=1,19$ і $K_c=0,83$ у першу та другу фазу розвитку листків відповідно (рис. 1), що певною мірою може характеризувати дане місцезростання як більш сприятливе для нормального розвитку *P. heterophyllum*.

На відміну від цього, підвищений рівень освітлення у фазу повного відособлення листків у *P. heterophyllum* індукував видоспецифічне зростання на 13% вільної та на 10% іонно-зв'язаної з клітинною стінкою пероксидаз (табл. 5). Встановлене свідчить про те, що за дії кращого освітлення на даному етапі морфогенезу листки розвивалися більш активно, а активація росту, як відомо, найчастіше супроводжується збільшенням частки вільної пероксидази у сумі пероксидазної активності обох фракцій.

В подальшому, при зростанні середньодобових температур та яскравості освітлення розвиток листової пластинки у *P. heterophyllum* супроводжувався не збільшенням, а зменшенням функціонування іонно-зв'язаної з клітинною стінкою пероксидази на 14%, тоді як активність вільної фракції ферменту зростала у 2,5 раза. Схожа закономірність була встановлена і Томіліним зі співавторами (Томилин и др., 2011) у листках проростків *Triticum aestivum* L.

Таке співвідношення активності вільної та іонно-зв'язаної пероксидази у листках *P. heterophyllum*, на нашу думку, пов'язане з більшою чутливістю іонно-зв'язаної фракції ферменту до стресового впливу надмірного освітлення і високих температур (понад 28°C), а також, в певній мірі, вивільненням частки ферменту, зв'язаного іонними зв'язками з мембранами клітини, і переходом його у вільну фракцію внаслідок пошкодження структури біомембран (Голишкіна и др., 2014). Отримані результати по активації та інактивації ферментативної активності вільної та іонно-зв'язаної з клітинною стінкою пероксидази є цікавими для використання їх в якості додаткового діагностичного показника ступеню стресорності для оранжерейних рослин.

Висновки

1. В умовах високого рівня інсоляції в обох досліджених видів зростає ксероморфність листової структури, що проявляється у потовщенні листка, адаксіальної епідерми та стовбчастої паренхіми, зростанні щільності опушення. Такі структурні адаптації були більш характерними для асиміляційних органів *P. heterophyllum*.

2. В умовах затінення загальною реакцією рослин на зменшення рівня освітлення, порівняно з оптимальним, було зменшення товщини листової пластинки, що відбувалося переважно за рахунок стовбчастого мезофілу внаслідок зменшення як кількості шарів паренхіми, так і розмірів самих клітин. Істотніше ці зміни проявлялися у виду, що має товщу листову пластинку, – *P. tobira*.

3. Встановлено міжвидові відмінності вмісту фотосинтезуючих пігментів для обох досліджуваних видів. В умовах низького рівня освітленості вміст хлорофілу *a* зменшувався і становив 47–95 % до контролю, концентрація хлорофілу *b* в листках рослин збільшувалася як при затіненні, так і при високій інсоляції. Беручи до уваги показники вмісту хлорофілів, можна сказати, що краще витримує недостатню освітленість *P. tobira*.

4. Виявлено зниження індексу хлорофілів у видів *Pittosporum*, що, на нашу думку, є результатом адаптації їх фотосинтетичного апарату, що нормалізує його функціонування, як за умови затінення, так і інтенсивної сонячної радіації.

5. Адаптивні реакції проявлялися у зміні фракційного складу пероксидази в листках рослин досліджених видів за різних умов вирощування. Протягом морфогенезу листків у *P. tobira* надмірне світло посилювало зсув співвідношення активності ферменту в бік іонно-зв'язаної фракції та співпадало в часі з лігніфікацією клітинних оболонок та світлозалежним зниженням швидкості росту листків. У виду *P. heterophyllum* яскраве освітлення провокувало зміни в окислювально-відновлювальному режимі і призводило до вивільнення частки пероксидази, зв'язаної з мембранами клітини, що впливало на здатність виду адаптуватися до змінених умов зростання.

Список літератури / References

- Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г. и др. Основы микротехнических исследований в ботанике. Справочное руководство. – М.: Моск. гос. ун-т, 2000. – 127с. /Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatov A.G. et al. Principles of microtechnical research in botany. Reference guide. – Moscow: Moscow State University, 2000. – 127p./
- Богатир В.Б., Сніжко В.В. Адаптація рослин до умов недостатнього освітлення в інтер'єрах // Інтродукція та акліматизація рослин в Україні. – 1982. – Вип.20. – С. 76–78. /Bogatyir V.B., Snizhko V.V. Adaptation of plants to conditions of insufficient lighting in interiors // Introduction and acclimatization of plants in Ukraine. – 1982. – Issue 20. – P. 76–78./
- Бойко Л.І. Інтродукція видів роду *Pittosporum* Banks et Sol. в умовах захищеного ґрунту: історія та перспективи // Біологічний вісник МДПУ ім. Б.Хмельницького. – 2014. – Т.4 (3). – С. 34–54. /Boyko L.I. Introduction of *Pittosporum* Banks et Sol. species in a frame area: history and prospects // Ukrainian Journal of Ecology. – 2014. – Vol.4 (3). – P. 34–54./
- Бойко Л.І. Морфологічні зміни пагонів видів роду *Pittosporum* Banks et Sol. в зв'язку з умовами утримання // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2015. – №2 (63). – С. 5–8. /Boyko L.I. Morphological changes of shoots of species of the genus *Pittosporum* Banks et Sol. in connection with conditions of keeping // Scientific Issues of Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University. Series: Biology. – 2015. – No.2 (63). – P. 5–8./
- Бойко Л.І. Особливості листка *Pittosporum tobira* (Pittosporaceae) за різних умов вирощування // Український ботанічний журнал. – 2016. – Т.73, №6. – С. 593–599. /Boyko L.I. Features of leaf of *Pittosporum tobira* (Pittosporaceae) under different growth conditions // Ukr. Bot. J. – 2016. – Vol.73, no.6. – P. 593–599./
- Волошина Н.Ю., Білявська Н.О. Мікроструктура поверхні листків двох лісових видів клена в залежності від освітлення в кроні // Вісник Харківського національного аграрного університету. – 2013. – Вип.1 (28). – С. 6–17. /Voloshyna N.Yu., Bilyavska N.O. Microstructure of foliar surface in two forest maple species depending on within-crown light gradient // The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology. – 2013. – Issue 1 (28). – P. 6–17./
- Газарян И.Г., Хушпульян Д.М., Тишков В.И. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений // Успехи биологической химии. – 2006. – Т.46. – С. 303–322. /Gazaryan I.G., Khushpulyan D.M., Tishkov V.I. Features of the structure and mechanism of action of plant peroxidases // Advances in Biological Chemistry. – 2006. – Vol.46. – P. 303–322./
- Гамбург К.З., Подолякина Л.А., Ситнева В.М. Изучение активности пероксидазы и ИУК-оксидазы в суспензионных культурах тканей табака и сои // Физиология растений. – 1977. – Т.24, №3. – С. 542–548. /Hamburg K.Z., Podolyakina L.A., Sitneva V.M. Study of the activity of peroxidase and IAA-oxidase in suspension cultures of tobacco and soybean tissues // Plant Physiology. – 1977. – Vol.24, no.3. – P. 542–548./
- Голышкина Л.В., Красова Н.Г., Галашева А.М. Влияние гипертермии на активность ферментной системы пероксидазы в тканях однолетних побегов яблони // Современное садоводство. Электронный журнал. – 2014. – №4. – С. 50–59. /Golysheva L.V., Krasova N.G., Galasheva A.M. The effect of hyperthermia on the activity of the enzyme system of peroxidase in the tissues of annual apple shoots // Modern Gardening. Electronic journal. – 2014. – No.4. – P. 50–59./

- Горницкая И.П., Ткачук Л.П. Каталог растений для работ по фитодизайну. – Донецк: ООО «Лебедь», 2005. – 234с. /Gornitskaya I.P., Tkachuk L.P. Catalog of plants for phytodesign works. – Donetsk: Lebed LLC, 2005. – 234p./
- Горницкая И.П., Бойко Л.И., Ткачук Л.П. Интродукция видов рода *Pittosporum* Banks et Soland. ex Gaertn. в защищенный грунт Донецкого и Криворожского ботанических садов НАН Украины // Промышленная ботаника. – 2006. – №6. – С. 66–78. /Gornitskaya I.P., Boyko L.I., Tkachuk L.P. Introduction of species of the genus *Pittosporum* Banks et Soland. ex Gaertn. in the conservatories of the Donetsk and Krivoy Rog Botanical Gardens of the NAS of Ukraine // Industrial Botany. – 2006. – No.6. – P. 66–78./
- Дымова О.В., Головки Т.К. Адаптация к свету фотосинтетического аппарата теневыносливых растений (на примере *Ajuga reptans*) // Физиология растений. – 1998. – Т.45, №4. – С. 521–528. /Dymova O.V. Golovko T.K. Adaptation of the photosynthetic apparatus of shade-tolerant plants (on the example of *Ajuga reptans*) to the light // Plant Physiology. – 1998. – Vol.45, no.4. – P. 521–528./
- Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – С. 41–45. /Yermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P. et al. Methods of biochemical studies of plants. – Leningrad: Agropromizdat, 1987. – P. 41–45./
- Зайцев Г.Н. Методика биометрических расчетов. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1973. – 256с. /Zaytsev G.N. Methods of biometric calculations. Mathematical statistics in experimental botany. – Moscow: Nauka, 1973. – 256p./
- Зиман М.С., Мосякин С.Л., Булах О.В. та ін. Ілюстрований довідник з морфології квіткових рослин. – Ужгород: Медіум, 2004. – 156с. /Ziman M.S., Mosyakin S.L., Bulakh O.V. et al. Illustrated reference book on the morphology of flowering plants. – Uzhgorod: Medium, 2004. – 156p./
- Иванова Л.А. Адаптивные признаки структуры листа растений разных экологических групп // Экология. – 2014. – Т.45, №2. – С. 109–118. /Ivanova L.A. Adaptive features of leaf structure in plants of different ecological groups // Russian Journal of Ecology. – 2014. – Vol.45, no.2. – P. 109–118./
- Кириленко Н.А. Анатомо-морфологічні особливості вегетативних органів сукулентних рослин у зв'язку з умовами зростання // Ukrainian Journal of Ecology. – 2018. – Т.8 (1). – С. 509–515. /Kirilenko N.A. Anatomical and morphological features of the vegetative organs of succulent plants regards growth conditions // Ukrainian Journal of Ecology. – 2018. – Vol.8 (1). – P. 509–515./
- Колупаев Ю.Е. Кальций и стрессовые реакции растений // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія. – 2007. – Вип.1 (10). – С. 24–41. /Kolupaev Yu.Ye. Calcium and stress reaction of plants // The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology. – 2007. – Issue 1 (10). – P. 24–41./
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. – К.: Основа, 2010. – 352с. /Kolupaev Yu.Ye., Karpets Yu.V. Formation of plants adaptive reactions to abiotic stressors influence. – Kyiv: Osnova, 2010. – 352p./
- Криворучко А.П., Бессонова В.П. Анатомічна характеристика листків *Quercus rubra* L. та *Quercus Robur* L. за солітерного та групового зростання // Ukrainian Journal of Ecology. – 2018. – Т.8 (1). – С. 64–71. /Kryvoruchko A.P., Bessonova V.P. Anatomical leaves characteristics of *Quercus rubra* L. and *Quercus robur* L. and stand density // Ukrainian Journal of Ecology. – 2018. – Vol.8 (1). – P. 64–71./
- Ладыгин В.Г. Биосинтез каротиноидов в хлоропластах водорослей и высших растений // Физиология растений. – 2000. – Вып.47, №6. – С. 904–923. /Ladygin V.G. Biosynthesis of carotenoids in chloroplasts of algae and higher plants // Plant Physiology. – 2000. – Vol.47, no.6. – P. 904–923./
- Ладыженко Т.А., Гетко Н.В., Кабашникова Л.Ф., Пшибытко Н.Л. Параметры индукции флуоресценции хлорофилла а листьев тропических и субтропических растений, культивируемых в оранжереях // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2014. – №1. – С. 40–44. /Ladyzhenko T.A., Hetko N.V., Kabashnikova L.F., Pshybytko N.L. Parameters of chlorophyll a fluorescence in the leaves of tropical and subtropical plants, which were cultivated in greenhouses // Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series. – 2014. – No.1. – P. 40–44./
- Николаевский В.С. Биологические основы газоустойчивости растений. – Новосибирск: Наука, 1979. – 280с. /Nikolaevsky V.S. Biological basis of gas resistance of plants. – Novosibirsk: Nauka, 1979. – 280p./
- Овруцька І.І. Анатомо-морфологічні ознаки листків *Sium latifolium* L. у різних умовах зростання // Український ботанічний журнал. – 2012. – Т.69, №1. – С. 125–133. /Ovrutska I.I. Anatomical and morphological characters of leaves of *Sium latifolium* L. under different growth conditions // Ukr. Bot. J. – 2012. – Vol.69, no.1. – P. 125–133./
- Рогожин В.В. Peroxidaza растений. – Berlin: Lambert Academic Publishing, 2010. – 205с. /Rogozhin V.V. Plants peroxidase. – Berlin: Lambert Academic Publishing, 2010. – 205p./
- Сибгатуллина Г.В., Хаертдинова Л.Р., Гумерова Е.А. и др. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений. – Казань: Казанский (Приволжский) Федеральный университет, 2011. – 61с. /Sibgatullina G.V., Khaertdinova L.R., Gumerova Ye.A. et al. Methods for determining the redox status of cultivated plant cells. – Kazan: Kazan (Volga Region) Federal University, 2011. – 61p./

- Томилин М.В., Олюнина Л.Н., Сухов В.С. и др. ИУК-индуцированные изменения активности пероксидаз зеленых и этиолированных проростков пшеницы // Вестник Нижегородского ун-та им. Н.И.Лобачевского. – 2011. – №2. – С. 215–221. /Tomilin M.V., Olyunina L.N., Sukhov V.S. et al. IAA-induced changes in peroxidase activity in green or etiolated wheat seedlings // Vestnik of Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod. – 2011. – No.2. – P. 215–221./
- Шарова Е.И., Медведев С.С. Редокс-реакции в апопласте растущих клеток // Физиология растений. – 2017. – Т.64, №1. – С. 3–18. /Sharova Ye.I., Medvedev S.S. Redox reactions in the apoplast of growing cells // Plant Physiology. – 2017. – Vol.64, no.1. – P. 3–18./
- Alkurdi M.I.S., Supuka J. Evaluation of the sugar and starch content in the leaves of some Mediterranean woody shrubs growing in different conditions // Plants in Urban Areas and Landscape. Proceedings of the scientific papers (December, 2, 2014). – Slovak University of Agriculture in Nitra Faculty of Horticulture and Landscape Engineering, 2014. – P. 64–67.
- Bakon M.A., Thompson D.S., Davies W.I. Can cell wall peroxidase activity explain the leaf growth response of *Lolium t. L.* during drought? // Journal of Experimental Botany. – 1997. – Vol.48, no.317. – P. 2075–2085.
- Cayzer L.W., Crisp M.D., Telford Ian R.H. Revision of *Pittosporum* (Pittosporaceae) in Australia // Australian Systematic Botany. – 2000. – Vol.13. – P. 845–902.
- Costa L.C. do B., Pinto J.E.B.P., de Castro E.M. et al. Effects of coloured shade netting on the vegetative development and leaf structure of *Ocimum selloi* // Bragantia. – 2010. – Vol.69, no.2. – P. 349–359.
- Eckhardt U., Grimm B., Hortensteiner S. Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants // Plant Mol. Biol. – 2004. – Vol.56. – P. 1–4.
- Esfahani H.S., Rezayatmand Z. Evaluation of some physiological and biochemical parameters of variety of sunflower sanbero (*Helianthus annuus L.*) under nickel toxicity // Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences. – 2015. – Vol.5, no.4. – P. 88–99.
- Francoz E., Ranocha P., Nguyen-Kim H. et al. Roles of cell wall peroxidases in plant development // Phytochemistry. – 2015. – Vol.112. – P. 15–21.
- Greenberg Ch.S., Gaddock Rh.R. Rapid single step membrane proteine assay // Clin. Chem. – 1982. – Vol.28 (7). – P. 1726–1728.
- Kozłowska A., Bres W., Krzesinski W., Trelka T. The effect of amount of light and the temperature on biomorphological characteristics of *Chrysanthemums* during all-year culture // Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus. – 2011. – Vol.10 (3). – P. 235–246.
- Kumar P., Kumar R., Ansari S.A. Nitrate reductase and peroxidase activity in growth and productivity of *Santalum album L.* // Tropical Plant Research. – 2017. – Vol.4 (1). – P. 90–94.
- Lee T.T. On extraction and quantitation of plant peroxidase isoenzymes // Physiol. Plant. – 1973. – Vol.29, no. 2. – P. 198–203.
- Marba N., Duarte C.M., Agusti S. Allometric scaling of plant life history // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2007. – Vol.104 (40). – P. 15777–15780.
- Meletiου-Christou M.-S., Rhizopoulou S. Constraints of photosynthetic performance and water status of four evergreen species co-occurring under field conditions // Botanical Studies. – 2012. – Vol.53. – P. 325–334.
- Nejad A.R., Van Meeteren U. Stomatal response characteristics of *Tradescantia virginiana* grown at high relative air humidity // Journal Physiology Plant. – 2005. – Vol.125. – P. 324–332.
- Osunkoya O.O., Boyne R., Scharaschkin T. Coordination and plasticity in leaf anatomical traits of invasive and native vine species // American Journal of Botany. – 2014. – Vol.101 (9). – P. 1423–1436.
- Pandey V.P., Awasthi M., Singh S. et al. A Comprehensive review on function and application of plant peroxidases // Biochemistry and Analytical Biochemistry. – 2017. – Vol.6 (1). – P. 308–323.
- Rai N., Yadav M., Yadav H.S. Enzymatic characterization of lignin peroxidase from *Luffa aegyptica* fruit juice // American Journal of Plant Sciences. – 2016. – Vol.7. – P. 649–656.
- Ratsimiebo M.P., Ramanitrahambola D., Rajemiarimoelisoa C.F. et al. Toxicity study of *Pittosporum ochrosiaefolium* Bojer (Pittosporaceae) a medicinal plant of Madagascar // Journal of Plant Sciences. – 2015. – Vol.3 (6). – P. 349–357.
- Shigeto J., Tsutsumi Y. Diverse functions and reactions of class III peroxidases // New Phytologist. – 2016. – Vol.209. – P. 1395–1402.
- Van Ieperen W. Plant morphological and developmental responses to light quality in a horticultural context // Proc. VII International Symposium on Light in Horticultural Systems 956 / Eds.: S.Hemming, E.Heuvelink. – Acta Hort., ISHS 2012. – P. 131–139.

Wellburn A.R. The spectral determination of chlorophyll *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution // J. Plant Physiol. – 1994. – Vol.144. – P. 307–313.

Xiaoa F., Yang Z., Low L.Z. Temperature and weak light affect greenhouse tomato growth and fruit quality // Journal of Plant Sciences. – 2018. – Vol.6 (1). – P. 16–24.

Yang L.Y., Yang S.L., Li J.Y. et al. Effects of different growth temperatures on growth, development, and plastid pigments metabolism of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plants // Bot. Stud. – 2018. – Vol.59, no.5. – 13p.

Zhang X., He D., Niu G. et al. Effects of environment lighting on the growth, photosynthesis, and quality of hydroponic lettuce in a plant factory // Int. J. Agric. & Biol. Eng. – 2018. – Vol.11, no. 2. – P. 33–40.

Представлено: С.О.Калашник / Presented by: S.O.Kalashnik

Рецензент: В.В.Жмурко / Reviewer: V.V.Zhmurko

Подано до редакції / Received: 06.06.2019

Про авторів: Л.І.Бойко – Криворізький ботанічний сад НАН України, вул. Маршака, 50, Кривий Ріг, Україна, 50089, ludmilaboynko@meta.ua, <https://orcid.org/0000-0002-1812-5114>

О.М.Зубровська – Криворізький ботанічний сад НАН України, вул. Маршака, 50, Кривий Ріг, Україна, 50089, zubrovska@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-4173-2457>

About the authors: L.I.Boyko – Kryvyi Rih Botanical Garden of NAS of Ukraine, Marshak Str., 50, Kryvyi Rih, Ukraine, 50089, ludmilaboynko@meta.ua, <https://orcid.org/0000-0002-1812-5114>

O.M.Zubrovska – Kryvyi Rih Botanical Garden of NAS of Ukraine, Marshak Str., 50, Kryvyi Rih, Ukraine, 50089, zubrovska@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-4173-2457>

Об авторах: Л.И.Бойко – Криворожский ботанический сад НАН Украины, ул. Маршака, 50, Кривой Рог, Украина, 50089, ludmilaboynko@meta.ua, <https://orcid.org/0000-0002-1812-5114>

О.Н.Зубровская – Криворожский ботанический сад НАН Украины, ул. Маршака, 50, Кривой Рог, Украина, 50089, zubrovska@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-4173-2457>

УДК: 581.14:633.15:502.521

Фітотоксичність хрому і нікелю на початковому етапі онтогенетичного розвитку кукурудзи В.М.Гришко, О.І.Лисенко

Проаналізовано дані про фітотоксичність сумісної дії іонів хрому та нікелю на гібриди кукурудзи Премія 190 МВ і Євро 401 СВ в лабораторних вегетаційних дослідах. Рослини вирощували 6 діб у вегетаційних посудинах за температури 26–27°C на стандартному поживному середовищі Хогланда-Снайдерс, при освітленні 15000 люкс впродовж 16 годин на добу, за аерації поживного середовища. Потім до вегетаційних посудин вносили сполуки хрому і нікелю. Вплив комбінованої дії водних розчинів сульфатів хрому (III) і нікелю (II) вивчали в наступних варіантах досліду: контроль (дистильована вода); 1ГДКNi²⁺+1ГДКCr³⁺; 10ГДКNi²⁺+1ГДКCr³⁺; 1ГДКNi²⁺+10ГДКCr³⁺; 10ГДКNi²⁺+10ГДКCr³⁺ (ГДК – гранично допустима концентрація елементу в ґрунті). У дослідах вважали, що ГДК Cr 6 мг/л і ГДК Ni 4 мг/л. Через 24 і 72 годин після внесення розчинів хрому і нікелю вимірювали довжину головного кореня і висоту надземної частини та їх масу, розраховували значення кореневого індексу. Інгібуючий ефект іонів хрому та нікелю на ріст рослин Премія 190 МВ був до 1,4 раза менший, ніж у гібрида Євро 401 СВ. При 72 годинах вирощування рослин за мінімальної концентрації хрому на тлі максимальної нікелю гальмування росту головного кореня рослин гібрида Премія 190 МВ становило 27%, тоді як за максимальної концентрації хрому на тлі мінімального вмісту нікелю – 19,4%. Для гібрида Євро 401 СВ встановлено більший ефект гальмування росту кореня: у варіанті з максимальним вмістом нікелю на тлі мінімального хрому – на 54,6%, а за максимального вмісту хрому – на 40%. Поряд з цим встановлено, що іони хрому і нікелю в мінімальних концентраціях стимулювали ріст головного кореня у гібрида Премія 190 МВ на 16–17 %, тоді як у Євро 401 СВ – пригнічували на 33%. Загалом аналогічна закономірність спостерігалась і при продукуванні маси кореневої системи. Найбільш істотно цей ефект проявлявся у гібрида Євро 401 СВ. Зменшення маси сирової та сухої речовини рослин цього гібрида за максимального вмісту нікелю становило 50 і 28%, тоді як за максимального вмісту хрому – 40 і 20% відповідно. Отримані результати свідчать як про більший негативний ефект іонів хрому на рослини кукурудзи, так і про меншу металотолерантність проростків гібрида Євро 401 СВ в порівнянні з гібридом Премія 190 МВ до сумісної дії хрому і нікелю. Отримані результати дозволяють констатувати, що у рослин кукурудзи на початкових етапах їх онтогенетичного розвитку спостерігається більший до 15% негативний вплив іонів нікелю, ніж хрому, на приріст коренів та надземної частини, утворення сирової та сухої маси. Іони хрому і нікелю за їх сумісного внесення проявляють більший фітотоксичний ефект на розвиток кореневої системи, ніж надземної частини рослин. Встановлене, скоріш за все, пояснюється функціонуванням анатомічних та фізіолого-біохімічних бар'єрних механізмів в системі «корінь–листок» щодо надлишкової транслокації іонів металів, які спричиняють інгібуючі ефекти.

Ключові слова: кукурудза; гібриди; хром; нікель; фітотоксичність; ріст; надземна частина; коренева система.

Phytotoxicity of chromium and nickel in early stage of ontogenetic development of corn V.M.Gryshko, O.I.Lysenko

The data on phytotoxicity of the combined action of chromium and nickel ions on maize hybrids Premiya 190 MV and Euro 401 SV in laboratory vegetation experiments have been analyzed. Plants were grown during 6 days in vegetation vessels at the temperature of 26–27°C on standard Hogland-Snyder's nutrient medium, with the illumination of 15,000 lux for 16 hours per day and the aeration of nutrient medium. Then chromium and nickel compounds were added into the growth vessels. The effect of the combined action of aqueous solutions of chromium (III) and nickel (II) sulfates was studied in the following variants of the experiment: control (distilled water); 1MPC Ni²⁺+1MPC Cr³⁺; 10MPC Ni²⁺+ 1MPC Cr³⁺; 1MPC Ni²⁺+10MPC Cr³⁺; 10MPC Ni²⁺+10MPC Cr³⁺ (MPC – maximum permissible concentration). In the experiments, it was assumed that MPC of Cr is 6 mg/l and MPC of Ni is 4 mg/l. Then, after 24 and 72 hours of applying of chromium and nickel solutions, the length of the main root and the height of the aerial part and their weight were measured, and the root index value was calculated. Analysis of the data showed that the inhibitory effect of chromium and nickel ions on the growth of plant of hybrid Premiya 190 MV was 1.4 times less than that for plants of Euro 401 SV hybrid. At 72 hours of plant growth with a minimum concentration of chromium on the background of maximum nickel, the growth inhibition of main root of plants of hybrid Premiya 190 MV was 27%, while at the maximum concentration of chromium on the background of the minimum nickel content – 19.4%. For hybrid Euro 401 SV more effective inhibition of root growth was found: in the variant with the maximum nickel on the background of minimum chromium – by 54.6%, and at the maximum chromium content – by 40%. At the same time, it was

found that chromium and nickel ions in minimal concentrations stimulated the main root growth by 16–17 % in Premiya 190 MV, whereas in Euro 401 SV – suppressed by 33%. In general, the similar effects were observed for the production of weight of root system. Most significantly, this effect was revealed in the Euro 401 SV hybrid. Reducing the weight of wet and dry mass of this hybrid plants at the maximum nickel content was 50 and 28%, whereas at the maximum concentration of chromium it was 40 and 20% respectively. The obtained results indicate both the greater negative effect of chromium ions on maize plants and the lower metal tolerance of Euro 401 SV hybrid seedlings compared to the Premiya 190 MV at joint influence of chromium and nickel. The results allow to state that in maize plants at the early stages of their ontogenetic development, there is a greater up to 15% negative effect of nickel ions than chromium on the root and aerial part growth, formation of wet and dry weight. Combined action of chromium and nickel ions shows a greater phytotoxic effect on the root system development than on the aerial parts of plants. This effect is, most likely, due to the functioning of the anatomical, physiological and biochemical barrier mechanisms in the root-leaf system with respect to the excessive translocation of metal ions that cause inhibiting effects.

Key words: *maize; hybrids; chromium; nickel; phytotoxicity; growth; aerial part; root system.*

Фитотоксичность хрома и никеля на начальном этапе онтогенетического развития кукурузы **В.М.Гришко, О.И.Лысенко**

Проанализированы данные о фитотоксичности совместного действия ионов хрома и никеля на гибриды кукурузы Премия 190 МВ и Евро 401 СВ в лабораторных вегетационных опытах. Растения выращивали 6 суток в вегетационных сосудах при температуре 26–27°C на стандартной питательной среде Хогланда-Снайдерс, при освещении 15000 люкс в течение 16 часов в сутки, при аэрации питательной среды. Затем в вегетационные сосуды вносили соединения хрома и никеля. Влияние комбинированного действия водных растворов сульфатов хрома (III) и никеля (II) изучали в следующих вариантах опыта: контроль (дистиллированная вода); 1ПДКNi²⁺+1ПДКCr³⁺; 10ПДКNi²⁺+1ПДКCr³⁺; 1ПДКNi²⁺+10ПДКCr³⁺, 10ПДКNi²⁺+10ПДКCr³⁺ (ПДК – предельно допустимая концентрация элемента в почве). В опытах принимали, что ПДК Cr – 6 мг/л и ПДК Ni – 4 мг/л. Через 24 и 72 часов после внесения растворов хрома и никеля измеряли длину главного корня и высоту надземной части, и их вес, рассчитывали значение корневого индекса. Анализ данных показал, что ингибирующий эффект у гибрида Премия 190 МВ был в 1,4 раза меньше, чем у растений гибрида Евро 401 СВ. При выращивании растений в течении 72 часов на минимальной концентрации хрома на фоне максимальной никеля угнетение роста главного корня растений гибрида Премия 190 МВ составляло 27%, тогда как при максимальной концентрации хрома на фоне минимальной никеля – 19,4%. У гибрида Евро 401 СВ наблюдался больший эффект угнетения роста корня: в варианте с максимальным содержанием никеля на фоне минимального хрома – на 54,6%, а при максимальном содержании хрома – на 40%. Наряду с этим показано, что ионы хрома и никеля в минимальной концентрации стимулировали рост корня у гибрида Премия 190 МВ на 16–17 %, тогда как у Евро 401 СВ – угнетали на 33%. Эта закономерность прослеживалась и при продуцировании биомассы корневой системы. Наиболее существенно этот эффект проявлялся у гибрида Евро 401 СВ. Уменьшение массы сырого и сухого вещества у растений этого гибрида при максимальном содержании никеля составляло 50 и 28%, тогда как при максимальном содержании хрома – 40 и 20% соответственно. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют как о большем отрицательном эффекте ионов никеля на растения кукурузы, так и о меньшей металлоторантности проростков гибрида Евро 401 СВ по сравнению с гибридом Премия 190 МВ к совместному действию хрома и никеля. Полученные результаты позволяют констатировать, что у растений кукурузы на начальных этапах их онтогенетического развития наблюдается большее на 15% негативное влияние ионов хрома, чем никеля, на рост корней и надземной части, образование сырой и сухой массы. Ионы хрома и никеля при их совместном внесении оказывают больший токсический эффект на развитие корневой системы, чем надземной части растений. Установленное, скорее всего, объясняется функционированием анатомических и физиолого-биохимических барьерных механизмов в системе «корень–лист» относительно избыточной транслокации ионов металлов, вызывающих ингибирующие эффекты.

Ключевые слова: *кукуруза; гибриды; хром; никель; фитотоксичность; рост; надземная часть; корневая система.*

Вступ

До теперішнього часу встановлено, що надлишковий вміст важких металів у рослин призводить до численних структурно-функціональних змін, зокрема порушення проникності (бар'єрної функції кутикули) листків за рахунок ліпідних компонентів її поверхневого шару (Гришко, Зубровська, 2017), процесів дихання, транспірації, транспорту речовин до листків (Алексеев, 2008;

Кошкин, 2010), розвитку оксидативного стресу та погіршення функціонального стану рослин (Зубровська, Гришко, 2019). Тестування сполук важких металів на проростках кукурудзи шляхом виміру довжини зони бокових коренів та часу їх росту дозволило встановити зменшення токсичності іонів у ряду $Cu = Tl > Ag > Cd > Hg > Co > Zn > Pb$ (Іванов и др., 2003). Вирощування пшениці, кукурудзи і огірка за хронічної дії впродовж 7 діб Zn^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} (у концентраціях від 10 мкМ до 1 мМ) призводило до пришвидшення генерації супероксидного аніон-радикалу O_2^{\bullet} при збільшенні концентрації Pb^{2+} і Ni^{2+} , тоді як для Zn^{2+} такого значного ефекту не було встановлено (Сазанова и др., 2012). Експериментами болгарських науковців доведено, що фотосинтетичний апарат ячменя характеризується більшою толерантністю серед інших культур до надлишку кадмію. Поряд з цим зменшення продуктивності фотосинтезу на тлі незначних порушень ультраструктури хлоропластів обумовлюється зміною функціональної активності фотосистеми I, на противагу змінам активності фотосистеми II, які не є, на думку авторів, причиною зниження швидкості фотосинтезу. Такі негативні фізіологічні ефекти проявляються як у зменшенні кількості пагонів в процесі кушення, так і у формуванні меншого числа продуктивних пагонів, а також кількості насіння в колосі (Vassilev, 2002).

Таким чином, важкі метали при значно більшому, ніж фізіологічно необхідному, їх рівні акумуляції в рослинах можуть суттєво знижувати продуктивність культур в агроценозах. Враховуючи той факт, що зазначені елементи є одними з компонентів промислових викидів, а іони мають високу рухомість, виникає загроза їх надходження у небезпечних концентраціях до трофічних ланцюгів із продукцією рослинництва, яка вирощується поблизу промислових підприємств. Наприклад, овочева продукція, вирощена у фермерських господарствах у межах агроселітебних ландшафтів с. Тетерівки (Житомирська обл.), є забрудненою кадмієм, цинком і плумбумом. Максимальний внесок у загальну експозицію забруднювачів, що надходять у продукти харчування, вносить картопля (73–86 %), друге місце належить петрушці листовій, третє – буряку столовому та моркві столовій (Герасимчук, Валерко, 2017).

Також необхідно враховувати, що підвищення продуктивності рослинництва безпосередньо залежить від інтенсивного використання мінеральних і органічних добрив та вапнування. Застосування таких агротехнічних прийомів впливає на мікроелементний склад ґрунтів і доступність елементів для рослин (Дегодюк та ін., 2017). Нестача мікроелементів у ґрунті, як і надлишок, пригнічує ріст і розвиток рослин, знижує їх стійкість до несприятливих умов навколишнього природного середовища та хвороб. Розрізняють кілька біологічних груп рослин, що характеризуються підвищеною потребою в тих або інших мікроелементах. Так, зернові, насамперед, реагують на купрум, бобові – на молібден і бор, кукурудза – на цинк, соняшник – на бор і купрум, ріпак – на бор і манган (Господаренко, 2003; Фатеев, Захарова, 2003; Халитов, 2006), тобто потребують внесення як мікродобрив, так і звичайних мінеральних добрив, які містять певну кількість важких металів (Клименко, 2009; Макаренко, 2002). З огляду на наявні дані, інтенсивне використання добрив може призводити також до інтенсифікації їх перерозподілу в системі «ґрунт–рослина» та надходженню до продуктів харчування. В останні роки підвищився інтерес до з'ясування ролі для рослин таких мікроелементів, як нікель і хром (Chen et al., 2009; Shaikh et al., 2013). Якщо для нікелю є свідчення того, що у концентраціях до 5×10^{-5} М іони можуть позитивно впливати на проростання насіння деяких видів, то відносно хрому такі ефекти не встановлено (Крылова, 2010; Gang et al., 2013; Soni, Bhuva, 2015).

Початкові етапи формування проростків є найуразливішою частиною ювенільного етапу індивідуального розвитку рослин, коли спостерігається мінімальна стійкість до дії несприятливих факторів. У літературі здебільшого зустрічаються роботи з вивчення впливу окремих іонів важких металів на ріст та перебіг фізіологічних процесів у рослин і їх продуктивність, тоді як різні ефекти їх комбінованої дії вивчені недостатньо (Гришко, Лисенко, 2017; Заблоцька, Опашук, 2015; Кузьменко, Кузьменко, 2013; Chen et al., 2009). Зокрема в наших попередніх досліджах (Гришко, Лисенко, 2017) було вперше виділено дві групи гібридів кукурудзи за стійкістю до поодинокого та сумісного впливу іонів нікелю і хрому. До першої віднесені гібриди Тон 320 ВС, Престиж 365 МВ, Світ 400 МВ, Премія 190 МВ і Бліц 160 МВ, які проявляють високу металотолерантність. Для них характерна тенденція пригнічення проростання насіння до 10% лише високими концентраціями хрому, як за поодинокі дії, так і на тлі високих концентрацій нікелю. До другої належать гібриди Євро 401 СВ, Фонд 404 МВ і Маїс 226 МВ, що мають високу чутливість до іонів нікелю і хрому (енергія проростання і схожість насіння знижується до 63 і 37% відповідно). Тому метою роботи

було порівняти в лабораторних вегетаційних дослідах вплив сумісної дії іонів хрому і нікелю на ростові показники різних за металостійкістю гібридів кукурудзи, останнє було доведено в нашій попередній роботі (Гришко, Лисенко, 2017).

Об'єкти та методи досліджень

Об'єктами досліджень були рослини кукурудзи різних груп стиглості, районованих в степовій зоні України (Премія 190 МВ – ранньостиглий і Євро 401 СВ – середньопізній), насіння яких надала НВФ «Компанія Маїс». Перед висаджуванням насіння замочували на 1 годину в проточній воді, далі 10 хвилин витримували в 5% розчині гіпохлориду натрію, а потім промивали ще 15 хвилин у проточній воді. Після цього підготовлене насіння пророщували в термостаті за температури +25°C 4 доби на дистильованій воді до появи корінців 0,5–1,0 см довжиною. Такі проростки 5 діб вирощували у вегетаційних посудинах за температури 26–27°C на стандартному поживному середовищі Хогланда-Снайдерс, при освітленні 15000 люкс впродовж 16 годин на добу, за аерації поживного середовища. На 6-ту добу до вегетаційних посудин вносили сполуки хрому і нікелю. Вплив комбінованої дії водних розчинів сульфатів хрому (III) і нікелю (II) вивчали в наступних варіантах досліду: контроль (дистильована вода); 1ГДКNi²⁺+1ГДКCr³⁺; 10ГДКNi²⁺+1ГДКCr³⁺; 1ГДКNi²⁺+10ГДКCr³⁺; 10ГДКNi²⁺+10ГДКCr³⁺ (ГДК – гранично допустима концентрація елементу в ґрунті). У дослідах вважали, що ГДК Cr 6 мг/л і ГДК Ni 4 мг/л (СанПин 42-128-4433-87; Грицан і др., 1998). Через 24 і 72 годин після внесення розчинів хрому і нікелю проводили відповідні вимірювання довжини головного кореня і надземної частини рослини лінійкою. Значення кореневого індексу (KI) розраховували за Вількінс (Wilkins, 1978). Масу сирої речовини кореня та надземної частини рослин визначали на ВЛКТ-500. Після висушування в сушильній шафі СНОЛ 3,5 І2 за температури 105°C на вагах ВЛР-200 визначали масу сухої речовини (ГОСТ 27548-97). Повторність досліду була 3-кратною, для аналізів використовували 50 рослин. Статистичний аналіз даних проводили методами параметричної статистики (Єгоршин, Лісовий, 2005).

Результати та їх обговорення

Отримані дані динаміки росту гібридів кукурудзи свідчать про наявність загальної закономірності у зменшенні довжини головного кореня проростків гібрида Євро 401 СВ, тоді як у гібрида Премія 190 МВ в певних варіантах лабораторного вегетаційного досліду спостерігалась різноспрямована зміна цього показника (табл. 1). Так, у гібрида Євро 401 СВ вже сумісне внесення у середовище вирощування навіть мінімальних концентрацій іонів хрому та нікелю в перші 24 години призводило до зменшення довжини головного кореня. Зазначена тенденція набувала закономірності при збільшенні тривалості вирощування проростків до 72 годин. У цьому варіанті різниця довжини головного кореня від контролю становила більше 33% і була статистично достовірною (табл. 1). Тоді як у гібрида Премія 190 МВ мінімальні концентрації елементів сприяли росту головного кореня, як на 24, так і на 72 годину експерименту (довжина збільшувалась на 16–17%). Причому за менш тривалої сумісної дії навіть коли іони хрому були в максимальній концентрації (впродовж 24 годин), у рослин цього гібрида не спостерігалось статистично достовірної затримки росту головного кореня. Проте, для гібрида Євро 401 СВ встановлено зменшення довжини головного кореня проростків вже за внесення до поживного середовища Хогланда-Снайдерс хоча б одного з іонів металів у максимальній концентрації навіть за нетривалої експозиції.

Причому іони нікелю у максимальній концентрації спричинювали більший негативний ефект на ріст головного кореня, ніж іони хрому. Зокрема при внесенні хрому у мінімальній концентрації на тлі максимального вмісту нікелю у середовищі вже за 24 години вирощування довжина головного кореня у обох гібридів зменшувалась (у гібрида Премія 190 МВ на 14%, а Євро 401 СВ – на 22,8%). Аналогічний ефект встановлено і при збільшенні тривалості дії важких металів. Так, при 72 годинах вирощування рослин за мінімальної концентрації хрому на тлі максимальної нікелю гальмування росту кореня становило у першого гібрида 27%, тоді як за максимальної концентрації хрому на тлі мінімального вмісту нікелю – 19,4%, а темпи гальмування зростали в 1,4 раза. Для гібрида Євро 401 СВ встановлено більший ефект пригнічення росту головного кореня: у варіанті з максимальним вмістом нікелю на тлі мінімального хрому – на 54,6%, а за максимального вмісту хрому – на 40%, і різниця між цими варіантами була статистично достовірною. Проте необхідно відзначити, що темпи гальмування процесів росту кореня як на першу, так і на третю добу впливу

іонів важких металів збільшились в 3,3 раза і становили 4,3 і 14,5% відповідно. Тобто зі збільшенням тривалості дії максимальної концентрації іону одного з металів на тлі мінімальної іншого не встановлено зростання інтенсивності ефекту гальмування приросту головного кореня проростків кукурудзи гібрида Євро 401 СВ.

Таблиця 1.

Довжина головного кореня гібридів кукурудзи, мм, $n=50$

Варіант досліду	24 години післядії				72 години післядії			
	$M \pm m$	% до контролю	T_{st}	KI	$M \pm m$	% до контролю	T_{st}	KI
Премія 190 МВ								
Контроль	221,1±8,4	—	—	—	264,6±12,3	—	—	—
1ГДКNi ²⁺ +1ГДКСr ³⁺	259,0±9,6	117,2	3,0	1,2	306,3±11,8	115,6	2,4	1,2
10ГДКNi ²⁺ +1ГДКСr ³⁺	190,4±9,8	86,1	2,4	0,9	193,3±5,9	73,0	5,2	0,7
1ГДКNi ²⁺ +10ГДКСr ³⁺	203,2±8,0	91,9	1,5	0,9	213,4±7,8	80,6	3,5	0,8
10ГДКNi ²⁺ +10ГДКСr ³⁺	139,3±4,0	63,0	8,8	0,6	169,9±3,6	64,2	7,4	0,6
Євро 401 СВ								
Контроль	206,0±7,1	—	—	—	320,9±5,5	—	—	—
1ГДКNi ²⁺ +1ГДКСr ³⁺	198,6±7,6	96,4	0,7	1,0	213,3±7,8	66,7	11,3	0,7
10ГДКNi ²⁺ +1ГДКСr ³⁺	159,5±5,7	77,2	5,1	0,8	145,8±4,6	45,4	24,4	0,5
1ГДКNi ²⁺ +10ГДКСr ³⁺	168,9±7,8	81,5	3,6	0,8	192,2±4,2	59,9	18,6	0,6
10ГДКNi ²⁺ +10ГДКСr ³⁺	133,4±4,2	64,8	8,8	0,6	130,9±3,4	40,8	29,4	0,4

Примітка: T_{st} – фактичне значення t -критерію Стьюдента; стандартне значення t -критерію Стьюдента = 2,0 при $p < 0,05$.

Узагальнення результатів різноспрямованої сумісної дії іонів хрому і нікелю на ріст головного кореня у досліджених гібридів, яка проявлялась у статистично достовірному зменшенні довжини головного кореня проростків гібрида Євро 401 СВ, в порівнянні з гібридом Премія 190 МВ, а також відсутність негативного впливу на ріст головного кореня у рослин останнього гібрида при вирощуванні впродовж доби на поживному середовищі Хогланда-Снайдерс у варіанті коли іони хрому були у максимальній концентрації на тлі мінімальної кількості іонів нікелю, свідчить про більшу стійкість рослин гібрида Премія 190 МВ. Зазначене може пояснюватись отриманими нами раніше результатами про меншу металотолерантність проростків Євро 401 СВ до дії хрому та нікелю під час проростання кукурудзи (Гришко, Лисенко, 2017). Проте, з подовженням дії іонів хрому та нікелю до 3 діб в цьому варіанті досліду відмічене статистично достовірне пригнічення росту головного кореня проростків у гібрида Премія 190 МВ на 19%. Однак необхідно констатувати, що воно було на 28% меншим, ніж для менш стійкого гібрида Євро 401 СВ.

Аналіз результатів вегетаційного лабораторного експерименту свідчить, що на тлі максимальних концентрацій іонів хрому спостерігалось статистично достовірне гальмування росту головного кореня проростків у гібрида Премія 190 МВ, причому зі збільшенням тривалості дії до 72 годин пригнічення росту головного кореня спостерігалось і у варіанті з максимальною концентрацією нікелю на тлі мінімального вмісту хрому (табл. 1). Разом із цим, необхідно констатувати, що у гібрида Премія 190 МВ під впливом сумісного внесення іонів нікелю та хрому у максимальній концентрації, на відміну від гібрида Євро 401 СВ, не спостерігалось зростання ефекту пригнічення росту головного кореня із подовженням тривалості дії токсикантів до 72 годин. Так, якщо у проростків гібрида Євро 401 СВ довжина головного кореня у зазначеному вище варіанті досліду за першу добу зменшувалась до 65%, а впродовж 72 годин до 41% до контролю, то у проростків гібрида Премія 190 МВ воно коливалось в межах 63–64 %.

Розрахунок значень KI показує, що за сумісного впливу іонів хрому і нікелю у концентрації 1 ГДК на 24 годину дії у гібрида Премія 190 МВ простежується стимуляція росту головного кореня, тоді як у Євро 401 СВ така тенденція не простежується (KI становить 1,2 та 1,0 відповідно). У варіантах досліду, коли хоча б один з елементів був у максимальній концентрації на тлі мінімальної іншого (10ГДКNi²⁺+1ГДКСr³⁺ і 1ГДКNi²⁺+10ГДКСr³⁺), значення KI для першого зменшувались до 0,7, а

другого – до 0,5. Також необхідно констатувати, що для гібрида Євро 401 СВ він був меншим на 11%, що також свідчить про більшу фітотоксичність сумісної дії іонів досліджених елементів на цей гібрид. Проте необхідно зазначити, що за дії іонів хрому і нікелю в максимальній концентрації впродовж 24 годин КІ був однаковим для обох гібридів. З подовженням до 72 годин впливу іонів металів у мінімальній концентрації у рослин Премія 190 МВ також спостерігається активація стимулювання ростових процесів, тоді як у Євро 401 СВ ріст головного кореня гальмується на 30%. З підвищенням вмісту іонів важких металів у поживному середовищі для гібрида Євро 401 СВ встановлено суттєвіше пригнічення росту головного кореня, в порівнянні з рослинами Премія 190 МВ (КІ становить 0,4 і 0,6 відповідно). Загальною тенденцією для обох гібридів кукурудзи є більша токсична дія сполук нікелю у порівнянні з хромом. Встановлене пояснюється особливостями транслокації хрому до різних органів рослин, у порівнянні з нікелем. Так, дослідями на *Sinapis alba* L. встановлено, що хоча хрому і акумулювалось більше в коренях, нікель розподілявся більш рівномірно по органах проростку, проте абсолютні значення вмісту нікелю в коренях були в 1,7 раза більшими, у порівнянні з хромом (Fargasova, 2009).

Порівнюючи дію іонів нікелю та хрому в усіх варіантах лабораторних дослідів, необхідно констатувати, що для всіх досліджених гібридів була характерна закономірність меншого негативного впливу надлишку іонів хрому та нікелю на ріст надземної частини проростків в порівнянні із кореневою (табл. 2). Так, якщо за сумісної дії іонів металів у максимальній концентрації впродовж 24 і 72 годин довжина головного кореня у проростків гібрида кукурудзи Євро 401 СВ становила 65 і 45% до контролю, то довжина надземної частини – 77 і 61% відповідно. У гібрида Премія 190 МВ за 24 години вирощування при максимальній концентрації іонів різниця між пригніченням довжини головного кореня та надземної частини становила 20%. Про аналогічні ефекти важких металів свідчать і дослідження фітотоксичності інших металів. Так, у вегетаційних експериментах на гороху, сої та кукурудзи за поодинокі дії надлишкових концентрацій хлоридів, сульфатів та нітратів нікелю і кадмію встановлено суттєвіше пригнічення росту кореневої системи проростків у порівнянні з надземною (Гришко, Сищиков, 2012). Зазначене автор пояснює більшими темпами акумуляції важких металів коренями, ніж листками проростків. У дослідях з ріпаком і соняшником, виконаних львівськими науковцями, відмічається значно вища акумуляція цинку в тканинах кореневої системи порівняно з листками, що, на їх думку, обумовлюється функціонуванням захисних бар'єрних механізмів у системі корінь–листок, які гальмують надходження токсикантів до надземних частин рослин (Гащицин, Пацула, 2014).

Таблиця 2.

Висота надземної частини гібридів кукурудзи, мм, $n=50$

Варіант досліду	24 години післядії			72 години післядії		
	$M \pm m$	% до контролю	T_{st}	$M \pm m$	% до контролю	T_{st}
Премія 190 МВ						
Контроль	195,8±7,0	—	—	287,3±8,1	—	—
1ГДКNi ²⁺ +1ГДКCr ³⁺	192,7±5,8	98,4	0,3	243,1±12,6	84,6	3,0
10ГДКNi ²⁺ +1ГДКCr ³⁺	180,1±6,6	92,0	1,6	205,2±6,7	71,4	7,8
1ГДКNi ²⁺ +10ГДКCr ³⁺	179,7±6,7	91,8	1,6	219,6±9,7	76,4	5,3
10ГДКNi ²⁺ +10ГДКCr ³⁺	163,0±7,6	83,2	3,2	198,8±6,0	69,2	8,8
Євро 401 СВ						
Контроль	165,7±5,5	—	—	236,2±7,6	—	—
1ГДКNi ²⁺ +1ГДКCr ³⁺	162,1±6,5	97,8	0,4	231,2±6,9	97,9	0,5
10ГДКNi ²⁺ +1ГДКCr ³⁺	150,7±6,0	90,9	1,8	159,9±5,0	67,7	8,4
1ГДКNi ²⁺ +10ГДКCr ³⁺	163,0±7,6	99,6	0,3	162,9±6,4	69,0	7,4
10ГДКNi ²⁺ +10ГДКCr ³⁺	126,8±4,8	76,5	5,3	144,3±4,9	61,1	10,2

Примітка: T_{st} – фактичне значення t -критерію Стьюдента; стандартне значення t -критерію Стьюдента = 2,0 при $p < 0,05$.

Порівняння інтенсивності негативного впливу хрому і нікелю на висоту надземної частини проростків двох гібридів кукурудзи свідчить, що у більшості випадків спостерігається тенденція до суттєвішого гальмування росту у гібрида Євро 401 СВ, у порівнянні з гібридом Премія 190 МВ. Наприклад, за сумісної дії іонів у максимальній концентрації впродовж 24 годин висота проростків першого гібрида становила 77% до контролю, тоді як у гібрида Премія 190 МВ – 83%. З продовженням дії до 72 годин гальмування становило 39 і 31% відповідно. Таким чином, отримані результати також можна розглядати як підтвердження більшої металотолерантності проростків гібрида Премія 190 МВ, у порівнянні з Євро 401 СВ. При обговоренні отриманих результатів слід зауважити, що такі ефекти можуть обумовлюватись різною акумуляційною здатністю гібридів. Так, вивчення накопичення купруму і плюмбуму шістьма гібридами і сортами капусти білокачанної довело меншу здатність акумулювати метали саме ранньостиглими сортами і гібридами (Надежкіна и др., 2016). Іншим поясненням цього факту можуть бути відмінності у функціонуванні антиоксидантних систем захисту. Наприклад, Г.Россихіною встановлено, що під впливом стресових факторів (посуха, гербіциди та їх комбінації) у ранньостиглого гібрида кукурудзи Білозірський 295 СВ утворюється менша кількість радикалів супероксид-аніону, які активно знешкоджуються ферментативними системами супероксиддисмутази та каталази, на відміну від середньостиглого гібрида Дніпровський 310 МВ (Россихіна, 2010).

Результати визначення ваги сирої та сухої речовини кореневої системи проростків кукурудзи на 72 годину сумісної дії іонів хрому і нікелю показують, що за мінімальної концентрації обох іонів маса сирої речовини у гібрида Премія 190 МВ статистично достовірно не відрізняється від контролю або навіть зростає на 14%, тоді як у гібрида Євро 401 СВ біомаса зменшується майже на 12–20 % (рис. 1).

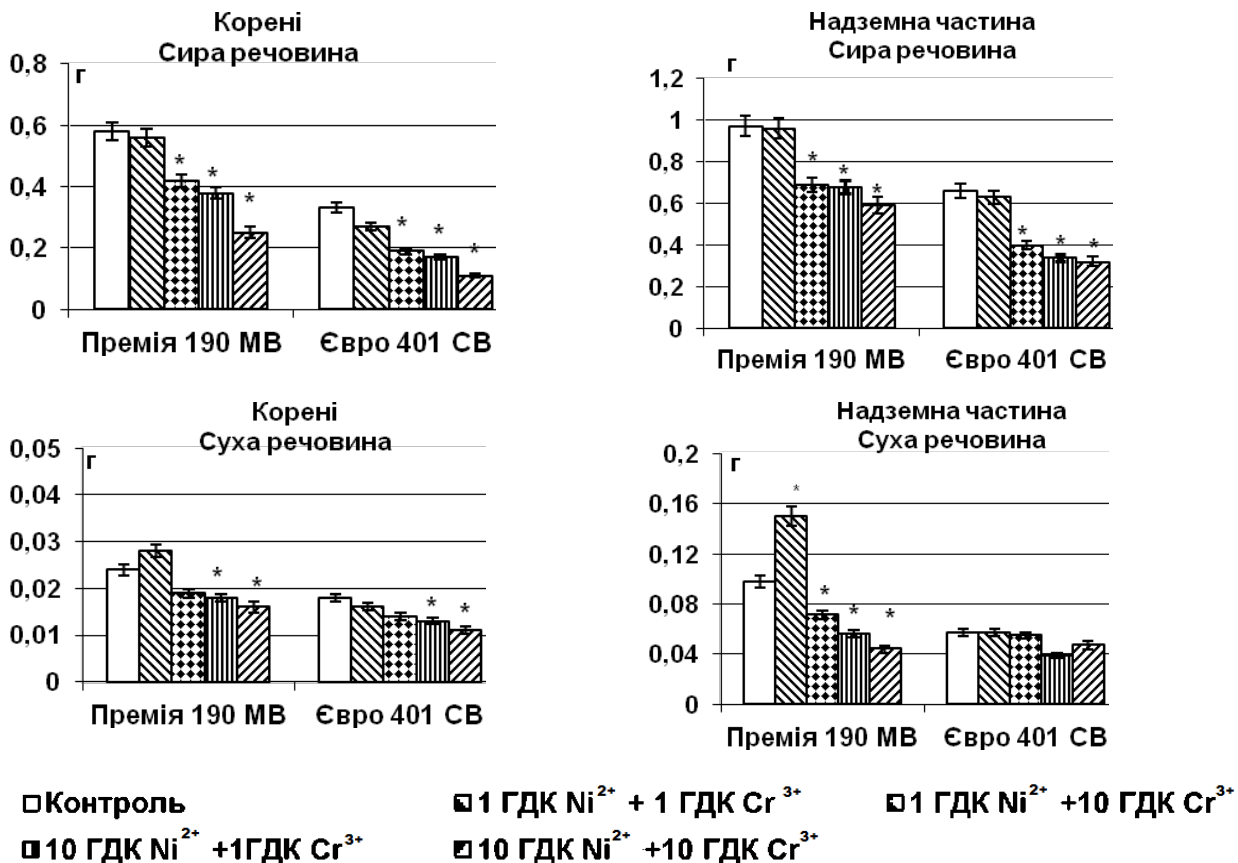


Рис. 1. Маса сирої і сухої речовини коренів і надземної частини гібридів кукурудзи Премія 190 МВ і Євро 401 СВ, г, n=50

Аналізуючи наведені результати, можна констатувати, що нікель у максимальній концентрації на тлі мінімальної іонів хрому проявляв суттєвіший інгібуючий ефект на біосинтез маси кореневої системи, ніж навпаки. Найбільш яскраво цей ефект проявлявся у гібрида Євро 401 СВ. Так, для його проростків було характерним зменшення маси сирі та сухої речовини за максимального вмісту нікелю в поживному середовищі Хогланда-Снайдерс на 50 і 28%, тоді як за максимального вмісту хрому – на 40 і 20% (рис. 1).

Співставлення рівня вищенаведених інгібуючих ефектів для досліджених гібридів показало, що у проростків гібрида Премія 190 МВ він був у 1,3 раза менший, ніж у рослин гібрида Євро 401 СВ. Загалом аналогічна закономірність спостерігалась і для маси сухої речовини рослин. Причому у гібрида Премія 190 МВ статистично достовірний негативний вплив на біосинтез сухої речовини був на 15% більший за дії іонів обох металів у максимальній концентрації, у порівнянні з Євро 401 СВ. Також необхідно констатувати, що пригнічення накопичення маси сирі речовини для обох вивчених гібридів, коли один з елементів був у максимальній концентрації, був суттєвіший, ніж сухої речовини. Тобто отримані результати свідчать як про більший негативний ефект іонів хрому на рослини кукурудзи, так і про меншу металотолерантність до сумісної дії хрому і нікелю проростків гібрида Євро 401 СВ в порівнянні з гібридом Премія 190 МВ, а значний надлишок нікелю у поживному середовищі, у порівнянні з хромом, проявляв більший негативний ефект практично на всі ростові показники гібридів.

Висновки

Підсумовуючи вищенаведені результати, можна констатувати, що у рослин кукурудзи на початкових етапах їх онтогенетичного розвитку на приріст головного кореня та надземної частини, утворення сирі та сухої маси спостерігається більший до 15% негативний вплив іонів нікелю, ніж хрому. Іони хрому і нікелю за їх сумісного внесення проявляють більший фітотоксичний ефект на розвиток кореневої системи, ніж надземної частини рослин. Встановлене, скоріш за все, пояснюється функціонуванням анатомічних та фізіолого-біохімічних бар'єрних механізмів в системі «корінь–листок» щодо надлишкової транслокації іонів металів, які спричинюють інгібуючі ефекти. Порівняння металостійкості гібридів до іонів хрому і нікелю свідчить, що гібрид Премія 190 МВ є більш стійким, ніж Євро 401 СВ.

Список літератури / References

- Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. – М.: ПИЯФ РАН, 2008. – 216с. /Alekseyev Yu.V. Heavy metals in soils and plants. – M.: PNPI RAS, 2008. – 216p./
- Гащишин В.Р., Пацула О.І. Накопичення важких металів у рослинах *Brassica napus* L. та *Helianthus annuus* L. під впливом солей цинку та регулятора росту // Физиология растений и генетика. – 2014. – Т.46, №4. – С. 343–350. /Gashchishin V.R., Patsula O.I. Accumulation of heavy metals in *Brassica napus* L. and *Helianthus annuus* L. plants under the influence of zinc salts and growth regulator // Plant Physiology and Genetics. – 2014. – Vol.46, no. 4. – P. 343–350./
- Герасимчук Л.О., Валерко Р.А. Екологічна оцінка якості овочевої продукції агроселітебних територій приміської зони м. Житомира // Агроєкологічний журнал. – 2017. – №3. – С. 76–82. /Gerasymchuk L.O., Valerko R.A. Ecological assessment of quality of vegetable production of agro-settlement territories of the suburban area of Zhitomir // Agroecological Journal. – 2017. – No.3. – P. 76–82./
- Господаренко Г.М. Агрохімія мінеральних добрив – К.: Науковий світ, 2003. – 136с. /Gospodarenko G.M. Agrochemistry of mineral fertilizers. – Kyiv: Naukovy svit, 2003. – 136 p./
- Грицан Н.П., Шпак Н.В., Шматков Г.Г. и др. Экологические основы природопользования. – Днепропетровск: ИППЭ НАН Украины, 1998. – 409с. /Gritsan N.P., Shpak N.V., Shmatkov G.G. et al. Ecological basis of ecosystem exploitation. – Dnepropetrovsk: Institute for Nature Management Problems and Ekology of the National academy of Sciences of Ukraine, 1998. – 409p./
- Гришко В.М., Зубровська О.М. Вплив важких металів на процеси пероксидного окиснення та склад ліпідних компонентів поверхневого шару кутикули листків деревних рослин // Физиология растений и генетика. – 2017. – Т.49, №5. – С. 444–451. /Grishko V.M. Zubrovs'ka O.M. Influence of heavy metals on peroxidation processes and composition of cuticle surface layer lipid components of trees leaves // Plant Physiology and Genetics. – 2017. – Vol.49, no.5. – P. 444–451./
- Гришко В.М., Лисенко О.І. Стійкість гібридів кукурудзи до стресового впливу хрому і нікелю на початку ювенільного етапу розвитку рослин // Агроєкологічний журнал. – 2017. – №3. – С. 82–88. /Grishko V.M. Lysenko O.I. Stability of corn hybrids to stress effects of chromium and nickel at the beginning of juvenile stage of plant development // Agroecological Journal. – 2017. – No.3. – P. 82–88./

- Гришко В.М., Сищиков Д.В. Функционирование глутатионзависимой антиоксидантной системы и устойчивость растений при действии тяжёлых металлов и фтора. – К.: Наукова думка, 2012. – 239с. /Grishko V.M., Sishchikov D.V. The functioning of the glutathione-dependent antioxidant system and the resistance of plants to heavy metals and fluorine. – Kyiv: Naukova Dumka, 2012. – 239p./
- ГОСТ 27548–97. Корма растительные. Методы определения содержания влаги. – Минск: Изд-во стандартов, 2005. – 7с. /GOST 27548–97. Vegetable feed. Methods for determining the moisture content. - Minsk: Publishing House of Standards, 2005. – 7p./
- Дегодюк С.Е., Літвінова О.А., Дмитренко О.В., Молдаван Л.П. Вплив добрив на накопичення мікроелементів і важких металів у сірому лісовому ґрунті // Агроекологічний журнал. – 2017. – №3. – С. 61–65. /Degodiuk S.Ye., Litvinova O.A., Dmitrenko O.V., Moldavan L.P. Influence of fertilizers on the accumulation of trace elements and heavy metals in gray forest soil // Agroecological Journal. – 2017. – No.3. – P. 61–65./
- Єгоршин О.О., Лісовий М.В. Математичне планування польових дослідів та статистична обробка експериментальних даних. – Харків: Вид-во Ін-ту ґрунтознавства та агрохімії ім. О.Н.Соколовського, 2005. – 193с. /Yegorshin O.O., Lisovy M.V. Mathematical planning of field experiments and statistical processing of experimental data. – Kharkov: Publishing House of the Institute for Soil Science and Agrochemistry Research n.a. O.N.Sokolovsky, 2005. – 193p./
- Заблоцька О.С., Опащук Н.М. Реакція проростків пшениці озимої на дію мікроелементів (Cu²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺) в умовах водної культури // Агроекологічний журнал. – 2015. – №4. – С. 90–96. /Zablotskaya O.S., Opashchuk N.M. The response of winter wheat seedlings to the action of trace elements (Cu²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺) under water culture // Agroecological Journal. – 2015. – No.4. – P. 90–96./
- Зубровська О.М., Гришко В.М. Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та функціональний стан деревних насаджень при забрудненні довкілля важкими металами // Український ботанічний журнал. – 2019. – №5. – С. 458–468. /Zubrovska O.M., Grishko V.M. Intensity of lipid peroxidation processes and state of tree plantations under heavy metal pollution // Ukrainian Botanical Journal. – 2019. – No.5. – P. 458–468./
- Иванов В.Б., Быстрова Е.И., Серегин И.В. Сравнение влияния тяжелых металлов на рост корня в связи с проблемой специфичности и избирательности их действия. // Физиология растений. – 2003. – Т.50, №3. – С. 445–454. /Ivanov V.B., Bystrova Ye.I., Seregin I.V. Comparison of the influence of heavy metals on root growth in connection with the problem of the specificity and selectivity of their action // Plant Physiology. – 2003. – Vol.50, no.3. – P. 445–454./
- Клименко І.І. Вплив добрив на накопичення важких металів у темно-сірому опідзоленому ґрунті // Вісник аграрної науки. – 2009. – №6. – С. 67–69. /Klimenko I.I. Influence of fertilizers on the accumulation of heavy metals in dark gray podzolized soil // Bulletin of Agrarian Science. – 2009. – No.6. – P. 67–69./
- Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – М.: Дрофа, 2010. – 638с. /Koshkin Ye.I. Physiology of crop sustainability. – Moscow: Drofa, 2010. – 638p./
- Крылова Е.Г. Влияние сульфата никеля на прорастание семян в развитие проростков прибережноводных растений // Журнал Сибирского федерального университета. Серия Биология. – 2010. – Т.3, №1. – С. 99–106. /Krylova Ye.G. The effect of nickel sulfate on seed germination in the development of seedlings of near-water plants // Journal of the Siberian Federal University. Seriya Biology. – 2010. – Vol.3, no.1. – P. 99–106./
- Кузьменко Є.І., Кузьменко А.С. Оцінка фітотоксичності важких металів в умовах моно- і поліелементного забруднення ґрунту // Агроекологічний журнал. – 2013. – №1. – С. 33–35. /Kuzmenko Ye.I., Kuzmenko A.S. Assessment of phytotoxicity of heavy metals under conditions of mono- and polyelement soil contamination // Agroecological Journal. – 2013. – No.1. – P. 33–35./
- Макаренко Н.А. Агроекологічна оцінка мінеральних добрив за впливом на ґрунтову систему. Автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук / 03.00.16. – К., 2002. – 16с. /Makarenko N.A. Agroecological estimation of mineral fertilizers after influence system. Abstract of Dr. Sciences (Biology) thesis / 03.00.16. – Kyiv, 2002. – 16p./
- Надежкина Е.В., Соловьев А.В., Молодова О.В., Ларина М.О. Биоаккумуляция элементов в различных сортах и гибридах капусты // Овощеводство и тепличное хозяйство. – 2016 – №5. – С. 53–58. /Nadezhkina Ye.V., Soloviev A.V., Molodova O.V., Larina M.O. Bioaccumulation of elements in various varieties and hybrids of cabbage // Vegetable Growing and Greenhouse Farming. – 2016. – No.5. – P. 53–58./
- СанПин 42-128-4433-87. Санитарные нормы допустимых концентраций химических веществ в почве. – М.: Б.и., 1988. – 32с. /SanPin 42-128-4433-87. Sanitary standards for permissible concentrations of chemicals in the soil. – Moscow, 1988. – 32p./
- Россихіна Г. Стан антиоксидантної ферментативної системи рослин кукурудзи за дії ґрунтових гербіцидів і посухи // Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна. – 2010. – Вип.53. – С. 188–198. /Rossikhina G. State of antioxidant enzymatic system of maize plants under the action of soil herbicides and drought // Visnyk of Lviv University. Biology Series. – 2010. – Vol.53. – P. 188–198./
- Сазанова К.А., Башмаков Д.И., Лукатин А.С. Генерация супероксидного анион-радикала в листьях растений при хроническом действии тяжелых металлов // Труды Карельского научного центра РАН. – 2012. – №2. – С. 119–124. /Sazanova K.A., Bashmakov D.I, Lukatin A.S. The generation of superoxide anion,

radical in plant leaves under the chronic action of heavy metals // Transactions of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences. – 2012. – No.2. – P. 119–124./

Фатеев А.Н., Захарова М.А. Основы применения микроудобрений. – Х., 2003. – 110с. /Fateyev A.N., Zakharova M.A. Fundamentals of the use of micronutrient fertilizers. – Kharkov, 2003. – 110p./

Халитов Н.Г. Содержание макроэлементов и тяжелых металлов в полевых культурах // Земледелие. – 2006. – №2. – С.28. /Khalitov N.G. The content of macronutrients and heavy metals in field crops // Agriculture. – 2006. – No.2. – P.28./

Chen C., Huang, Liu J. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects // Journal of Clean Soil, Air, Water. – 2009. – Vol.37 (4–5). – P. 304–313.

Fargasova A. Phytotoxicity of chromium and nickel // Ecological Chemistry and Engineering S. – 2009. – Vol.15, no.3. – P. 335–347.

Gang A., Vyas H., Vyas A. A study of heavy metal toxicity on germination and seedling growth of soybean // Sciences Secure Journal of Biotechnology. – 2013. – No.2. – P. 5–9.

Shaikh I.R., Shaikh P.R., Shaikh R.A., Shaikh A.A. Phytotoxic effect of heavy metals (Cr, Cd, Mn and Zn) on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedling growth in black cotton soil of Nanded, India // Research Journal of Chemical Sciences. – 2013. – Vol.3 (6). – P. 14–23.

Soni K.V., Bhuvu B.D. Effect of chromium and manganese metal on biomass and growth rate of some pulses // International Journal of Pharma and Biosciences. – 2015. – Vol.6, no.2 (B). – P. 67–78.

Vassilev A. Physiological and agroecological aspects of cadmium interactions with barley plants: an overview // J. Central Eur. Agric. – 2002. – Vol.4, no.1. – P. 65–74.

Wilkins D.A. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth // New Phytol. – 1978. – Vol.80, no.3. – P. 623–633.

Представлено: Ю.В.Карпець / Presented by: Yu.V.Karpets

Рецензент: О.О.Авксентьєва / Reviewer: O.O.Avksentieva

Подано до редакції / Received: 12.02.2019

Про авторів: В.М.Гришко – Криворізький ботанічний сад НАН України, вул. Маршака, 50, м. Кривий Ріг, Україна, 50089, vitgryshko@i.ua, <https://orcid.org/0000-0002-1680-5175>

О.І.Лисенко – Криворізький ботанічний сад НАН України, вул. Маршака, 50, м. Кривий Ріг, Україна, 50089, olyalis080991@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9746-7488>

About the authors: V.M.Gryshko – Kryvyi Rih Botanical Garden NAS of Ukraine, Marshak Str., 50, Kryvyi Rih, Ukraine, 50089, vitgryshko@i.ua, <https://orcid.org/0000-0002-1680-5175>

O.I.Lysenko – Kryvyi Rih Botanical Garden NAS of Ukraine, Marshak Str., 50, Kryvyi Rih, Ukraine, 50089, olyalis080991@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9746-7488>

Об авторах: В.Н.Гришко – Криворожский ботанический сад НАН Украины, ул. Маршака, 50, г. Кривой Рог, Украина, 50089, vitgryshko@i.ua, <https://orcid.org/0000-0002-1680-5175>

О.И.Лысенко – Криворожский ботанический сад НАН Украины, ул. Маршака, 50, г. Кривой Рог, Украина, 50089, olyalis080991@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9746-7488>

*** ДО 100-РІЧЧЯ З ДНЯ НАРОДЖЕННЯ О.С.ЛИСЕЦЬКОГО
(1919–1991) ***
*** TO THE 100TH ANNIVERSARY OF THE BIRTH OF A.S.LYSETSKY
(1919–1991) ***

УДК: 929Лисецький:[59.092](477)

**Олександр Сергійович Лисецький – до 100-річчя з дня народження
Т.А.Атемасова**

Приводяться біографічні відомості та наукові доробки Олександра Сергійовича Лисецького (1919–1991) – одного з провідних зоологів Харківського університету. Навчання студента О.С.Лисецького на біологічному факультеті Харківського університету було перервано роками Другої світової війни, яку він пройшов у лавах танкового підрозділу. Тільки у 1948 р. він закінчив кафедру зоології хребетних і надалі працював тут до кінця життя. Олександр Сергійович Лисецький мав праці з орнітології та теріології, охорони природи; створив видатну колекцію лускокрилих; є автором чималих наукових колекцій птахів та ссавців, що зберігаються у Музеї природи університету. Всі ці доробки науковця розглянуто разом із деталями його наукової біографії, історією досліджень, що неподільна з історією кафедри зоології хребетних. За 45 років роботи у Харківському університеті О.С.Лисецький брав участь у всіх експедиціях під керівництвом професора І.Б.Волчанецького в рамках науково-дослідницької тематики кафедри. У 1948–50 рр. приймав участь у дослідженнях фауни околиць оз. Ельтон. У 1950–52 рр. – на дослідній меліоративній станції Інституту гідротехніки та меліорації АН УРСР брав участь у вивченні впливу зрошення та полезахисного розведення на фауну. Разом з експедицією під керівництвом професора І.Б.Волчанецького досліджував птахів широколистяних лісів північного сходу України – як джерела збагачення новостворених захисних лісосмуг корисною фауною. У 1965 р. захистив кандидатську дисертацію, присвячену ссавцям полів штучного зрошення (керівник – професор І.Б.Волчанецький). У 60–80 рр. О.С.Лисецький багато зробив для вивчення фауни Харківської області – вперше опублікував фундаментальне зведення з орнітофауни ізюмських лісів; вивчав орнітофауну м. Харкова, брав участь у створенні першого проекту національного парку «Гомільшанський». Багато зробив Олександр Сергійович і як популяризатор науки – читав лекції у народному університеті «Природа», публікував цікаві популярні статті у періодичних виданнях тощо. О.С.Лисецький лишив помітний слід у науковій долі багатьох вихованців кафедри зоології Харківського університету, прищепивши навички справжнього польового дослідника – сумлінного, працюючого, безкінечно закоханого у свою справу.

Ключові слова: *Лисецький Олександр Сергійович; зоологія; біографія.*

**Alexander Sergeyevich Lisetskiy – to the 100th anniversary of the birth
Т.А.Атемасова**

Biographical information and brief information on the scientific activities of Alexander Sergeyevich Lisetskiy (1919–1991), one of the leading zoologists at Kharkov University, are provided. The study of student A.S.Lisetskiy at the Faculty of Biology of Kharkov University was interrupted by the years of the World War II, which he passed in tank division. Only in 1948 he graduated from the Department of Vertebrate Zoology and then worked here until the end of his life. Alexander Sergeevich Lisetskiy was the author of scientific works on ornithology, theriology and nature conservation; created an outstanding collection of Lepidoptera; he is the author of significant scientific collections of birds and mammals, which are preserved in the University's Museum of Nature. The entire scientific legacy of the scientist is considered together with the details of his scientific biography, the history of research, inseparable from the history of the Department of Vertebrate Zoology. Over 45 years of work at Kharkov University, A.S.Lisetskiy took part in all the expeditions of the department under the direction of I.B.Volchanetsky in the framework of the research topics of the department. In 1948–50 he took part in the study of the fauna of Lake Elton. In 1950–52, at the experimental reclamation station of the Institute of Hydrotechnics and Land Reclamation of the Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, he participated in the study of the effect of irrigation and field-protective breeding on the fauna. Together with the expedition, under the guidance of Professor I.B.Volchanetsky, he studied birds of deciduous forests of northeastern Ukraine – as a source of enrichment of the created protective forest belts with useful fauna. In 1965 he defended his thesis on mammals of artificial irrigation fields (supervised by professor

I.B.Volchanetsky). In 1960–80 A.S.Lisetskiy did a lot to study the fauna of the Kharkov region – for the first time published a fundamental summary of the avifauna of the Izyum forests; studied the avifauna of Kharkov, participated in the creation of the first project of the national park "Gomolshansky." Alexander Sergeyevich did a lot as a popularizer of science – he lectured at the People's University "Nature", published interesting popular articles in periodicals. A.S.Lisetskiy left a noticeable mark on the scientific fate of many students of the Department of Zoology of Kharkov University, transferring the skills of a real field researcher – conscientious, hardworking, infinitely in love with his job.

Key words: *Alexander Lisetskiy; zoology; biography.*

Александр Сергеевич Лисецкий – к 100-летию со дня рождения Т.А.Атемасова

Приводятся биографические сведения и краткая информация о научной деятельности Александра Сергеевича Лисецкого (1919–1991) – одного из ведущих зоологов Харьковского университета. Учеба студента А.С.Лисецкого на биологическом факультете Харьковского университета была прервана годами Второй мировой войны, которую он прошел в танковых частях. Только в 1948 г. он закончил кафедру зоологии позвоночных и затем работал здесь до конца жизни. Александр Сергеевич Лисецкий был автором работ по орнитологии и териологии, охране природы; создал выдающуюся коллекцию чешуекрылых; является автором значительных научных коллекций птиц и млекопитающих, которые сохраняются в Музее природы университета. Все научное наследие ученого рассматривается вместе с деталями его научной биографии, историей исследований, неразделимой с историей кафедры зоологии позвоночных. За 45 лет работы в Харьковском университете А.С.Лисецкий принимал участие во всех экспедициях кафедры под руководством И.Б.Волчанецкого в рамках научно-исследовательской тематики кафедры. В 1948–50 гг. принимал участие в исследованиях фауны оз. Эльтон. В 1950–52 гг. – на опытной мелиоративной станции Института гидротехники и мелиорации АН УССР участвовал в изучении влияния орошения и полезащитного разведения на фауну. Вместе с экспедицией под руководством профессора И.Б.Волчанецкого исследовал птиц широколиственных лесов северо-востока Украины – как источника обогащения создаваемых защитных лесополос полезной фауной. В 1965 г. защитил кандидатскую диссертацию, посвященную млекопитающим полей искусственного орошения (руководитель – профессор И.Б.Волчанецкий). В 1960–80 гг. А.С.Лисецкий много сделал для изучения фауны Харьковской области – впервые опубликовал фундаментальную сводку по орнитофауне изюмских лесов; изучал орнитофауну г. Харькова, участвовал в создании первого проекта национального парка «Гомольшанский». Много сделал Александр Сергеевич и как популяризатор науки – читал лекции в народном университете «Природа», публиковал интересные популярные статьи в периодических изданиях и т.д. А.С.Лисецкий оставил заметный след в научной судьбе многих воспитанников кафедры зоологии Харьковского университета, передав навыки настоящего полевого исследователя – добросовестного, трудолюбивого, бесконечно влюбленного в свое дело.

Ключевые слова: *Лисецкий Александр Сергеевич; зоология; биография.*

25 марта 2019 г. исполнилось 100 лет со дня рождения Александра Сергеевича Лисецкого – человека, большая часть жизни которого связана с биологическим факультетом; человека, которого несколько поколений выпускников биологического факультета вспоминает как легенду.

Родился А.С.Лисецкий 25 марта 1919 г. в г. Немиров на Винничине. В самом раннем детстве, лишившись умершего от тифа отца, служащего железнодорожной станции, жил в семье сестры. В 1927 г. поступил в школу в г. Винница, затем продолжал обучение в Хмельницке, в Киеве и, наконец, в 1934 г. вместе с семьей сестры переезжает в Харьков. Здесь он занимался в зоологическом кружке при Дворце пионеров, много экскурсировал в окрестностях города под руководством В.Г.Аверина. По воспоминаниям А.С.Лисецкого, совместные экскурсии с В.Г.Авериним сопровождалась добычей интересных экземпляров птиц (без ружья орнитологи тех лет редко выходили в поле). В известной степени можно считать А.С.Лисецкого учеником Виктора Григорьевича Аверина.

В 1938 г., отлично окончив среднюю школу, А.С.Лисецкий поступил в Днепропетровский горный институт, но еще до начала занятий перевелся на биологический факультет Харьковского университета (Кривицкий, 1999). Нападение фашистской Германии 22 июня 1941 г. застало студентов 3 курса по дороге на Белое море – на производственную практику.

С 1 августа 1941 г. А.С.Лисецкий – курсант 2 курса Харьковского танкового училища, а через полгода – командир танка на Сталинградском фронте. 2 августа 1942 г. в боях на подступах к Сталинграду был ранен и до марта 1943 г. находился в госпитале. После выздоровления был направлен командиром взвода, а потом роты в танковую бригаду, дислоцированную в Грузии.

В фондах Музея природы университета сохранились тушки птиц с этикетками: «окр. Тбилиси. 13.I.1943. А.С.Лисецкий»; «Кутаиск. р-н, с. Гегути. 6.XII.1945. А.С.Лисецкий»; «Грузия, Аджария, с. Кобулети. 16.XII.1945. А.С.Лисецкий»; «Тбилиси, с. Сабуртало. 20.VIII.1945. А.С.Лисецкий».

Демобилизовавшись, к осени 1946 г. А.С.Лисецкий вернулся в Харьковский университет. В 1948 г. он закончил кафедру зоологии позвоночных (которую тогда возглавлял профессор И.Б.Волчанецкий). Еще в студенческие годы в течение двух лет работал лаборантом руководимой Н.И.Калабуховым кафедры экспериментальной экологии в НИИ биологии при университете. Одна из первых его публикаций – совместно со студентами кафедры В.М.Гусевым и А.А.Куниченко в материалах студенческой конференции 1948 г. (Гусев и др., 1948). Сегодня, по прошествии многих лет, она не теряет актуальности – в контексте влияния смены климата на животный мир.

С 1948 г. А.С.Лисецкий – ассистент кафедры зоологии позвоночных. Ведет занятия со студентами, имеет множество общественных поручений. Молодой энергичный человек, отличный специалист, он неприменный участник всех многочисленных тогда экспедиций факультета. В 1948–1949 гг. под руководством И.Б.Волчанецкого были организованы экспедиции кафедры на оз. Эльтон в полупустыни Заволжья (Волчанецкий и др., 1950), в Провальскую степь, по Харьковской и Сумской областям – в связи с изучением фауны полезащитных лесонасаждений.

В работе И.Б.Волчанецкого «О формировании фауны птиц в Херсонских степях» (1954) А.С.Лисецкий упоминается в качестве ассистента, принимавшего участие в экспедициях 1950 и 1951 г. по засушливым районам Украины в рамках исследовательской темы кафедры «Изучение процессов формирования фауны в условиях полезащитного лесоразведения и орошения». Зоологический отряд экспедиции обследовал фауну молодых полезащитных полос, естественные и искусственные лесонасаждения – как источник формирования фауны молодых лесопосадок. Кроме того, в связи со строительством Каховского гидроузла и оросительной системы изучалось влияние орошения на фауну птиц и млекопитающих. Были обследованы низовья Днепра, Сиваш, побережье Азовского моря, Острова Орлов и Китай, песчаные степи (Алешковские пески), полезащитные лесополосы в районе Аскании-Нова, Каменки-Днепровской и Запорожья. Тысячи километров в кузове грузовика... Студенты собирали материал для дипломных работ – многие были потом опубликованы в Трудях НИИ биологии и биологического факультета.



Александр Сергеевич Лисецкий в 50-е годы

В 1952 г. А.С.Лисецким опубликована статья об орнитофауне Изюмских пристепных боров (Лисецкий, 1952). Ее выгодно отличает ботаническая и энтомологическая характеристика типов насаждений, выполненная автором. Несмотря на присутствующий в названии практический уклон работы, ее в полной мере можно назвать фундаментальной экологической. Приводится исчерпывающая характеристика орнитофауны всех типов насаждений крупного лесного массива «Изюмская Лука», серьезный экологический анализ всех аспектов населения птиц. Именно тогда, в начале 60-х гг. XX века были не просто дана подробная характеристика орнитофауны изюмских лесов, но и задан высокий уровень исследований. Подобные работы позже были повторены в других сосновых массивах (Лисецкий, Федоров, 1979; Пальваль, 2007).

В 60-е годы XX в стране реализовывались грандиозные проекты – сооружение гидроузлов, водохранилищ, электростанций, гигантские системы орошения земель... Масштабы антропогенного влияния на природные системы были огромны – вплоть до полного разрушения. Вырубка пойменных лесов в Нижнеднепровских плавнях в связи с подготовкой дна Каховского водохранилища лишила мест гнездования довольно разнообразный орнитокомплекс дендрофилов, частично переместившийся в окрестные сады и молодые лесополосы. Причем лесополосы оказались слишком молодыми, чтобы стать местом гнездования всех видов птиц-дендрофилов (Лисецкий, 1954). В орнитологических фондах Музея природы Харьковского университета хранятся сборы А.С.Лисецкого 1954–55 гг.: из окрестностей хутора Брилевка Голопристанского р-на Херсонской области; с. Авдеевка Запорожской обл.; отряд кафедры зоологии позвоночных базировался в Каменско-Днепровской опытной мелиоративной станции Института гидротехники и мелиорации АН УССР, проводя исследования фауны птиц и млекопитающих.

Уже в те годы определилась тема будущего диссертационного исследования А.С.Лисецкого. На Каменско-Днепровской станции были развернуты стационарные исследования влияния орошения на птиц и мышевидных грызунов. По итогам исследований 1951–1954 гг. выяснилось, что создание крупных оросительных систем в засушливых районах Украины меняет состав и численность видов мышевидных грызунов, ограничивая численность малого суслика, домового и лесной мышей, серого хомячка, общественной полевки и степной пеструшки (Лисецкий, 1954, 1965). Грызуны представлялись «вредящей» группой, и, разумеется, выдавались рекомендации о мероприятиях, ограничивающих численность.

Окончив аспирантуру под руководством И.Б.Волчанецкого (1958–59 гг.), А.С.Лисецкий в 1965 г. защитил диссертацию, посвященную формированию фауны грызунов на полях искусственного орошения. Хотя материал был собран гораздо более обширный – проводились сборы 1953–1966 гг. в районе Деркульской лесоопытной станции, в Крымском заповеднике, в Донецкой области и, конечно, в Харьковской – п. Коротич, с. Гайдары, г. Красноград.

Гипертрофированная неприязнь к халтуре, добросовестность явились причиной того, что Александр Сергеевич долго шел к обретению ученой степени. Кроме того, как это часто бывает в любом коллективе, – кроме Лисецкого на факультете, казалось, не было больше исполнительных и энергичных людей. Он за все отвечал, все организовывал, за все отчитывался (Кривицкий, 1999).

Экспедиции кафедры зоологии 1952–53 гг. по Левобережной Украине, непременным участником которых был А.С.Лисецкий, были связаны с изучением закономерностей формирования фауны культурного ландшафта, но особое внимание уделялось естественным лесам бассейна Северского Донца, как источникам заселения искусственных лесных насаждений орнитофауной. Материал, собранный коллективом зоологов, лег в основу фундаментальных статей о фауне широколиственных лесов, соавтором которых был и А.С.Лисецкий (Волчанецкий и др., 1954). Позже были опубликованы материалы, собранные в Велико-Анадольском лесничестве – одном из самых крупных искусственных лесных массивов в степи, созданном еще в конце XIX века (Лисецкий, Гисцов, 1969).

В начале 70-х гг. XX в. появляются несколько обобщающих работ Александра Сергеевича Лисецкого об изменениях в орнитофауне Харьковской области и Восточной Украины за последние 70–100 лет (Лисецкий, 1963, 1965). Появление новых видов в составе орнитофауны было впервые зарегистрировано еще в начале 1950-х годов, когда в регионе были найдены каменка-плясунья (*Oenanthe isabellina* (Temm.)) и горихвостка-чернушка (*Phoenicurus ochruros* Gm.). Причинами, приведшими к фаунистическим преобразованиям, называют не только разрушение среды

обитания аборигенных видов (распашку целинных степей, создание больших площадей насаждений и водохранилищ), но и рост количества охотников (Лисецкий, 1965).

В работе, посвященной изменениям, произошедшим в орнитофауне за 100 лет, А.С.Лисецкий указывает на исчезновение ряда степных видов – таких, как авдотка *Burhinus oedicnemus* (L.), дрофа *Otis tarda* L., степная тиркушка *Glareola nordmanni* Nordm., кречетка *Chettusia gregaria* (Pall.) и белокрылый жаворонок *Melanocorypha leucoptera* (Pall.) (Лисецкий, 1965). В то же время, наметился рост численности степного жаворонка *Melanocorypha calandra*, ранее бывшего редким. Одним из факторов, влияющих на преобразование фаунистического состава, А.С.Лисецкий считает сокращение площадей лесов и их омоложение, которое ведет к сокращению численности дуплогнезdnиков и дневных хищных птиц. Катастрофическому снижению численности последних способствовала и концепция «вредных» видов и отстрел их охотниками. В то же время, некоторые виды широко расселились, благодаря искусственным насаждениям (*Streptopelia turtur* (L.), *Lanius collurio* L., *Sylvia sp.*, *Chloris chloris* (L.)), а черный стриж *Apus apus* (L.), ранее обитавший в лесах, стал обычным в городских кварталах (Волчанецкий и др., 1979; Лисецкий и др., 1978; Лисецкий, Гудина, 1983; Есилевская и др., 1988, 1990). Такие данные не получишь, сидя в кабинете, – это результат постоянных наблюдений в природе, экскурсий, длительных экспедиций.

С 1967 г. А.С.Лисецкий – доцент кафедры зоологии позвоночных, читает общие курсы зоологии позвоночных, охраны природы, спецкурс «Фауна СССР» и др.; 1975–81 гг. – заведует кафедрой зоологии позвоночных. Коллектив кафедры активно проводит исследования в области фаунистики: одна из важных работ тех лет посвящена распределению колоний цапель в Харьковской области (Есилевская и др., 1975а); исследуется появление новых видов в фауне (Лисецкий, 1979; Лисецкий, Гудина, 1984), а собственные научные интересы А.С.Лисецкого – орнитофауна города Харькова (Лисецкий, 1969а, 1969б; Лисецкий, Пальмер, 1976; Лисецкий, Гудина, 1984).

Природоохранная тематика в научных исследованиях кафедры зоологии позвоночных приобретает все большую актуальность. В 1980-е гг. в составе группы ученых-биологов, географов и историков университета А.С.Лисецкий принимает участие в разработке проекта Гомольшанского природного национального парка – лесного массива в районе биологической станции, предложенного к заповеданию еще в начале XX века (Шкорбатов и др., 1974). Последствия масштабных преобразований природы уже начали сказываться: при строительстве канала Днепр-Донбасс по старым технологиям были уничтожены ценнейшие территории – потерял свое значение для птиц Берекский заказник, под угрозой оказался лесной массив «Изюмская лука» (Есилевская и др., 1975б; Лисецкий, 1979).

Александра Сергеевича можно было часто видеть выступающим перед самой различной аудиторией – читающим лекции в народном университете «Природа», выступающим перед юннатами и посетителями зоопарка на «Дне птиц» с импровизированной сцены – кузова грузовика. Раздел «Заметки фенолога» в областной газете «Красное знамя» появлялся регулярно раз в месяц в течение многих лет. Это все требовало времени, сил и таланта – разговаривать интересно с самой разной аудиторией; последнего ему было не занимать.

В судьбах многих молодых исследователей А.С.Лисецкий, преподаватель, отдавший Харьковскому университету 45 лет своей жизни, сыграл ключевую роль. «...Молодой и энергичный, недавно демобилизовавшийся из армии, преподаватель кафедры зоологии Харьковского университета Александр Сергеевич Лисецкий, натуралист – зоолог от Бога, общительный и увлекающий, он водил экскурсии по окрестностям Харькова, организовывал поездки на биостанцию университета, рассказывал интереснейшие истории о животных. Он коллекционировал бабочек, обладал коллекцией птиц, собственноручно добытых и мастерски отпрепарированных; великолепно владея техникой таксидермии, обучал молодых исследователей. ...Коллекцию бабочек он создавал всю жизнь. По праву его собрание чешуекрылых было признано одним из самых полных среди других частных коллекций наших соотечественников. В настоящее время оно находится в фондах Музея природы университета» (Кривицкий, 1999).

В зимнюю пору в городском парке при его появлении слетались синицы, приученные в течение многих лет брать корм с ладони. Как-то, после долгого отсутствия (Александр Сергеевич в последние годы сильно болел), он шел по аллее парка, и синицы, узнав его, слетались небольшой

стайкой. «Мне стало так стыдно – они меня ждали», – вспоминал Лисецкий. Вернулся, купил в магазине какую-то снедь и угостил.



Сотрудники кафедры зоологии и экологии животных (1988–89 гг.)

Нижний ряд: В.П.Кудогоцев, Л.М.Белова, М.А.Есилевская, А.П.Крапивный, Ю.Г.Казаринова, А.С.Лисецкий.

Верхний ряд: И.Жукова, И.Е.Губин, В.С.Творовский, А.Э.Барановский, И.А.Кривицкий, А.Ф.Бартенев, В.М.Назаров, А.Н.Колесник, Ю.К.Холупяк

Сборы птиц А.С.Лисецкого в фондах Музея природы университета относятся к периоду 1939–1976 гг. География этих коллекций обширна – довоенные сборы из Херсонской области (Генический р-н); биостанции университета в с. Гайдары Змиевского р-на Харьковской области (1939 г.); Волчанского р-на (1940 г.); Изюмского р-на Харьковской обл. и окрестностей биостанции университета (1941 г.). Послевоенные сборы относятся к окрестностям Харькова (1946–48 гг.), периоду работ экспедиций под руководством И.Б.Волчанецкого на оз. Эльтон (1948–49 гг.), в Провальскую степь (1952 г.), Армению (1953 г.), оз. Донузлав (1956 г.), п-ов Крым: окр. Алушты (1956 г.), Караби-яйла, Кара-Даг, Эчки-Даг, Бахчисарайский и Белогорский р-ны (1957 г.), Красногвардейский р-н, Октябрьский р-н, с. Пятихатка (1962 г.), окрестности г. Сватово Луганской обл., Краснодарский край, Геленджикский район (1958 г.), Туркмения, Копет-Даг (1961 г.), о-в Сахалин и Курильские о-ва (1962 г.), Мурманская обл., п. Дальние Зеленцы (1963 г.), Дагестан (1964, 1965 гг.), Командорские о-ва (1976 и 1977 гг.). Тщательно обследовал А.С.Лисецкий районы Харьковской области: Балаклейский, Изюмский (1946–1953, 1961–62 гг.), Краснокутский (1960–62 гг.), Двуречанский (1960–61 гг.), Чугуевский и Боровской (1946–1955 гг.). Собранные А.С.Лисецким и А.А.Куниченко коллекции летучих мышей (сборы начаты еще в довоенные годы) и позже опубликованные материалы – одна из фундаментальных работ тех лет. Дневники сгорели в оккупированном Харькове, коллекция сохранилась.

Анатолий Федорович Ковшарь, выпускник кафедры 1959 г., ныне – известный и уважаемый орнитолог Казахстана, тепло вспоминает А.С.Лисецкого, с которым впервые встретился в 1955 г. на биологической станции: «... невысокий плотный Лисецкий казался гигантом, знающим

абсолютно все... Тем более, что кроме птиц он называл нам очень многие растения, земноводных, пресмыкающихся, жуков и бабочек. Тогда мы еще не знали, что бабочки – любовь всей его жизни» (Ковшарь, 2014). Александр Сергеевич Лисецкий был натуралистом в самом полном понимании этого слова. В равной степени он знал насекомых, млекопитающих и рыб, прекрасно знал ботанику. «Какой же ты зоолог, если ботаники не знаешь?» – распекал кого-то из студентов. Но, все же, птиц он знал в совершенстве. В этой области опыт натуралиста в соединении со знаниями ученого существенно выделяли Александра Сергеевича среди коллег.

В 1982 г. во время полевой практики студент нашел гнездо хищника – прямо у ворот биостанции. Определить вид было сложно – пришлось оборудовать импровизированное место наблюдений на соседнем дереве. Александр Сергеевич, что называется, «не сходя с места» назвал ему вид и несколько признаков, на которые надо обратить внимание. Находка действительно оказалась редчайшим ястребом – тювиком.

Александр Сергеевич Лисецкий оставил заметный след в научной судьбе многих воспитанников кафедры зоологии Харьковского университета, передав навыки настоящего полевого исследователя – добросовестного, трудолюбивого, бесконечно влюбленного в свое дело.

Благодарности

Автор статьи благодарит И.В.Загороднюка (Национальный природоведческий музей НАН Украины, Киев) за создание профиля А.С.Лисецкого в scholar.google: Olexandr Lysetskiy (1919–1991) <https://scholar.google.com.ua/citations?user=tQs-K6QAAAAJ&hl=en>, а также коллег, поддержавших идею публикации статей, составляющих настоящий раздел.

Список литературы / References

- Волчанецкий И.Б., Капралова Н.И., Лисецкий А.С. К орнитофауне Эльтонского района Заволжья и ее реконструкции в связи с полезащитным лесонасаждением // Зоол. журн. – 1950. – Т.29, вып.6. – С. 501–512. /Volchanetskiy I.B., Kapralova N.I., Lisetskiy A.S. On the avifauna of the Elton region of the Trans-Volga region and its reconstruction in connection with field-protective forest stands // Zool. Journal. – 1950. – Vol.29, issue 6. – P. 501–512./
- Волчанецкий И.Б., Лисецкий А.С., Капралова Н.И. К орнитофауне лесов бассейна Северского Донца // Ученые записки Харьковского университета. – 1954. – Т.52. Труды н.-и. ин-та биол. и биол. ф-та. – С. 33–45. /Volchanetskiy I.B., Lisetskiy A.S., Kapralova N.I. To the avifauna of the forests of the Seversky Donets basin // Research Bulletin of Kharkov University. – 1954. – Vol.52. Proceedings of the Research Institute of Biology and Biological Faculty. – P. 33–45./
- Волчанецкий И.Б., Лисецкий А.С., Кривицкий И.А., Есилевская М.А. О современном облике орнитофауны Харьковской области // VII Всесоюзная зоогеографическая конференция: тезисы докладов. – М., 1979. – С.190. /Volchanetskiy I.B., Lisetskiy A.S., Krivitskiy I.A., Yesilevskaya M.A. On the modern appearance of the avifauna of the Kharkov region // VII All-Union Zoogeographic Conference: abstracts. – Moscow, 1979. – P.190./
- Гусев В.М., Лисецкий А.С., Куниченко А.А. Теплая осень и зима 1947/48 г. в окрестностях Харькова // ХГУ. Научная студенческая конференция. Тезисы докладов. – Харьков, 1948. – С. 75–76. /Gusev V.M., Lisetskiy A.S., Kunichenko A.A. Warm autumn and winter 1947/48 in the vicinity of Kharkov // Kharkov State University. Scientific student conference. Abstracts of reports. – Kharkov, 1948. – P. 75–76./
- Есилевская М.А., Корабельников Л.В., Кривицкий И.А., Лисецкий А.С. Гнездовые колонии серых цапель в Харьковской области // Колониальные гнездовья околородных птиц и их охрана: Материалы совещания. – М., 1975а. – С. 33–34. /Yesilevskaya M.A., Korabelnikov L.V., Krivitskiy I.A., Lisetskiy A.S. Nesting colonies of gray herons in the Kharkov region // Colonial nesting of water birds and their protection: materials of the conference. – Moscow, 1975a. – P. 33–34./
- Есилевская М.А., Кривицкий И.А., Лисецкий А.С. О перспективах сохранения ландшафтов и фаунистических комплексов юга лесостепной Украины // VI Всесоюзная зоогеографическая конференция: тезисы докладов. – Кишинев: Штиница, 1975б. – С.81. /Yesilevskaya M.A., Krivitskiy I.A., Lisetskiy A.S. On the prospects for the conservation of landscapes and faunistic complexes in the south of forest-steppe Ukraine // 6th All-Union Zoogeographic Conference: abstracts. – Chisinau: Shtinitsa, 1975b. – P.81./
- Есилевская М.А., Кривицкий И.А., Лисецкий А.С. и др. О новых орнитологических находках в Северо-Восточной оконечности Украины. Сообщение 1 // Вестник Харьк. ун-та. – 1988. – №313. Проблемы физиологии и биохимии онтогенеза и физиологической генетики. – С. 84–85. /Yesilevskaya M.A., Krivitskiy I.A., Lisetskiy A.S. et al. About new ornithological finds in the North-Eastern tip of Ukraine. Communication 1 // Kharkov State University Journal. – 1988. – No.313. Problems of physiology and biochemistry of ontogenesis and physiological genetics. – P. 84–85./
- Есилевская М.А., Кривицкий И.А., Лисецкий А.С. и др. О новых орнитологических находках в Северо-Восточной оконечности Украины. Сообщение 2 // Вестник Харьк. ун-та. – 1990. – №346.

Новые исследования по онтогенезу, гетерозису и экологии животных. – 1990. – С. 80–82. /Yesilevskaya M.A., Krivitsky I.A., Lisetskiy A.S. et al. About new ornithological finds in the North-Eastern tip of Ukraine. Communication 2 // Kharkov State University Journal. – 1990. – No.346. New researches on ontogenesis, heterosis and animal ecology. – 1990. – P. 80–82./

Ковшарь А.Ф. Александр Сергеевич Лисецкий (1919–1991) // Птицы. Дороги. Люди (воспоминания орнитолога). Часть 1. – Алматы, 2014. – С. 12–15. /Kovshar A.F. Alexander Sergeyevich Lisetskiy (1919–1991) // Birds. Roads. People (memories of an ornithologist). Part 1. – Almaty, 2014. – P. 12–15./

Кривицкий И.А. Александр Сергеевич Лисецкий // Орнитологи Украины (биобиблиографический справочник). Авторы-составители: Т.А.Атемасова, И.А.Кривицкий. Вып.1. – Харьков, 1999. – С. 214–218. /Krivitsky I.A. Alexander Sergeeevich Lisetskiy // Ornithologists of Ukraine (bio-bibliographic reference book). Compiled by: T.A.Atemasova, I.A.Krivitsky. Issue 1. – Kharkov, 1999. – P. 214–218./

Лисецкий А.С. Орнитофауна Изюмских пристепных боров и пути ее обогащения полезными птицами // Ученые записки Харьковского университета. – 1952. – Т.44. Труды Н.-и. ин-та биологии. – С. 55–72. /Lisetskiy A.S. The avifauna of the Izyumsky steppe forests and the ways of enriching it with useful birds // Research Bulletin of Kharkov University. – 1952. – Vol.44. Proceedings of the Research Institute of Biology. – P. 55–72./

Лисецкий А.С. Изменение орнитофауны Нижнеднепровских плавней и Каменского пода в связи с подготовкой дна Каховского водохранилища // Третья экологическая конференция: тезисы докладов. – Киев, 1954. – Ч.4. – С. 189–191. /Lisetskiy A.S. Change in the avifauna of the Lower Dnieper floodplains and the Kamensky hearth in connection with the preparation of the bottom of the Kakhovka reservoir // Third Ecological Conference: abstracts. – Kiev, 1954. – Part 4. – P. 189–191./

Лисецкий А.С. Об изменении орнитофауны Харьковской области за последние 100 лет // Вторая Межведомственная научная конференция по изучению природных и трудовых ресурсов, размещению промышленности и сельского хозяйства Левобережной Украины и их использованию: тезисы докладов. – Харьков, 1963. – С. 77–79. /Lisetskiy A.S. About the change in the avifauna of the Kharkov region over the past 100 years // The Second Interdepartmental Scientific Conference on the Study of Natural and Labor Resources, the Location of Industry and Agriculture of the Left-Bank Ukraine and their Use: abstracts. – Kharkov, 1963. – P. 77–79./

Лисецкий А.С. Об изменении фауны водных и болотных птиц Восточной Украины за последние 70–80 лет // География ресурсов водоплавающих птиц в СССР, состояние запасов, пути их воспроизводства и правильного использования: тезисы докладов конференции. Т.1. – М., 1965. – С. 111–112. /Lisetskiy A.S. On the change in the fauna of water and wetland birds in Eastern Ukraine over the past 70–80 years // Geography of Waterfowl Resources in the USSR, Stock Status, Ways of their Reproduction and Proper Use: abstracts of the conference. Vol.1. – Moscow, 1965. – P. 111–112./

Лисецкий А.С. Заметки о гнездовании грачей в условиях большого города // Орнитология в СССР. Кн.2. – Ашхабад, 1969а. – С. 372–374. /Lisetskiy A.S. Notes on rooks nesting in a big city // Ornithology in the USSR. Book 2. – Ashgabat, 1969a. – P. 372–374./

Лисецкий А.С. Птицы города Харькова // Синантропизация и domestикация животного населения Материалы к совещанию. – М., 1969б. – С. 89–90. /Lisetskiy A.S. Birds of the city of Kharkov // Synanthropization and domestication of the animal population. Materials of the conference. – Moscow, 1969b. – P. 89–90./

Лисецкий А.С. Сохранить новый уникальный орнитокомплекс на Харьковщине // Проблемы охраны природы и рекреационной географии УССР: тез. докл. респ. научн. конф. – Х., 1979. – С. 65–67. /Lisetskiy A.S. To save a new unique ornithocomplex in the Kharkov region // Problems of Nature Conservation and Recreational Geography of the Ukrainian SSR: abstracts of scientific conference. – Kharkov, 1979. – P. 65–67./

Лисецкий А.С., Гисцов А.П. Новые птицы Велико-Анадольского леса // Изучение ресурсов наземных позвоночных фауны Украины: материалы республик. координац. совещ. – К., 1969. – С. 56–67. /Lisetskiy A.S., Gistsov A.P. New birds of the Veliko-Anadolsky forest // Study of Resources of Terrestrial Vertebrate Fauna of Ukraine: materials of the coordination conference. – Kyiv, 1969. – P. 56–67./

Лисецкий А.С., Гудина А.Н. О находке ходулочника в Харьковской области // Орнитология. Вып.18. – М.: Изд-во МГУ, 1983. – С. 167–168. /Lisetskiy A.S., Gudina A.N. On the finding of a stilt in the Kharkov region // Ornithology. Issue 18. – M.: Publishing House of Moscow State University, 1983. – P. 167–168./

Лисецкий А.С., Гудина А.Н. О необходимости направленного формирования городской орнитофауны // Птицы и урбанизированный ландшафт: Сб. кратких сообщений. – Каунас, 1984. – С. 88–89. /Lisetskiy A.S., Gudina A.N. On the need for directional formation of urban avifauna // Birds and Urban Landscape: collection of brief communications. – Kaunas, 1984. – P. 88–89./

Лисецкий А.С., Кривицкий И.А., Куниченко А.А., Шурубур П.В. Заметки о некоторых редких и исчезающих птицах Харьковской области // Вестник Харьк. ун-та. – 1978. – №164. Проблемы онтогенеза, гетерозиса и экологии животных. – С. 97–100. /Lisetskiy A.S., Krivitsky I.A., Kunichenko A.A., Shurubura P.V. Notes on some rare and endangered birds of the Kharkov region // Bulletin of Kharkiv University. – 1978. – No.164. Problems of ontogenesis, heterosis and animal ecology. – P. 97–100./

Лисецкий А.С., Пальмер Л.В. О некоторых особенностях гнездящейся орнитофауны древесных насаждений г. Харькова // Вестник Харьковского университета. – 1976. – №135. Проблемы

онтогенеза, гетерозиса и биоэкологии животных. – С. 125–127. /Lisetskiy A.S., Palmer L.V. About some features of the breeding avifauna of the tree plantations of Kharkov // Bulletin of Kharkov University. – 1976. – No.135. Problems of ontogenesis, heterosis and animal bioecology. – P. 125–127./

Лисецкий А.С., Федоров А.В. Орнитофауна боров среднего течения реки Северский Донец и пути ее реконструкции и охраны // Проблемы охраны природы и рекреационной географии УССР: тез. докл. респ. научн. конф. – Х., 1979. – С. 67–69. /Lisetskiy A.S., Fedorov A.V. The avifauna of the middle courses of the Seversky Donets River and the ways of its reconstruction and protection // Problems of Nature Protection and Recreational Geography of the Ukrainian SSR: abstracts of the scientific conf. – Kharkov, 1979. – P. 67–69./

Пальваль А.В. Структура населения птиц сосновых лесов Харьковской области // Птицы бассейна Северского Донца. Вып.10: Материалы конференции «Изучение и охрана птиц бассейна Северского Донца». – Харьков, 2007. – С. 8–19. /Palval A.V. The population structure of birds of pine forests of the Kharkov region // Birds of the Seversky Donets Basin. Issue 10: Materials of the conference “Study and conservation of birds in the basin of the Seversky Donets”. – Kharkov, 2007. – P. 8–19./

Шкорбатов Г.Л., Медведев С.И., Ермоленко Е.Д. и др. О сохранении природного комплекса в районе Донецкой биологической станции ХГУ // Вестн. Харьк. ун-та. – 1974. – №105. Биология, вып.6. – С. 135–144. /Shkorbatov G.L., Medvedev S.I., Yermolenko Ye.D. et al. On the conservation of the natural complex in the region of the Donetsk biological station of KSU // Bulletin of Kharkov University. –1974. – No.105. Biology, issue 6. – P. 135–144./

Представлено: Л.П.Харченко / Presented by: L.P.Kharchenko

Рецензент: В.А.Токарський / Reviewer: V.A.Tokarsky

Подано до редакції / Received: 19.10.2019

Про автора: Т.А.Атемасова – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, t.atemasova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7527-5143>

About the author: T.A.Atemasova – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, t.atemasova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7527-5143>

Об авторе: Т.А.Атемасова – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, t.atemasova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7527-5143>

УДК: 929Лисецкий:[59.092](477)

**Зібрання Олександра Сергійовича Лисецького в орнітологічній колекції
Музею природи Харківського національного університету імені****В.Н.Каразіна****Т.М.Дев'ятко**

Значну частину орнітологічної колекції Музею природи Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна складають зібрання Олександра Сергійовича Лисецького: 1292 екземпляри (з них 1276 тушок і 16 опудал), що становить майже 7% загальної чисельності орнітологічної колекції музею – майже 19 тисяч одиниць зберігання. За видовим складом зібрання О.С.Лисецького представлені 215 видами птахів (з них 85 видів негоробиних птахів і 130 видів горобиних птахів). За географічним розмаїттям у зібранні Олександра Сергійовича представлені: Україна (Запорізька, Луганська, Харківська, Херсонська області та зібрання по Автономній Республіці Крим); Росія (Волгоградська, Мурманська, Сахалінська області; Камчатський, Краснодарський край, Республіка Дагестан); Туркменістан (Ахалський веляят); Грузія (Тбілісі, Імеретія, Автономна Республіка Аджарія) і Вірменія. Збори Олександра Сергійовича Лисецького істотно збагатили орнітологічну колекцію музею, поповнили її екземплярами рідкісних видів, представлених в колекції одиничними екземплярами: вівчарик лісовий *Phylloscopus inornatus* (Blyth, 1842), новий вид в фауні Криму і єдина підтверджена реєстрація цього виду в цьому регіоні; сибірський щеврик *Anthus gustavi* Swinhoe, 1863; рудий горобець *Passer rutilans* (Temminck, 1835), японська жовтоспинна мухоловка *Ficedula narcissina* (Temminck, 1835), з двох примірників в колекції один здобутий Олександром Сергійовичем; а також плямистий щеврик *Anthus hodgsoni* (Richmond, 1907), вівчарик товстодзьобий *Phylloscopus schwarzi* (Radde, 1863), великий скелястий повзик *Sitta tephronota* Sharpe, 1872, скельна вівсянка *Emberiza buchanani* Blyth, 1844 та інші. Зібрання Олександра Сергійовича, що представлені тушками, зберігаються в науковій колекції музею в фондовому приміщенні в спеціальних ящиках. Опудала виставлені в експозиції і знаходяться в шафах або вітринах. Кожен екземпляр з колекційних зборів має інвентарний номер, правильно заповнену, детальну етикетку, із зазначенням статі, місця і дати видобутку, ким визначено вид, ким виготовлена тушка або опудало. Кожен екземпляр занесений в каталог і базу даних орнітологічної колекції музею.

Ключові слова: колекція; екземпляр; вид; зібрання; музей; О.С.Лисецький.

**The collections of Alexandr Sergeyeovich Lisetskiy in the ornithological
collection of the Museum of Nature of V.N.Karazin Kharkiv National****University****T.N.Devyatko**

A significant part of the ornithological collection of the Museum of Nature of V.N.Karazin Kharkiv National University is made up of the collections of Alexandr Sergeyeovich Lisetskiy: 1292 specimens (of which 1276 skins and 16 stuffed animals), which is almost 7% of the total number of the museum's ornithological collection (almost 19 thousand items). By species composition Lisetskiy's collections are represented by 215 species of birds (of which 85 species of non-passerine birds and 130 species of passerine birds). By geographical diversity, the collections of Alexandr Sergeyeovich are representing Ukraine (Zaporozhe, Lugansk, Kharkov, Kherson regions and collections from the Autonomous Republic of Crimea), Russia (Volgograd, Murmansk, Sakhalin regions; Kamchatka, Krasnodar Territory, Republic of Dagestan), Turkmenistan (Akhali velayat), Georgia (Tbilisi, Imereti, Autonomous Republic of Adjara) and Armenia. The collections of Alexander Sergeevich Lisetskiy significantly enriched the museum's ornithological collection, replenished it with specimens of rare species represented in the collection as single specimens: the yellow browed warbler *Phylloscopus inornatus* (Blyth, 1842), a new species in Crimea's fauna and the only confirmed registration of this species in the area; the Pechora pipit, *Anthus gustavi* Swinhoe, 1863; the russet sparrow *Passer rutilans* (Temminck, 1835), the only specimen in the museum's collection, the narcissus flycatcher *Ficedula narcissina* (Temminck, 1835) of which only 2 specimen are in the collection and one of them was collected by Alexandr Sergeyeovich; as well as the olive-backed pipit *Anthus hodgsoni* (Richmond, 1907), the Radde's warbler *Phylloscopus schwarzi* (Radde, 1863), the eastern rock-nuthatch *Sitta tephronota* Sharpe, 1872, the grey-necked bunting *Emberiza buchanani* Blyth, 1844 and others. The collections of Alexandr Sergeyeovich presented by skins are stored in the scientific collection of the museum in the stock room in special boxes. Stuffed specimens are on display and are in cabinets or display cases. Each specimen has an inventory number, a detailed label indicating the sex, place and date of extraction, who determines the

species, who made the skins or stuffed specimens. Each specimen is listed in the catalog and database of the museum's ornithological collection.

Key words: *collection; specimen; species; museum; A.S.Lisetskiy.*

**Сборы Александра Сергеевича Лисецкого в орнитологической коллекции Музея природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина
Т.Н.Девятко**

Значительную часть орнитологической коллекции Музея природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина составляют сборы Александра Сергеевича Лисецкого: 1292 экземпляр (из них 1276 тушек и 16 чучел), что составляет почти 7% общей численности орнитологической коллекции музея, насчитывающей почти 19 тысяч единиц хранения. По видовому составу сборы Лисецкого представлены 215 видами птиц (из них 85 видов неворобьиных птиц и 130 видов воробьиных птиц). По географическому разнообразию сборы Александра Сергеевича представлены: Украина (Запорожская, Луганская, Харьковская, Херсонская области и сборы по Автономной Республике Крым); Россия (Волгоградская, Мурманская, Сахалинская области; Камчатский, Краснодарский край, Республика Дагестан); Туркменистан (Ахалский велаят); Грузия (Тбилиси, Имеретия, Автономная Республика Аджария) и Армения. Сборы Александра Сергеевича Лисецкого существенно обогатили орнитологическую коллекцию музея, дополнили ее экземплярами редких видов, представленных в коллекции единичными экземплярами: пеночка-зарничка *Phylloscopus inornatus* (Blyth, 1842), новый вид в фауне Крыма и единственная подтвержденная регистрация этого вида в этом регионе; сибирский конек *Anthus gustavi* Swinhoe, 1863; рыжий воробей *Passer rutilans* (Temminck, 1835), японская желтоспинная мухоловка *Ficedula narcissina* (Temminck, 1835), из двух экземпляров в коллекции один добыт Александром Сергеевичем; а также пятнистый конек *Anthus hodgsoni* (Richmond, 1907), толстоклювая пеночка *Phylloscopus schwarzi* (Radde, 1863), большой скалистый поползень *Sitta tephronota* Sharpe, 1872, скальная овсянка *Emberiza buchanani* Blyth, 1844 и другие. Сборы Александра Сергеевича, представленные тушками, хранятся в научной коллекции музея в фондовом помещении в специальных ящиках. Чучела выставлены в экспозицию и находятся в шкафах или витринах. Каждый экземпляр из коллекционных сборов имеет инвентарный номер, правильно заполненную, подробную этикетку, с указанием пола, места и даты добычи, кем определен вид, кем изготовлена тушка или чучело. Каждый экземпляр занесен в каталог и базу данных орнитологической коллекции музея.

Ключевые слова: *коллекция; экземпляр; вид; сборы; музей; А.С.Лисецкий.*

Основной задачей каждого музея является сохранение и приумножение имеющейся коллекции. Вот уже более 200 лет с этой задачей успешно справляется Музей природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина. Около 250 тыс. единиц хранения насчитывает коллекция этого вузовского музея. Богатейшая – более 110 000 экземпляров – коллекция насекомых, замечательная коллекция моллюсков, и кораллов, а также самая крупная в Украине коллекция обезьян. Не менее значимой является также коллекция птиц, насчитывающая более 19 тысяч единиц хранения, которая включает коллекцию чучел, тушек, гнезд и кладок. Естественно предположить, что такая коллекция собрана стараниями многих людей, в большинстве своем это профессиональные орнитологи или любители птиц. Пополнение коллекции осуществляется за счет экспедиционных сборов, закупленных экспонатов и коллекций (например: коллекция птиц Николая Ивановича Гавриленко, насчитывающая около 7 тыс. единиц хранения), а также коллекций птиц, переданных в дар (например: 484 птицы подарены музею в 1938 г. проф. Харьковского сельскохозяйственного института В.Г.Авериним, 135 экземпляров трубконосых птиц переданы бывшим директором музея Л.В.Корабельниковым). В последнее время экспозиционная часть коллекции музея, в основном, пополняется за счет животных, погибших в Харьковском зоопарке, а также за счет разрозненных экземпляров, получаемых от разных специалистов и любителей.

С историей формирования коллекции тесно связана профессиональная деятельность доцента кафедры зоологии и экологии позвоночных животных, кандидата биологических наук, орнитолога Александра Сергеевича Лисецкого.

Александр Сергеевич Лисецкий всю свою жизнь с большой любовью относился к природе. Еще в студенческие годы он изучал птиц Харьковской области. Даже в годы войны, будучи капитаном танковых войск, собирал коллекцию бабочек, и это его увлечение осталось на долгие годы – где бы ни доводилось ему бывать, он постоянно пополнял свою коллекцию бабочек, которая в конечном итоге заняла достойное место в музейных сборах (Кривицкий, 1999).

Посвятив всю свою жизнь изучению животного мира, Александр Сергеевич много путешествовал по всей Украине, а также был на Дальнем Востоке, Камчатке, на Кавказе, в Прибалтике, в Средней Азии. В составе кафедральных экспедиций собирал орнитологический материал. В музейной коллекции хранятся сборы из экспедиций в Грузию (1945 г.), в Волгоградскую область на озеро Эльтон (1948 и 1949 гг.), в Армению (1953 г.), в Крым (1956, 1957 и 1962 гг.), в Краснодарский край (1958 г.), в Туркменистан (1961 г.), в Сахалинскую область на Курильские острова (1962 г.), в Мурманскую область на Дальние Зеленцы (1963 г.), в Дагестан (1964 и 1965 гг.), в Камчатский край на Командорские острова (1976 г.). Для нас эти сборы имеют особую ценность, поскольку теперь пополнение из этих мест весьма затруднительно. Не менее значимыми являются сборы из экспедиций по Украине в Херсонскую область (1939 г.), Луганскую область (1952, 1958 гг.), Запорожскую область (1954, 1955 гг.) и сборы по Харьковской области (1939–1962 гг.) (таблица).

Самыми первыми экземплярами из орнитологических сборов Александра Сергеевича, хранящихся в музее, являются: экземпляр серого сорокопута, добытый на биостанции Харьковского университета 1 января 1939 года, и 2 экземпляра черноголовой овсянки, добытых 12 июля в Партизанах Генического района Херсонской области.

Очень важными для научной коллекции являются сборы, которые представлены сериями. В сборах А.С.Лисецкого значительными сериями представлены, например: хохлатый жаворонок *Galerida cristata* (L., 1758) – 48 экземпляров, добытых в Украине (Запорожская обл., Крым, Харьковская обл.), в России (Дагестан) и в Туркменистане; зяблик *Fringilla coelebs* L., 1758 – 41 экземпляр – добытые в Украине (Запорожская обл., Крым, Харьковская обл.), в России (Волгоградская обл., Дагестан, Краснодарский край) и в Туркменистане; обыкновенный жулан *Lanius collurio* L., 1758 – 38 экземпляров, добытых в Украине (Крым, Харьковская обл.), в России (Волгоградская обл. на озере Эльтон, Краснодарский край) и в Туркменистане на Копет-Даге; полевой жаворонок *Alauda arvensis* L., 1758 – 31 экземпляр, добытый в Украине (Крым, Харьковская обл., Херсонская обл.), в России (Волгоградская обл. на озере Эльтон, Дагестан, Краснодарский край, Сахалинская обл.) и в Туркменистане.

Для изучения закономерностей изменчивости рисунка и окраски оперения у птиц очень важно наличие в коллекции экземпляров одного вида, но из разных регионов. Например: серая славка *Sylvia communis* Latham, 1787 – 11 экземпляров в коллекции, добытых в Украине (Запорожская обл., Крым, Харьковская обл.), в России (Волгоградская обл., Дагестан, Краснодарский край) и в Туркменистане на Копет-Даге; коноплянка *Carduelis cannabina* (L., 1758) – 27 экземпляров в коллекции, добытых в Украине (Крым, Луганская обл., Харьковская обл., Херсонская обл.), в России (Дагестан) и в Туркменистане (Ашгабат); серая мухоловка *Muscicapa striata* (Pallas, 1764) – 12 экземпляров в коллекции, добытых в Украине (Запорожская обл., Крым, Харьковская обл.), в России (Волгоградская обл. на озере Эльтон, в Краснодарском крае) и в Туркменистане на Копет-Даге; степной жаворонок *Melanocorypha calandra* (L., 1766) – 15 экземпляров в коллекции, добытых в Украине (Крым, Луганская обл., Харьковская обл., Херсонская обл.), в России (Волгоградская обл. на озере Эльтон, Дагестан, Краснодарский край); городская ласточка *Delichon urbicum* (L., 1758) – 8 экземпляров в коллекции, добытых в Украине (Запорожская обл., Крым, Харьковская обл.), в России (Дагестан, Краснодарский край, Сахалинская обл.); золотистая щурка *Merops apiaster* L., 1758 – всего 6 экземпляров в коллекции, добытых в Украине (Харьковская обл.), в России (Волгоградская обл., Дагестан, Краснодарский край) и в Туркменистане (Лисецкий, 1965а, 1965б, 1966, 1970, 1981; Волчанецкий и др., 1950).

Не менее важным для научной коллекции является полная и подробная этикетка на экспонате, где четко указано где, когда и кем добыт экземпляр. Все экземпляры птиц в сборах Александра Сергеевича подробно этикетированы с указанием русского и латинского названия, места и даты добычи.

Сборы А.С.Лисецкого существенно обогатили фондовую коллекцию музея, расширили список видов и мест находок, дополнили ее экземплярами редких видов (Девятко, Джамирзоев,

2012). Так, стараниями Александра Сергеевича в научной орнитологической коллекции музея появились: пеночка-зарничка *Phylloscopus inornatus* (Blyth, 1842), новый вид фауны Крыма, и это единственная подтвержденная встреча данного вида для этой территории (Баник, Девятко, 2011); сибирский конек *Anthus gustavi* Swinhoe, 1863, добытый на Командорских островах, представленный в коллекции в одном экземпляре; пятнистый конек *Anthus hodgsoni* (Richmond, 1907) – всего 2 экземпляра в коллекции, один из которых добыт Александром Сергеевичем на острове Сахалин; толстоклювая пеночка *Phylloscopus schwarzi* (Radde, 1863) – всего 2 экземпляра в коллекции, один из них добыт А.С.Лисецким во время экспедиции в Сахалинскую область в 1962 г.; большой скалистый поползень *Sitta tephronota* Sharpe, 1872 – всего 2 экземпляра в коллекции, оба добыты Александром Сергеевичем в Туркменистане в 1961 г.; рыжий воробей *Passer rutilans* (Temminck, 1835), единственный экземпляр в коллекции, привезен из экспедиции по Сахалинской области в 1962 г., японская желтоспинная мухоловка *Ficedula narcissina* (Temminck, 1835) – всего 2 экземпляра в коллекции, и один из них добыт Александром Сергеевичем в Сахалинской области в 1962 г.; скальная овсянка *Emberiza buchanani* Blyth, 1844, всего 2 экземпляра в коллекции, один из них привезен А.С.Лисецким из экспедиции в Туркменистан в 1961 г.; черная каменка *Oenanthe picata* (Blyth, 1847) – из 11 экземпляров в коллекции 8 добыты А.С.Лисецким в Туркменистане в 1961 г.; китайская зеленушка *Carduelis sinica* Linnaeus, 1766 – из 7 экземпляров в коллекции 2 привезены из экспедиции в Сахалинскую область в 1962 г., краснолицый баклан *Phalacrocorax urile* (Gmelin, 1789), всего 2 экземпляра в коллекции, один из которых добыт А.С.Лисецким на Командорских островах в 1976 г.

Таблица.

Список видов птиц из сборов А.С.Лисецкого, хранящихся в Музее природы ХНУ

№	Вид	Латинское название	Кол-во экз.	Место добычи
1	Серая куропатка	<i>Perdix perdix</i> (L., 1758)	2	Волгоградская обл. (Эльтон)
2	Рябчик	<i>Tetrastes bonasia</i> (L., 1758)	3	Сахалинская обл.
3	Красноголовая чернеть	<i>Aythya ferina</i> (L., 1758)	1	Харьковская обл.
4	Чирок-трескунок	<i>Spatula querquedula</i> (L., 1758) [<i>Anas querquedula</i> L., 1758]	2	Крым, Харьковская обл.
5	Широконоска	<i>Spatula clypeata</i> (L., 1758) [<i>Anas clypeata</i> (L., 1758)]	1	Волгоградская обл. (Эльтон)
6	Чирок-свиистунок	<i>Anas crecca</i> L., 1758	2	Волгоградская обл. (Эльтон)
7	Малая поганка	<i>Tachybaptus ruficollis</i> (Pallas, 1764) [<i>Podiceps ruficollis</i> (Pall., 1764)]	1	Грузия, Кутаисский р-н
8	Черношейная поганка	<i>Podiceps nigricollis</i> Brehm, 1831	1	Волгоградская обл. (Эльтон)
9	Сизый голубь	<i>Columba livia</i> Gmelin, 1789	1	Крым
10	Клинтух	<i>Columba oenas</i> L., 1758	1	Дагестан
11	Вяхирь	<i>Columba palumbus</i> L., 1758	2	Крым, Краснодарский край
12	Обыкновенная горлица	<i>Streptopelia turtur</i> (L., 1758)	3	Херсон. обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан
13	Большая горлица	<i>Streptopelia orientalis</i> (Latham, 1790)	1	о. Сахалин
14	Обыкновенный козодой	<i>Caprimulgus europaeus</i> L., 1758	9	Харьковская обл., Краснодарский край
15	Кукушка обыкновенная	<i>Cuculus canorus</i> L., 1758	3	Херсонская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), о. Шикотан
16	Пастушок	<i>Rallus aquaticus</i> L., 1758	3	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Сахалинская обл.
17	Погоныш	<i>Porzana porzana</i> (L., 1766)	1	Волгоградская обл. (Эльтон)

Продолжение таблицы.

18	Лысуха	<i>Fulica atra</i> L., 1758	2	Харьковская обл.
19	Малая выпь	<i>Ixobrychus minutus</i> (L., 1766)	3	Крым, Харьковская обл., Сахалинская обл.
20	Серая цапля	<i>Ardea cinerea</i> L., 1758	1	Харьковская обл.
21	Большая белая цапля	<i>Ardea alba</i> L., 1758 [<i>Egretta alba</i> (L., 1758)]	1	Крым
22	Краснолицый баклан	<i>Phalacrocorax urile</i> (Gmelin, 1789)	1	Командорские о-ва
23	Авдотка	<i>Burhinus oedichnemus</i> (L., 1758)	1	Волгоградская обл. (Эльтон)
24	Шилоклювка	<i>Recurvirostra avosetta</i> L., 1758	1	Крым
25	Хрустан	<i>Eudromias morinellus</i> (L., 1758) [<i>Charadrius morinellus</i> L., 1758]	1	Мурманская обл. (Дальние Зеленцы)
26	Малый зуек	<i>Charadrius dubius</i> Scopoli, 1786	4	Крым, Харьковская обл., Краснодарский край
27	Морской зуек	<i>Charadrius alexandrinus</i> L., 1758	5	Волгоградская обл. (Эльтон)
28	Монгольский зуек	<i>Charadrius mongolus</i> Pallas, 1766	2	Камчатский край, Сахалинская обл.
29	Каспийский зуек	<i>Charadrius asiaticus</i> Pallas, 1773	5	Волгоградская обл. (Эльтон)
30	Чибис	<i>Vanellus vanellus</i> (L., 1758)	5	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон)
31	Кречетка	<i>Chettusia gregaria</i> (Pallas, 1771)	2	Волгоградская обл. (Эльтон)
32	Большой веретенник	<i>Limosa limosa</i> (L., 1758)	1	Волгоградская обл. (Эльтон)
33	Турухтан	<i>Calidris pugnax</i> (L., 1758) [<i>Philomachus pugnax</i> (L., 1758)]	6	Волгоградская обл. (Эльтон)
34	Краснозобик	<i>Calidris ferruginea</i> (Pontoppidan, 1763)	1	Волгоградская обл. (Эльтон)
35	Длиннопалый песочник	<i>Calidris subminuta</i> (Middendorff, 1853)	2	Сахалинская обл.
36	Чернозобик	<i>Calidris alpina</i> (L., 1758)	2	Волгоградская обл. (Эльтон)
37	Берингийский песочник	<i>Calidris ptilocnemis</i> (Coues, 1873)	2	Камчатский край (о. Беринга)
38	Морской песочник	<i>Calidris maritima</i> (Brünnich, 1764)	1	Мурманская обл. (Дальние Зеленцы)
39	Вальдшнеп	<i>Scolopax rusticola</i> L., 1758	4	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон)
40	Дупель	<i>Gallinago media</i> (Latham, 1787)	1	Харьковская обл.
41	Бекас	<i>Gallinago gallinago</i> (L., 1758)	1	Харьковская обл.
42	Круглоносый плавунчик	<i>Phalaropus lobatus</i> (L., 1758)	2	Волгоградская обл. (Эльтон)
43	Перевозчик	<i>Actitis hypoleucos</i> L., 1758	1	Краснодарский край
44	Черныш	<i>Tringa ochropus</i> L., 1758	3	Волгоградская обл. (Эльтон)
45	Американский пепельный улит	<i>Tringa incana</i> (Gmelin, 1789)	1	Сахалинская обл.
46	Большой улит	<i>Tringa nebularia</i> (Gunnerus, 1767)	1	Волгоградская обл. (Эльтон)
47	Травник	<i>Tringa totanus</i> (L., 1758)	2	Харьковская обл.
48	Фифи	<i>Tringa glareola</i> L., 1758	4	Волгоградская обл. (Эльтон)
49	Поручейник	<i>Tringa stagnatilis</i> (Bechstein, 1803)	3	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон)
50	Луговая тиркушка	<i>Glareola pratincola</i> (L., 1766)	1	Крым
51	Степная тиркушка	<i>Glareola nordmanni</i> Fischer, 1842	9	Волгоградская обл. (Эльтон)
52	Малая чайка	<i>Hydrocoloeus minutus</i> Pallas, 1776 [<i>Larus minutus</i> Pallas, 1776]	3	Волгоградская обл. (Эльтон)

Продолжение таблицы.

53	Озерная чайка	<i>Larus ridibundus</i> L., 1766 [<i>Chroicocephalus ridibundus</i> (L., 1766)]	2	Волгоградская обл. (Эльтон)
54	Малая крачка	<i>Sterna albifrons</i> (Pallas, 1764)	3	Крым, Дагестан, Волгоградская обл. (Эльтон)
55	Белокрылая крачка	<i>Chlidonias leucopterus</i> (Temminck, 1815)	1	Волгоградская обл. (Эльтон)
56	Речная крачка	<i>Sterna hirundo</i> L., 1758	2	Крым, Херсонская обл.
57	Полярная крачка	<i>Sterna paradisaea</i> Pontoppidan, 1763	1	Мурманская обл. (Дальние Зеленцы)
58	Пестроногая крачка	<i>Thalasseus sandvicensis</i> (Latham, 1787)	1	Крым
59	Короткохвостый поморник	<i>Stercorarius parasiticus</i> (L., 1758)	5	Мурманская обл. (Дальние Зеленцы)
60	Тонкоклювая кайра	<i>Uria aalge</i> (Pontoppidan, 1763)	3	Мурманская обл. (Дальние Зеленцы)
61	Сплюшка	<i>Otus scops</i> (L., 1758)	1	Крым
62	Ушастая сова	<i>Asio otus</i> (L., 1758)	3	Крым
63	Европейский тювик	<i>Accipiter brevipes</i> (Severtsov, 1850)	1	Харьковская обл.
64	Ястреб-перепелятник	<i>Accipiter nisus</i> (L., 1758)	1	Луганская обл.
65	Болотный лунь	<i>Circus aeruginosus</i> (L., 1758)	2	Харьковская обл.
66	Степной лунь	<i>Circus macrourus</i> (S.G.Gmelin, 1770)	6	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон)
67	Обыкновенный канюк	<i>Buteo buteo</i> (L., 1758)	1	Краснодарский край
68	Колючехвостый стриж	<i>Hirundapus caudacutus</i> (Latham, 1801)	1	Сахалинская обл.
69	Белобрюхий стриж	<i>Tachymarptis melba</i> (L., 1758) <i>Apus melba</i> (L., 1758)	6	Крым, Туркменистан
70	Черный стриж	<i>Apus apus</i> (L., 1758)	4	Крым, Харьковская обл, Волгоградская обл. (Эльтон)
71	Белопоясный стриж	<i>Apus pacificus</i> (Latham, 1801)	7	Сахалинская обл.
72	Сизоворонка	<i>Coracias garrulous</i> L., 1758	3	Харьковская обл, Волгоградская обл. (Эльтон)
73	Зимородок	<i>Alcedo atthis</i> (L., 1758)	1	Харьковская обл.
74	Зеленая щурка	<i>Merops superciliosus</i> L., 1766	3	Армения, Туркменистан
75	Золотистая щурка	<i>Merops apiaster</i> L., 1758	6	Харьковская обл, Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край, Туркменистан
76	Удод	<i>Upupa epops</i> L., 1758	3	Крым, Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан
77	Вертишейка	<i>Jynx torquilla</i> L., 1758	6	Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край, Сахалинская обл.
78	Средний пестрый дятел	<i>Leipicus medius</i> (L., 1758) [<i>Dendrocopos medius</i> (L., 1758)] [<i>Picoides medius</i> (L., 1758)]	1	Краснодарский край
79	Малый пестрый дятел	<i>Dryobates minor</i> (L., 1758) [<i>Dendrocopos minor</i> (L., 1758)] [<i>Picoides minor</i> (L., 1758)]	3	Харьковская обл., Краснодарский край

Продолжение таблицы.

80	Большой пестрый дятел	<i>Dendrocopos major</i> (L., 1758) [<i>Picoides major</i> (L., 1758)]	10	Крым, Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край, Сахалинская обл.
81	Белоспинный дятел	<i>Dendrocopos leucotos</i> (Bechstein, 1803) [<i>Picoides leucotos</i> (Bechstein, 1803)]	3	Харьковская обл., Сахалинская обл.
82	Желна	<i>Dryocopus martius</i> (L., 1758)	1	Краснодарский край
83	Зеленый дятел	<i>Picus viridis</i> L., 1758	6	Дагестан, Краснодарский край
84	Обыкновенная пустельга	<i>Falco tinnunculus</i> L., 1758	3	Крым, Луганская обл.
85	Чеглок	<i>Falco subbuteo</i> L., 1758 [<i>Hypotriorchis subbuteo</i> (L., 1758)]	1	Луганская обл.
86	Береговая ласточка	<i>Riparia riparia</i> (L., 1758)	3	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Краснодарский край,
87	Скальная ласточка	<i>Ptyonoprogne rupestris</i> (Scopoli, 1769) [<i>Hirundo rupestris</i> Scop., 1769]	4	Грузия, Туркменистан
88	Деревенская ласточка	<i>Hirundo rustica</i> L., 1758	7	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край,
89	Городская ласточка	<i>Delichon urbicum</i> (L., 1758) [<i>Delichon urbica</i> (L., 1758)]	8	Запорожская обл., Крым, Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край, Сахалинская обл.
90	Пустынный жаворонок	<i>Ammomanes deserti</i> (Lichtenstein, 1823)	2	Туркменистан
91	Хохлатый жаворонок	<i>Galerida cristata</i> (L., 1758)	48	Запорожская обл., Крым, Харьковская обл., Дагестан, Туркменистан
92	Малый жаворонок	<i>Calandrella cinerea</i> (Gmelin, 1789)	9	Крым, Волгоградская обл. (Эльтон)
93	Серый жаворонок	<i>Alaudala rufescens</i> (Vieillot, 1820) [<i>Calandrella rufescens</i> (Vieillot, 1820)]	20	Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Туркменистан
94	Степной жаворонок	<i>Melanocorypha calandra</i> (L., 1766)	15	Крым, Луганская обл., Харьковская обл., Херсонская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край
95	Двупятнистый жаворонок	<i>Melanocorypha bimaculata</i> (Menetries, 1832)	1	Туркменистан
96	Белокрылый жаворонок	<i>Alauda leucoptera</i> (Pallas, 1811) [<i>Melanocorypha leucoptera</i> (Pallas, 1811)]	6	Волгоградская обл. (Эльтон)
97	Черный жаворонок	<i>Melanocorypha yeltoniensis</i> (J.R.Forster, 1767)	13	Волгоградская обл. (Эльтон)
98	Рогатый жаворонок	<i>Eremophila alpestris</i> (L., 1758)	8	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Мурманская обл. (Дальние Зеленцы)
99	Лесной жаворонок	<i>Lullula arborea</i> (L., 1758)	7	Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край

Продолжение таблицы.

100	Полевой жаворонок	<i>Alauda arvensis</i> L., 1758	31	Крым, Харьковская обл., Херсонская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край, Сахалинская обл., Туркменистан
101	Полевой конек	<i>Anthus campestris</i> (L., 1758)	12	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край, Туркменистан
102	Лесной конек	<i>Anthus trivialis</i> (L., 1758)	5	Луганская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан
103	Пятнистый конек	<i>Anthus hodgsoni</i> Richmond, 1907	1	Сахалинская обл.
104	Луговой конек	<i>Anthus pratensis</i> (L., 1758)	1	Грузия
105	Краснозобый конек	<i>Anthus cervinus</i> (Pallas, 1811)	4	Харьковская обл., Мурманская обл.
106	Горный конек	<i>Anthus spinoletta</i> (L., 1758)	2	Дагестан
107	Сибирский конек	<i>Anthus gustavi</i> Swinhoe, 1863	1	Камчатский край (о. Беринга)
108	Желтая трясогузка	<i>Motacilla flava</i> L., 1758	13	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Сахалинская обл.
109	Черноголовая трясогузка	<i>Motacilla feldegg</i> Michahelles, 1830	2	Запорожская обл., Краснодарский край
110	Желтоголовая трясогузка	<i>Motacilla citreola</i> Pallas, 1776	5	Волгоградская обл. (Эльтон)
111	Горная трясогузка	<i>Motacilla cinerea</i> Tunstall, 1771	6	Крым, Краснодарский край
112	Белая трясогузка	<i>Motacilla alba</i> L., 1758	11	Запорожская обл., Крым, Харьковская обл., Краснодарский край, Сахалинская обл., Туркменистан
113	Обыкновенный жулан	<i>Lanius collurio</i> L., 1758	38	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Краснодарский край, Туркменистан
114	Чернолобый сорокопуд	<i>Lanius minor</i> Gmelin J.F., 1788	3	Запорожская обл., Крым, Волгоградская обл. (Эльтон)
115	Серый сорокопуд	<i>Lanius excubitor</i> L., 1758	6	Крым, Харьковская обл.
116	Иволга	<i>Oriolus oriolus</i> (L., 1758)	2	Запорожская обл., Крым
117	Обыкновенный скворец	<i>Sturnus vulgaris</i> L., 1758	51	Запорожская обл., Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край
118	Розовый скворец	<i>Pastor roseus</i> (L., 1758) [<i>Sturnus roseus</i> (L., 1758)]	5	Запорожская обл., Туркменистан
119	Сойка	<i>Garrulus glandarius</i> (L., 1758)	11	Крым, Дагестан, Краснодарский край, Сахалинская обл.
120	Сорока	<i>Pica pica</i> (L., 1758)	4	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан
121	Серая ворона	<i>Corvus cornix</i> L., 1758	3	Крым, Харьковская обл.
122	Обыкновенная свиристель	<i>Bombycilla garrulus</i> (L., 1758)	2	Харьковская обл.

Продолжение таблицы.

123	Обыкновенная оляпка	<i>Cinclus cinclus</i> (L., 1758)	5	Дагестан, Краснодарский край, Грузия
124	Крапивник	<i>Troglodytes troglodytes</i> (L., 1758)	3	Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край
125	Лесная завирушка	<i>Prunella modularis</i> (L., 1758)	4	Крым, Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан
126	Обыкновенный сверчок	<i>Locustella naevia</i> (Boddaert, 1783)	1	Дагестан
127	Камышевка-барсучок	<i>Acrocephalus schoenobaenus</i> (L., 1758)	1	Волгоградская обл. (Эльтон)
128	Садовая камышевка	<i>Acrocephalus dumetorum</i> Blyth, 1849	1	Волгоградская обл. (Эльтон)
129	Болотная камышевка	<i>Acrocephalus palustris</i> (Bechstein, 1798)	2	Харьковская обл., Дагестан
130	Дроздовидная камышевка	<i>Acrocephalus arundinaceus</i> (L., 1758)	2	Харьковская обл.
131	Зеленая пересмешка	<i>Hippolais icterina</i> (Vieillot, 1817)	3	Харьковская обл.
132	Бледная пересмешка	<i>Hippolais pallida</i> (Hemprich & Ehrenberg, 1833) [<i>Iduna pallida</i> (Hemprich & Ehrenberg, 1833)]	1	Дагестан
133	Ястребиная славка	<i>Sylvia nisoria</i> (Bechstein, 1795)	10	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Краснодарский край
134	Певчая славка	<i>Sylvia hortensis</i> (Gmelin, 1789)	3	Туркменистан (Копет-Даг)
135	Черноголовая славка	<i>Sylvia atricapilla</i> (L., 1758)	19	Крым, Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край
136	Садовая славка	<i>Sylvia borin</i> (Boddaert, 1783)	14	Запорожская обл., Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон)
137	Серая славка	<i>Sylvia communis</i> Latham, 1787	11	Запорожская обл., Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край, Туркменистан (Копет-Даг)
138	Славка-завирушка	<i>Sylvia curruca</i> (L., 1758)	9	Крым, Харьковская обл., Дагестан
139	Пеночка-весничка	<i>Phylloscopus trochilus</i> (L., 1758)	4	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон)
140	Пеночка-теньковка	<i>Phylloscopus collybita</i> (Vieillot, 1817)	10	Крым, Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край, Туркменистан (Копет-Даг)
141	Пеночка-трещотка	<i>Phylloscopus sibilatrix</i> (Bechstein, 1793)	9	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Краснодарский край
143	Зеленая пеночка	<i>Phylloscopus trochiloides</i> (Sundevall, 1837)	9	Дагестан, Краснодарский край
143	Пеночка-зарничка	<i>Phylloscopus inornatus</i> (Blyth, 1842)	1	Крым
144	Толстоклювая пеночка	<i>Phylloscopus schwarzi</i> (Radde, 1863)	1	Сахалинская обл.
145	Желтоголовый королек	<i>Regulus regulus</i> (L., 1758)	2	Крым, Дагестан

Продолжение таблицы.

146	Мухоловка-пеструшка	<i>Ficedula hypoleuca</i> (Pallas, 1764) [<i>Muscicapa hypoleuca</i> (Pallas, 1764)]	4	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон)
147	Мухоловка-белошейка	<i>Ficedula albicollis</i> (Temminck, 1815) [<i>Muscicapa albicollis</i> Temminck, 1815]	2	Крым, Харьковская обл.
148	Полушейниковая мухоловка	<i>Ficedula semitorquata</i> (Homeyer, 1885)	1	Краснодарский край
149	Желтоспинная мухоловка	<i>Ficedula narcissina</i> (Temminck, 1836) [<i>Muscicapa narcissina</i> Temminck, 1835]	1	Сахалинская обл.
150	Малая мухоловка	<i>Ficedula parva</i> (Bechstein, 1792) [<i>Muscicapa parva</i> Bechstein, 1792]	5	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Краснодарский край, Туркменистан (Ашгабат)
151	Серая мухоловка	<i>Muscicapa striata</i> (Pallas, 1764)	12	Запорожская обл., Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Краснодарский край, Туркменистан (Копет-Даг)
152	Луговой чекан	<i>Saxicola rubetra</i> (L., 1758)	5	Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край
153	Черноголовый чекан	<i>Saxicola torquata</i> (L., 1766)	6	Сахалинская обл., Туркменистан (Ашгабат)
154	Обыкновенная каменка	<i>Oenanthe oenanthe</i> (L., 1758)	8	Крым, Харьковская обл., Дагестан
155	Каменка-плешанка	<i>Oenanthe pleschanka</i> (Lepechin, 1770)	3	Крым, Луганская обл., Дагестан
156	Черная каменка	<i>Oenanthe picata</i> (Blyth, 1847)	8	Туркменистан (Ашгабат, Копет-Даг)
157	Каменка-плясунья	<i>Oenanthe isabellina</i> (Temminck, 1829)	3	Волгоградская обл. (Эльтон)
158	Пестрый каменный дрозд	<i>Monticola saxatilis</i> (L., 1766)	3	Туркменистан (Копет-Даг)
159	Синий каменный дрозд	<i>Monticola solitaries</i> (L., 1758)	1	Туркменистан (Копет-Даг)
160	Обыкновенная горихвостка	<i>Phoenicurus phoenicurus</i> (L., 1758)	23	Крым, Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край, Туркменистан (Копет-Даг)
161	Горихвостка-чернушка	<i>Phoenicurus ochruros</i> (S.G.Gmelin, 1774)	2	Дагестан, Туркменистан (Копет-Даг)
162	Зарянка	<i>Erithacus rubecula</i> (L., 1758)	6	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Краснодарский край
163	Южный соловей	<i>Luscinia megarhynchos</i> C.L.Brehm, 1831 [<i>Erithacus megarhynchos</i> (C.L.Brehm, 1831)]	14	Крым, Дагестан, Краснодарский край, Туркменистан (Копет-Даг)
164	Обыкновенный соловей	<i>Luscinia luscinia</i> (L., 1758) [<i>Erithacus luscinia</i> (L., 1758)]	8	Крым, Волгоградская обл. (Эльтон), Грузия
165	Соловей-красношейка	<i>Luscinia calliope</i> (Pallas, 1776) [<i>Erithacus calliope</i> (Pallas, 1776)] [<i>Calliope calliope</i> (Pallas, 1776)]	1	Сахалинская обл.

Продолжение таблицы.

166	Варакушка	<i>Luscinia svecica</i> (L., 1758) [<i>Erithacus svecica</i> (L., 1758)] [<i>Cyanosylvia svecica</i> (L., 1758)]	6	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон)
167	Краснозобый дрозд	<i>Turdus ruficollis</i> Pallas, 1776	1	Туркменистан (Ашгабат)
168	Рябинник	<i>Turdus pilaris</i> L., 1758	4	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон)
169	Белозобый дрозд	<i>Turdus torquatus</i> L., 1758	1	Дагестан
170	Черный дрозд	<i>Turdus merula</i> L., 1758	15	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край
171	Певчий дрозд	<i>Turdus philomelos</i> C.L.Brehm, 1831	11	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край
172	Деряба	<i>Turdus viscivorus</i> L., 1758	7	Крым, Луганская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Туркменистан (Копет-Даг)
173	Длиннохвостая синица	<i>Aegithalos caudatus</i> (L., 1758)	7	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан
174	Черноголовая гаичка	<i>Poecile palustris</i> (L., 1758) [<i>Parus palustris</i> L., 1758]	3	Харьковская обл., Краснодарский край
175	Буроголовая гаичка	<i>Poecile montanus</i> (Conrad, 1827) [<i>Parus montanus</i> Conrad, 1827]	1	Сахалинская обл.
176	Хохлатая синица	<i>Lophophanes cristatus</i> (L., 1758) [<i>Parus cristatus</i> L., 1758]	1	Харьковская обл.
177	Московка	<i>Periparus ater</i> (L., 1758) [<i>Parus ater</i> L., 1758]	15	Крым, Дагестан, Краснодарский край
178	Лазоревка	<i>Cyanistes caeruleus</i> (L., 1758) [<i>Parus caeruleus</i> L., 1758]	9	Крым, Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край
179	Большая синица	<i>Parus major</i> L., 1758	20	Крым, Харьковская обл., Краснодарский край, Сахалинская обл., Туркменистан (Копет-Даг)
180	Обыкновенный поползень	<i>Sitta europaea</i> L., 1758	9	Харьковская обл., Краснодарский край, Сахалинская обл.
181	Большой скалистый поползень	<i>Sitta tephronota</i> Sharpe, 1872	2	Туркменистан (Копет-Даг)
182	Пищуха	<i>Certhia familiaris</i> L., 1758	12	Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край, Сахалинская обл.
183	Домовый воробей	<i>Passer domesticus</i> (L., 1758)	21	Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край,
184	Черногрудый воробей	<i>Passer hispaniolensis</i> (Temminck, 1820)	1	Туркменистан (Ашгабат)
185	Полевой воробей	<i>Passer montanus</i> (L., 1758)	37	Запорожская обл., Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Туркменистан (Копет-Даг)
186	Рыжий воробей	<i>Passer rutilans</i> (Temminck, 1836)	1	Сахалинская обл.

Продолжение таблицы.

187	Каменный воробей	<i>Petronia petronia</i> (L., 1766)	19	Волгоградская обл. (Эльтон), Туркменистан (Ашгабат, Копет-Даг, Чули)
188	Снежный вьюрок	<i>Montifringilla nivalis</i> (L., 1766)	5	Дагестан
189	Зяблик	<i>Fringilla coelebs</i> L., 1758	41	Запорожская обл., Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край, Туркменистан (Копет-Даг)
190	Вьюрок	<i>Fringilla montifringilla</i> L., 1758	7	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Туркменистан (Ашгабат)
191	Корольковый вьюрок	<i>Serinus pusillus</i> (Pallas, 1811)	3	Туркменистан (Копет-Даг)
192	Зеленушка	<i>Carduelis chloris</i> (L., 1758) [<i>Chloris chloris</i> (L., 1758)]	27	Запорожская обл., Крым, Харьковская обл., Краснодарский край
193	Китайская зеленушка	<i>Carduelis sinica</i> (L., 1766) [<i>Chloris sinica</i> (L., 1766)]	2	Сахалинская обл.
194	Чиж	<i>Carduelis spinus</i> L., 1758 [<i>Spinus spinus</i> (L., 1758)]	4	Харьковская обл., Дагестан
195	Щегол	<i>Carduelis carduelis</i> (L., 1758)	45	Крым, Харьковская обл., Краснодарский край, Туркменистан (Ашгабат, Копет-Даг)
196	Коноплянка	<i>Carduelis cannabina</i> (L., 1758) [<i>Acanthis cannabina</i> (L., 1758), <i>Linaria cannabina</i> (L., 1758)]	27	Крым, Луганская обл., Харьковская обл., Херсонская обл., Дагестан, Туркменистан (Ашгабат)
197	Обыкновенная чечетка	<i>Carduelis flammea</i> (L., 1758) [<i>Acanthis flammea</i> (L., 1758)]	7	Харьковская обл.
198	Буланный вьюрок	<i>Rhodospiza obsoleta</i> (Lichtenstein, 1823)	9	Туркменистан (Ашгабат)
199	Обыкновенная чечевица	<i>Carpodacus erythrinus</i> (Pallas, 1770)	7	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан
200	Длиннохвостая чечевица	<i>Uragus sibiricus</i> (Pallas, 1773) [<i>Carpodacus sibiricus</i> (Pallas, 1773)]	2	Сахалинская обл.
201	Обыкновенный клест	<i>Loxia curvirostra</i> L., 1758	2	Дагестан
202	Обыкновенный снегирь	<i>Pyrrhula pyrrhula</i> (L., 1758)	5	Харьковская обл., Дагестан, Сахалинская обл.
203	Дубонос	<i>Coccothraustes coccothraustes</i> (L., 1758)	12	Харьковская обл., Дагестан, Краснодарский край
204	Просянка	<i>Emberiza calandra</i> L., 1758 [<i>Millaria calandra</i> (L., 1758)]	7	Крым, Дагестан, Краснодарский край, Туркменистан (Ашгабат)
205	Обыкновенная овсянка	<i>Emberiza citrinella</i> L., 1758	10	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Краснодарский край
206	Тростниковая овсянка	<i>Emberiza schoeniclus</i> (L., 1758)	7	Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон),
207	Горная овсянка	<i>Emberiza cia</i> L., 1766	7	Крым, Дагестан, Грузия, Туркменистан (Копет-Даг)

Продолжение таблицы.

208	Седоголовая овсянка	<i>Emberiza spodocephala</i> Pallas, 1776	1	Сахалинская обл.
209	Дубровник	<i>Emberiza aureola</i> Pallas, 1773	2	Сахалинская обл.
210	Садовая овсянка	<i>Emberiza hortulana</i> L., 1758	7	Крым, Харьковская обл., Волгоградская обл. (Эльтон), Дагестан, Краснодарский край
211	Черноголовая овсянка	<i>Emberiza melanocephala</i> Scopoli, 1769	5	Луганская обл., Херсонская обл., Дагестан
212	Желчная овсянка	<i>Emberiza bruniceps</i> Brandt, 1841	2	Туркменистан (Ашгабат)
213	Скальная овсянка	<i>Emberiza buchanani</i> Blyth, 1844	1	Туркменистан (Копет-Даг)
214	Подорожник	<i>Calcarius lapponicus</i> (L., 1758)	4	Камчатский край (о. Беринга), Мурманская обл. (Дальние Зеленцы)
215	Пуночка	<i>Plectrophenax nivalis</i> (L., 1758)	4	Харьковская обл., Мурманская обл. (Дальние Зеленцы)

Заключение

Всего в орнитологической коллекции Музея природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина, насчитывающей порядка 19 тысяч экземпляров, сборы Александра Сергеевича Лисецкого составляют 1292 экземпляра (из них 1276 тушек и 16 чучел), что составляет почти 7% общей численности орнитологической коллекции музея. 215 видов птиц (из них 85 видов неворобьиных птиц и 130 видов воробьиных птиц) были собраны Александром Сергеевичем в Украине (Запорожская, Луганская, Харьковская, Херсонская области и сборы по Автономной Республике Крым) – 619 экземпляров, в России (Волгоградская, Мурманская, Сахалинская области; Камчатский, Краснодарский край, Республика Дагестан) – 536 экземпляров, в Туркменистане (Ахалский велаят) – 129 экземпляров, в Грузии (Тбилиси, Имеретия, Автономная Республика Аджария) – 6 экземпляров и в Армении – 2 экземпляра.

Сборы Александра Сергеевича, представленные тушками, хранятся в научной коллекции музея в фондовом помещении в специальных ящиках. Чучела выставлены в экспозицию и находятся в шкафах или витринах. Каждый экземпляр из коллекционных сборов имеет инвентарный номер, правильно заполненную, подробную этикетку, с указанием пола, места и даты добычи, кем определен вид, кем изготовлена тушка или чучело. Каждый экземпляр занесен в каталог и базу данных орнитологической коллекции музея.

Сборы Александра Сергеевича Лисецкого существенно обогатили орнитологическую коллекцию музея, пополнили ее экземплярами редких видов, представленных в коллекции единичными экземплярами, расширили географию мест находок и общий список видов. Огромная база данных, которая может быть использована для изучения видового разнообразия, географического распространения, закономерностей изменчивости рисунка и окраски оперения у птиц и других разнообразных научных исследований, – сборы Александра Сергеевича Лисецкого являются бесценным материалом для специалистов.

Список литературы / References

Девятко Т.Н., Джамирзоев Г.С. Каталог орнитологической коллекции Музея природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина (Кавказ, южные регионы России и Украины, Средняя Азия, Казахстан). – Харьков, 2012. – 398с. /Devyatko T.N., Dzhampirzoev G.S. Catalog of the ornithological collection of the Museum of Nature of the V.N.Karazin Kharkiv National University (Caucasus, southern regions of Russia and Ukraine, Central Asia, Kazakhstan). – Kharkov, 2012. – 398p./

Кривицкий И.А. Александр Сергеевич Лисецкий // Орнитологи Украины (биобиблиографический справочник). Авторы-составители: Т.А.Атемасова, И.А.Кривицкий. Вып.1. – Харьков, 1999. – С. 214–218. /Krivitsky I.A. Alexander Sergeevich Lisetskiy // Ornithologists of Ukraine (bio-bibliographic reference book). Compiled by: T.A.Atemasova, I.A.Krivitsky. Issue 1. – Kharkov, 1999. – P. 214–218./

Волчанецкий И.Б., Капралова Н.И., Лисецкий А.С. К орнитофауне Эльтонского района Заволжья и ее реконструкции в связи с полезащитным лесонасаждением // Зоол. журн. – 1950. – Т.29, вып.6. – С. 501–512. /Volchanetskiy I.B., Kapralova N.I., Lisetskiy A.S. On the avifauna of the Elton region of the Trans-Volga region and its reconstruction in connection with field-protective forest stands // Zool. Journal. – 1950. – Vol.29, issue 6. – P. 501–512./

Баник М.В., Девятко Т.Н. Пеночка-зарничка (*Phylloscopus inornatus*) – новый вид фауны Крыма // Бранта. Сборник научных трудов Азово-Черноморской орнитологической станции. – Мелитополь, 2011. – Вып.14. – С. 143–147. /Banik M.V., Devyatko T.N. Yellow-browed Warbler (*Phylloscopus inornatus*) – a new species of the fauna of Crimea // Branta. Digest of scientific papers of the Azov-Black Sea ornithological station. – Melitopol, 2011. – No.14. – P. 143–147./

Лисецкий А.С. Об изменении фауны водных и болотных птиц Восточной Украины за последние 70–80 лет // География ресурсов водоплавающих птиц в СССР, состояние запасов, пути их воспроизводства и правильного использования: тезисы докладов конференции. Т.1. – М., 1965а. – С. 111–112. /Lisetskiy A.S. On the change in the fauna of water and wetland birds in Eastern Ukraine over the past 70–80 years // Geography of Waterfowl Resources in the USSR, Stock Status, Ways of their Reproduction and Proper Use: abstracts of the conference. Vol.1. – Moscow, 1965a. – P. 111–112./

Лисецкий А.С. Об изменении фауны птиц Восточной Украины за последние 100 лет // Новости орнитологии. – Алма-Ата, 1965б. – С. 219–221. /Lisetskiy A.S. On the change in the fauna of birds of Eastern Ukraine over the past 100 years // News of ornithology. – Alma-Ata, 1965b. – P. 219–221./

Лисецкий А.С. Об изменении фауны птиц Харьковской области за последние сто лет // Природные и трудовые ресурсы Левобережной Украины и их использование. – М., 1966. – Т.7. – С. 372–374. /Lisetskiy A.S. On the change in the fauna of birds in the Kharkov region over the past hundred years // Natural and labor resources of the Left Bank of Ukraine and their use. – Moscow, 1966. – Vol.7. – P. 372–374./

Лисецкий А.С. Животный мир Харьковской области // Материалы Харьковского отдела Географического общества Украины. Вып.8. Харьковская область. Природа и хозяйство. – Х., 1970. – С. 92–104. /Lisetskiy A.S. The fauna of the Kharkov region // Materials of the Kharkov Department of the Geographical Society of Ukraine. Issue 8. Kharkov region. Nature and economy. – Kharkov, 1970. – P. 92–104./

Лисецкий А.С. Новые сведения о распространении птиц на Северо-Востоке Украины // Экология и охрана птиц: тез. докл. 8-й Всесоюзной орнитологической конференции. – Кишинев, 1981. – С.139. /Lisetskiy A.S. New data on the distribution of birds in the North-East of Ukraine // Ecology and bird protection: abstracts of the 8th All-Union Ornithological Conference. – Chisinau, 1981. – P.139./

Представлено: М.Д.Матвеев / Presented by: M.D.Matveev

Рецензент: Т.А.Атемасова / Reviewer: T.A.Atemasova

Подано до редакції / Received: 25.09.2019

Про автора: Т.М.Дев'ятко – Музей природи Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна, вул. Тринклера, 8, Харків, Україна, 61022, devjatko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9567-7898>

About the author: T.N.Devyatko – Nature Museum, V.N.Karazin Kharkiv National University, Trinkler Str., 8, Kharkiv, Ukraine, 61022, devjatko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9567-7898>

Об авторе: Т.Н.Девятко – Музей природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина, ул. Тринклера, 8, Харьков, Украина, 61022, devjatko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9567-7898>

УДК: 929Лисецький:[59:069](477)

**Олександр Сергійович Лисецький і колекція кажанів Музею природи
Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна
Ю.В.Ільюхін**

Олександр Сергійович Лисецький (1919–1991 рр.), сторіччя зі дня народження якого виповнюється у цьому році, був досить відомим орнітологом і теріологом та працював довгий час доцентом на кафедрі зоології Харківського університету. Він з дитинства цікавився зоологією і був юннатом Харківського палацу піонерів і зоопарку ще з 1934 р. Почав своє навчання О.Лисецький на біологічному факультеті ХНУ у 1938 р. і закінчив його вже після Великої Вітчизняної війни у 1948 р. Саме у ці роки (з 1937 по 1947 рр.) ним разом з його студентським товаришем А.Куниченком і була зібрана колекція тушок кажанів, яка зберігається у Музеї природи ХНУ. Внаслідок того, що на етикетках майже всіх зразків не вказані прізвища колекторів, їх колекція була визначена нами завдяки порівнянню усіх даних (колекційних номерів, дат тощо) зразків з даними, наведеними у їх праці «К фауне летучих мышей (Chiroptera) Харьковской области», яка була опублікована у 1952 р. Взагалі у колекції Музею природи на наш час налічується 139 зразків кажанів, які належать до 18 видів, 11 родів та 3 родин. При цьому більша частина – 129 зразків належать до родини Лиликових – Vespertilionidae. З них 52 зразки були зібрані саме О.Лисецьким (разом з А.Куниченком). Цей матеріал наведено у порівняльній таблиці. З 9 видів цієї родини, представлених у їх зборах, 6 видів представлені 50 і більш відсотками від загальної чисельності всіх зразків, що зберігаються в Музеї природи. Це види: *Myotis dasycneme* (66,6%), *Plecotus auritus* (75%), *Nyctalus lasiopterus* (100%), *Nyctalus leisleri* (55%), *Pipistrellus nathusii* (83,3%), *Vespertilio murinus* (100%). При цьому достеменно ж належать до їх зборів два види – це єдиний зразок *Nyctalus lasiopterus* і обидва зразки *Vespertilio murinus*. В наш час всі ці зразки (крім *Nyctalus lasiopterus*, якого виставлено в експозиції) зберігаються в окремих ящиках у приміщенні наукових фондів. Ми можемо констатувати, що саме збори О.Лисецького та А.Куниченка становлять превалюючу частину колекційного наукового матеріалу кажанів Музею природи Харківського університету.

Ключові слова: О.С.Лисецький; кажани; колекції; Музей природи; Харківський університет.

**Alexandr Sergeevich Lisetskiy and his collection of bats in the Museum of
Nature at V.N.Karazin Kharkiv National University
Yu.V.Ilyukhin**

Aleksandr Sergeevich Lysetskiy (1919–1991), whose centenary is celebrated this year, was a well-known ornithologist and mammologist and worked for a long time as an associate professor at the Department of Zoology at Kharkiv University. He has been interested in zoology since childhood and has been a young naturalist at the Kharkov Pioneer Palace and in Kharkiv Zoo as early as 1934. A.Lysetskiy started his studies at the biological faculty of KhNU in 1938 and finished it after the Great Patriotic War in 1948. Already in these years (from 1937 to 1947) he, together with his student friend A.Kunichenko, collected bat specimens, which are now stored in the Museum of Nature of KhNU. Since the labels of almost all specimens do not have the names of collectors, this collection was determined by us by comparing all the data (collection numbers, dates etc.) of the samples with the data given in their paper "To the bat fauna (Chiroptera) of Kharkiv region", which was published in 1952. In total, the Museum of Nature collection now has 139 specimens of bats from 18 species, 11 genera and 3 families. The majority – 129 specimens belong to the family Vespertilionidae. Of these, 52 specimens were collected by A.Lisetskiy (together with A.Kunichenko). This material is provided in the comparative table. Of the 9 species of this family represented in their collection, 6 species are representing fifty or more percent of the total number of all specimens stored in the Museum of Nature. These species are: *Myotis dasycneme* (66.6%), *Plecotus auritus* (75%), *Nyctalus lasiopterus* (100%), *Nyctalus leisleri* (55%), *Pipistrellus nathusii* (83.3%), *Vespertilio murinus* (100%). Only these collectors provided specimens of two species: these are the only specimen of *Nyctalus lasiopterus* and both specimens of *Vespertilio murinus*. Nowadays, all of these specimens (except *Nyctalus lasiopterus*, which is on display) are stored in separate boxes in the scientific collection of the museum. We can conclude that the collection of A.Lisetskiy and A.Kunichenko make up the prevailing part of the scientific collection of bats of the Museum of Nature of Kharkiv University.

Key words: A.S.Lisetskiy; bats; collections; Museum of Nature; Kharkiv University.

**Александр Сергеевич Лисецкий и коллекция летучих мышей Музея природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина
Ю.В.Ильяхин**

Александр Сергеевич Лисецкий (1919–1991 гг.), столетие со дня рождения которого исполняется в этом году, был довольно известным орнитологом и териологом и работал долгое время доцентом на кафедре зоологии Харьковского университета. Он с детства интересовался зоологией и был юннатом Харьковского дворца пионеров и зоопарка еще с 1934 года. Начал А.Лисецкий свое обучение на биологическом факультете ХНУ в 1938 г. и окончил его уже после Великой Отечественной войны в 1948 г. Именно в эти годы (с 1937 по 1947 гг.) им вместе с его студенческим товарищем А.Куниченко и была собрана коллекция тушек летучих мышей, которая и сохраняется в Музее природы. Вследствие того, что на этикетках практически всех образцов не указаны фамилии коллекторов, их коллекция была нами определена лишь благодаря сравнению всех имеющихся данных (коллекционных номеров, дат и пр.) образцов с данными, представленными в их работе «К фауне летучих мышей (Chiroptera) Харьковской области», опубликованной в 1952 г. В целом в коллекции Музея природы в настоящее время насчитывается 139 образцов летучих мышей, которые относятся к 18 видам, 11 родам и 3 семействам. При этом большая часть – 129 образцов относятся к семейству Гладконосых – Vespertilionidae. Из них 52 образца были собраны именно А.Лисецким (вместе с А.Куниченко). Этот материал приведен в сравнительной таблице. Из 9 видов рода, представленных в их сборах, 6 видов представлены 50 и более процентами от общей численности всех образцов, хранящихся в Музее природы. Это виды: *Myotis dasycneme* (66,6%), *Plecotus auritus* (75%), *Nyctalus lasiopterus* (100%), *Nyctalus leisleri* (55%), *Pipistrellus nathusii* (83,3%), *Vespertilio murinus* (100%). Единственный образец *Nyctalus lasiopterus* и оба образца *Vespertilio murinus* – также относятся к их собранию. Сейчас все эти образцы (кроме выставленного в экспозиции *Nyctalus lasiopterus*) хранятся в отдельных ящиках в помещении научных фондов. Мы можем констатировать, что именно сборы А.Лисецкого и А.Куниченко составляют преобладающую часть коллекционного научного материала летучих мышей Музея природы Харьковского университета.

Ключевые слова: А.С.Лисецкий; летучие мыши; коллекции; Музей природы; Харьковский университет.

Вступ

У 2019 р. виповнюється 100 років від народження доцента кафедри зоології та екології тварин (на той час зоології хребетних) Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна Олександра Сергійовича Лисецького (1919–1991 рр.). Народився він на Вінниччині, але вже 1934 року переїхав до Харкова. З дитинства цікавився зоологією і був юннатом Харківського палацу піонерів і зоопарку. Навчався О.Лисецький на біологічному факультеті Харківського університету з 1938 р. На початку Великої Вітчизняної війни він був призваний до лав діючої армії у танкові війська, де влітку 1942 р. під Сталінградом отримав важке поранення. Продовживши перерваною військовою навчання на біофаку, він закінчив його у 1948 р. Захистив кандидатську дисертацію по гризунах і до 1991 р. працював доцентом ХНУ. Відомий О.Лисецький не лише як териолог, але і як орнітолог. Був він досить складною і неординарною особистістю. Багато студентів, включаючи і автора, саме під його керівництвом захистило свої дипломні роботи.

У цій роботі ми наведемо дані про значення зборів О.С.Лисецького у накопиченні колекційного матеріалу кажанів, який зберігається у Музеї природи Харківського університету. Роль зборів саме О.С.Лисецького можна визначити досить точно завдяки його роботі «К фауне летучих мышей (Chiroptera) Харьковской области» (Лисецкий, Куниченко, 1952).

Значення колекційного матеріалу дуже важливе, і тому його накопичення й каталогізація є однією з головних задач наукової діяльності музеїв. Музей природи Харківського університету заснований ще у 1807 році і є одним із найбільших і найстаріших природничих музеїв України. За довгу історію музею в ньому накопичено багато цінного наукового матеріалу (в тому числі й териологічного), який в наш час виставлений в експозиції, а також зберігається у наукових фондах (Криволапов, 2007).

Матеріал

На наш час у колекції Музею природи налічується 139 експонатів кажанів, які у вигляді як вологих препаратів, так і опудал і тушок виставлені в експозиції або зберігаються у фондовому приміщенні. Ці експонати представляють 18 видів 11 родів трьох родин (Ільяхін, 2018).

Експозиційна частина колекції виставлена у залі ссавців №18, а наукова частина колекції зберігається у фондовому приміщенні. Взагалі колекція кажанів Музею є однією з найдавніших в Україні і має велику наукову цінність. Найбільше зразків (129 тушок, опудал і вологих препаратів) належить до родини Лиликових – *Vespertilionidae*. При цьому 52 зразки кажанів 9 видів цієї родини – це збори саме О.С.Лисецького і його студентського товариша А.А.Куниченка. Почали збирати цю колекцію ще 1935 року (серед зразків нашого музею найстаріші датовані 1937 роком). Як писав сам О.С.Лисецький: «Більша частина зібраною нами колекції і щоденників загинули під час німецької окупації Харкова. Вцілілі зразки кажанів знаходяться у зоологічному музеї при біологічному факультеті Харківського державного університету» (Лисецький, Куниченко, 1952).

Автором переглянуто всі наявні фондові колекції і експозиційний матеріал. Наведені всі наявні дані про музейні зразки, які були здобуті О.С.Лисецьким разом з А.А.Куниченком, з даними часу і міста здобуття і наявними авторськими номерами (без вимірів і колекційних музейних номерів). Робота була ускладнена тим, що колектори, на жаль, не вказували на етикетках цих зразків своє прізвище, і належність зразків до їх зборів ми змогли віднести, лише порівнюючи дані етикеток (авторські дво- і тризначні номери – якщо вони є, дати і місця здобуття) з роботою самих колекторів (Лисецький, Куниченко, 1952). При цьому кількість зразків, зібрана ними, виявилась дещо іншою, ніж ми вважали раніше (Ільяхін, 2018).

Скорочення в тексті: HAR – Харківська обл., SUM – Сумська обл., чер. – череп, М – самець, F – самка, S – стать не відома, n – кількість екз., ad – дорослий, juv – маля, обл. – область, р-н – район, м. – місто, с. – село, б.н. – не має номеру, ХНУ – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, МПХУ – Музей природи Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна, Д.Б.С. – «Донецька біостанція», тобто біостанція Харківського національного університету.

Аналіз та обговорення

Порядок наведення видів у цій статті відповідає сучасним оглядам фауни (Павлинов, 2003); порядок наведення і назви (з їхніми авторами та датами опису) видів, які відомі у складі фауни України, вивірено за відповідним оглядом (Загороднюк, Ємельянов, 2012).

Перелік зразків колекції, які були зібрані О.С.Лисецьким разом з А.А.Куниченком

1. *Myotis dasycneme* Boie, 1825 – нічниця ставкова ($n=2$)

• HAR, Зміївський р-н, околиці Коропова, $n=2$ (30.04.1938 р. №39 – 1 F ad; 13.08.1938 р. №40 – 1 M ad, всі тушки з чер.). Зберігаються у фондах.

Вид в Україні доволі рідкісний, і ці зразки – одні з небагатьох відомих в музеях України (Загороднюк, Годлевська, 2001).

2. *Plecotus auritus* Linnaeus, 1758 – вухань бурий ($n=6$)

• HAR, Харків, приміська зона Помірки, $n=6$ (13.06.1937 р. №179 – 1 M ad; №180, №181 – 2 F ad; №176, №177 – 2 M juv; №178 – 1 F juv, тушки з чер. – крім однієї). Зберігаються у фондах.

Раніше всі 7 зразків цього виду з фондової колекції ми вважали здобутими В.П.Кудокоцевим (Ільяхін, 2018). При більш ретельному огляді виявилось, що 6 зразків було здобуто саме О.С.Лисецьким, а лише 1 зразок – В.П.Кудокоцевим.

3. *Nyctalus lasiopterus* Schreber, 1780 – вечірниця велетенська ($n=1$)

• HAR, Зміївський р-н, околиці Коропова, 18.04.1938 р. – 1 M ad, тушка з чер. Виставлена в експозиції. Дуже рідкісний вид, відомо до 20 місцезнаходжень на території України (Червона книга ..., 2009). Єдиний зразок цього виду, експонується у залі ссавців №18.

4. *Nyctalus noctula* Schreber, 1774 – вечірниця дозирна ($n=14$)

• HAR, Харківський р-н., околиці Харкова, Померки, $n=4$ (30.05.1938 р. №69 – 1 M ad; 30.06.1938 р. №84 – 1 F ad; 29.08.1939 р. №18 – 1 M ad; 18.06.1939 р. №183 – 1 F ad), усі тушки з чер. • HAR, Зміївський р-н, Коропове, $n=8$ (1938 р.: 18.04. №77, №78 – 2 F ad; 1.05. №41, №72 – 2 F ad; 12.05. №63 – 1 F ad; 18.05. №64, №76 – 2 F ad; 27.07. №97 – 1 F ad), усі тушки з чер. • HAR, Чугуївський р-н, с. Есхар, 21.08.1937, $n=2$ (№16 – 1 M ad, №17 – 1 F ad), тушки з чер. Зберігаються у фондах.

5. *Nyctalus leisleri* Kuhl, 1817 – вечірниця мала ($n=11$)

• HAR, Харківський р-н., околиці Харкова, Померки $n=2$ (29.08.1937 р. №28 – 1 M ad, 30.05.1938 р. №70 – 1 F ad), усі тушки з чер.; • HAR, Харківський р-н, с. Бабаї, $n=2$ (18.06.1938 р., №80, №81 – 2 F ad, тушки з чер.) • HAR, Зміївський р-н, Коропове, $n=7$ (12.07.1937 р. №19 – 1 M ad; 17.07.1937, №20, №21, №22, №25, №27 – 5 F ad, №24 – 1 M ad), тушки з чер. Зберігаються у фондах.

6. *Pipistrellus nathusii* Keyserling et Blasius, 1839 – нетопир лісовий ($n=10$)

• HAR, Зміївський р-н, окол. Д.Б.С., 30.04.1939 р., $n=2$ (№170, №171 – 2 F ad, тушки з чер.). HAR, Зміївський р-н, окол. Коропова, 14.05.1939 р., $n=1$ (№172 – 1 F ad, тушка з чер.) • HAR, Харківський

р-н, окол. Велико-Данилівського лісництва, 27.08.1946 р., $n=2$ (б.н. 2 F ad, тушки з чер.). • SUM, Тростянецький р-н, Нескучанське лісництво, 15.06.1946 р., $n=5$ (б.н. 5 F ad: 4 тушки з чер., 1 тушка без чер.). Зберігаються у фондах.

7. *Pipistrellus pipistrellus* Schreber, 1774 – нетопир-карлик ($n=4$)

• HAR, Зміївський р-н, околиці Коропова 26–28.06.1938 р., $n=1$ (№94 – 1 F ad, тушка з чер.); • SUM, Тростянецький р-н, Нескучанське лісництво, 15.06.1946 р., $n=3$ (б.н. 2 F ad, тушки з чер., 1 F ad, тушка без чер. і без даних). Зберігаються у фондах.

8. *Eptesicus serotinus* Schreber, 1774 – пергач пізній ($n=2$)

• HAR, Харків, 3.06.1937 р., $n=1$ (№2 – 1 M ad, тушка без чер.). • HAR, Харків, 22.11.1938 р., $n=1$ (№146 – 1 M ad, тушка без чер.). Зберігаються у фондах.

9. *Vespertilio murinus* Linnaeus, 1758 – лилик двоколірний ($n=2$)

• HAR, окол. м. Ізюм, 6.06.1947 р., $n=2$ (№259, №260 – 2 F ad), тушки без чер. Зберігаються у фондах.

На цей час у наукових фондах і експозиції Музею природи зберігається 52 екз. кажанів 9 видів родини Vespertilionidae, які були зібрані О.С.Лисецьким разом з А.А.Куниченком. Всього ж колекція кажанів налічує 139 екз., які належать до 18 видів, 11 родів та 3 родин. Якщо ж порівняти вклад зборів О.С.Лисецького по родині Vespertilionidae, то тут частина їх зборів дуже велика (табл. 1).

Таблиця 1.

Обсяг наявного і зібраного О.С.Лисецьким матеріалу родини Vespertilionidae за систематичними групами

Роди і обсяг видів	Вид і загальна кількість наявних зразків	Кількість зразків по видах, які зібрані О.С.Лисецьким з А.А.Куниченком	
		загальна	у відсотках до всього наявного матеріалу
<i>Myotis</i> (3 види)	<i>Myotis myotis</i> (8)	–	0%
	<i>M. dasycneme</i> (3)	2	66,6%
	<i>M. daubentoni</i> (4)	–	0%
<i>Plecotus</i> (1 вид)	<i>Plecotus auritus</i> (8)	6	75%
<i>Nyctalus</i> (3 види)	<i>Nyctalus lasiopterus</i> (1)	1	100%
	<i>N. noctula</i> (50)	14	28%
	<i>N. leisleri</i> (20)	11	55%
<i>Pipistrellus</i> (2 види)	<i>Pipistrellus nathusii</i> (12)	10	83,3%
	<i>P. pipistrellus</i> (9)	4	44,4%
<i>Eptesicus</i> (1 вид)	<i>Eptesicus serotinus</i> (8)	2	25%
<i>Vespertilio</i> (1 вид)	<i>Vespertilio murinus</i> (2)	2	100%
<i>Miniopterus</i> (1 вид)	<i>Miniopterus schreibersii</i> (4)	–	0%
Разом	7 родів, 12 видів, 129 зразків	6 родів, 9 видів, 52 зразки	

Відсоткове відношення їх зборів до загального обсягу колекції цієї родини в МПХУ виявляється наступним: *Myotis dasycneme* (66,6%), *Plecotus auritus* (75%), *Nyctalus lasiopterus* (100%), *Nyctalus noctula* (28%), *Nyctalus leisleri* (55%), *Pipistrellus nathusii* (83,3%), *Pipistrellus pipistrellus* (44,4%), *Eptesicus serotinus* (25%), *Vespertilio murinus* (100%). При цьому з представлених 9 видів їх колекції 5 видів репрезентують загальний обсяг 50 і більше відсотками, з яких 2 види – це *Plecotus auritus* і *Pipistrellus nathusii* представлені відповідно 75% і 83,3%, а *Nyctalus lasiopterus* (єдиний екземпляр) і *Vespertilio murinus* – це 100%. Виходячи з вище наведеного матеріалу можна стверджувати, що саме збори О.С.Лисецького і А.А.Куниченка 30–40-х років ХХ сторіччя становлять превалюючу частину колекційного матеріалу МПХУ, особливо її фондової частини. Але при цьому слід зауважити, що у ці роки, крім О.С.Лисецького і А.А.Куниченка, збором кажанів займалось багато дослідників, такі як Г.П.Московський, Г.П.Матвеева, А.М.Маньковський та ін. При порівнянні зразків, які були нами наведені, із зразками, наведеними в рукопису Г.П.Московського (Московский, 1941), є співпадіння 8 зразків (по датам,

місцям добичі і статі). Це співпадіння можливо пояснити тим, що в одних і тих самих місцях, в один час могло працювати декілька колекторів (Влащенко, 2011). Можливо, мала місце і деяка плутанина колекційного матеріалу. Зараз ми можемо лише вшанувати пам'ять всіх цих людей, які у ті важкі і вже далекі від нас часи займалися цією важливою колекційною і науковою справою

Подяки

Щиро дякую Т.Атемасовій за ідею статті та значну допомогу при підготовці цієї публікації і О.Зіненку за допомогу у перекладі необхідних частин тексту англійською мовою.

Список літератури / References

- Загороднюк І., Годлевська Л. Кажани в колекціях зоологічних музеїв України: огляд і фенологічний аналіз даних // Міграційний статус кажанів в Україні. – Київ, 2001. – С. 122–156. (Novitates Theriologicae; Pars 6). /Zagorodnjuk I., Godlev'ska L. Bats in the collections of zoological museums of Ukraine: overview and phenological analysis of data // Migration status of bats in Ukraine. – Kyiv, 2001. – P. 122–156. (Novitates Theriologicae; Pars 6)./
- Загороднюк І.В., Ємельянов І.Г. Таксономія і номенклатура ссавців України // Вісник Національного науково-природничого музею. – 2012. – Т.10. – С. 5–30. /Zagorodnjuk I.V., Emelyanov I.G. Taxonomy and nomenclature of mammals of Ukraine // Bulletin of the National Museum of Natural History. – 2012. – Vol.10. – P. 5–30./
- Ільяхін Ю. Представники ряду Chiroptera в колекції музею природи Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна // Theriologia Ukrainica. – 2018. – Т.16. – С. 77–84. /Ilyukhin Yu. Representatives of the order Chiroptera in the collection of the Museum of Nature at V.Karazin Kharkiv National University // Theriologia Ukrainica. – 2018. – Vol.16. – P. 77–84./
- Влащенко А.С. История исследований и кадастр находок рукокрылых (Chiroptera) на территории Харьковской области в XIX–XX веках // Plecotus et al. – 2011. – Т.14. – С. 26–54. /Maschenko A.S. Research history and list of records of bats (Chiroptera) in the Kharkov Region in the XIX and XX centuries // Plecotus et al. – 2011. – Vol.14. – P. 26–54./
- Московский Г.П. Материалы по изучению фауны Chiroptera в Харьковской области. Рукопись. 1941. 18с. /Moskovsky G.P. Materials on the study of the Chiroptera fauna in the Kharkov region. Manuscript. 1941. 18p./
- Криволапов В.П. О териологической коллекции Музея природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина // Биологический вестник (ХНУ). – 2007. – Т.11, №1. – С.18. /Krivolapov V.P. About theriological collection of the Museum of Nature of V.N.Karazin Kharkiv National University // Biological Newsletter (KhNU). – 2007. – Vol.11, no.1. – P.18./
- Лисецький А.С., Куниченко А.А. К фауне летучих мышей (Chiroptera) Харьковской области // Труды НИИ биологии Харьк. ун-та им. А.М.Горького. – 1952. – Т.16. – С. 87–92 (Ученые записки Харьк. гос. ун-та. Т.44). /Lisetskiy A.S., Kunichenko A.A. To the fauna of bats (Chiroptera) of the Kharkov region // Proceedings of the Research Institute of Biology of A.M.Gorky Kharkov State University. – 1952. – Vol.16. – P. 87–92. (Research Bulletin of Kharkov University. Vol.44).
- Павлинов И.Я. Систематика современных млекопитающих. – М: Изд-во Моск. ун-та, 2003. – С. 160–191. /Pavlinov I.Ya. Systematics of modern mammals. – M: Publishing House of Moscow University, 2003. – P. 160–191./
- Червона книга України. Тваринний світ / За ред. І.Акімова. – Київ: Глобалконсалтинг, 2009. – 600с. /Red Book of Ukraine. Animals / Ed. I.Akimov. – Kyiv: Globalconsulting, 2009. – 600p./

Представлено: І.С.Хамар / Presented by: I.S.Hamar

Рецензент: В.А.Токарський / Reviewer: V.A.Tokarsky

Подано до редакції / Received: 10.09.2019

Про автора: Ю.В.Ільяхін – Музей природи Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна, вул. Тринклера, 8, Харків, Україна, 61022, ilyihinyra@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3985-2764>

About the author: Yu.V.Ilyukhin – Nature Museum, V.N.Karazin Kharkiv National University, Trinkler Str., 8, Kharkiv, Ukraine, 61022, ilyihinyra@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3985-2764>

Об авторе: Ю.В.Ильяхин – Музей природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина, ул. Тринклера, 8, Харьков, Украина, 61022, ilyihinyra@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3985-2764>

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, російською 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**). Далі розміщується анотація 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.

Посилання на літературу у тексті подаються у круглих дужках, вказуються прізвище автора та рік видання. Список посилань складається за абеткою, спочатку кирилицею, потім латиницею. Список не нумерується. Усі неангломовні джерела перекладаються англійською, цей переклад подається поруч (**Arial – 8 pt**).

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 рецензентів, які рекомендують статтю до друку або відхиляють її. При наявності зауважень статтю повертають авторам для доопрацювання.

Оплата за публікацію статті розраховується наступним чином: 200 грн – редакційний внесок + 40 грн за публікацію однієї сторінки. Оплата приймається після отримання автором інформації про прийняття статті до друку.

*** CONTENT ***

*** BIOCHEMISTRY ***

- Nikitchenko I.V., Barannik T.V., Pavliy A.K., Gevoian V.G.** Effect of reduced glutathione on the indexes of oxidative stress and heme metabolism in liver and blood of rats under hemin chloride injection *in vivo*..... 5

*** BOTANY AND PLANT ECOLOGY ***

- Chypylyak T.F.** Dependence of terms of *Iris hybrida* hort. flowering on a temperature factor in the conditions of the steppe zone of Ukraine..... 13

*** GENETICS ***

- Vedmedeva K.V.** Genetic control of the color of ray flowers in sunflower mutant lines..... 21
- Haiboniuk I.Ye., Makukh H.V.** Analysis of the low functional allele 7(TA) of the *UGT1A1* gene in healthy population in the Western region of Ukraine..... 28
- German O.Y., Legostaeva O.V., Babyka O.M.** Induction of bystander effect in root meristem of soybean seedlings after γ -irradiation..... 35
- Feskov O.M., Zhylkova Ye.S., Rudenko V.A., Chumakova N.O., Yegunkova O.V.** Features of the state of the chromosomal apparatus of spouses with disorders of reproductive function..... 41

*** ZOOLOGY AND ECOLOGY ***

- Ahmadova N.A.** The biodiversity and community structure of soil ciliates of Talish forests in south-eastern Azerbaijan 48
- Prychepa M.V.** Current condition of the ornithofauna of the Alexandria Dendrological Park..... 55

*** CELL BIOLOGY ***

- Novikova O.Yu., Bozhok G.A., Bondarenko T.P.** Morphological features of primary cultures of adrenal cells of neonatal animals of different species..... 63

*** MYCOLOGY***

- Reshetnyk K.S.** Cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. influenced by laser irradiation... 71

*** PHYSIOLOGY OF HUMAN AND ANIMALS ***

- Chabanenko O.O., Yershova N.A., Orlova N.V., Shpakova N.M.** Impact of amphiphilic compounds on post-hypertonic shock of human erythrocytes..... 84
- Chaka O.G., Yanko R.V., Safonov S.L., Kolomiets I.I., Levashov M.I.** The effect of sulfur-containing compounds on stress resistance of *Drosophila melanogaster*..... 91

*** PLANT PHYSIOLOGY ***

Avksentieva O.O., Zubrych O.I. Daily dynamics of oligosaccharides, amylase and invertase activity in wheat lines isogenic for <i>PPD</i> genes under conditions of different photoperiod.....	99
Boyko L.I., Zubrovska O.M. Morphological, anatomical, physiological and biochemical adaptations of <i>Pittosporum tobira</i> (Thunb.) W.T.Aiton and <i>P. heterophyllum</i> Franch. to the illumination level.....	111
Gryshko V.M., Lysenko O.I. Phytotoxicity of chromium and nickel in early stage of ontogenetic development of corn	123

*** TO THE 100TH ANNIVERSARY OF THE BIRTH OF A.S.LYSETSKY (1919–1991) ***

Atemasova T.A. Alexandr Sergeyeovich Lisetskiy – to the 100th anniversary of the birth.....	133
Devyatko T.N. The collections of Alexandr Sergeyeovich Lisetskiy in the ornithological collection of the Museum of Nature of V.N.Karazin Kharkiv National University.....	142
Ilyukhin Yu.V. Alexandr Sergeyeovich Lisetskiy and his collection of bats in the Museum of Nature at V.N.Karazin Kharkiv National University.....	156

*** INFORMATION ***

Author guidelines	161
--------------------------------	-----

*** СОДЕРЖАНИЕ ***

*** БИОХИМИЯ ***

- Никитченко И.В., Павлій А.К., Баранник Т.В., Гевоян В.Г.** Влияние восстановленного глутатиона на показатели оксидативного стресса и обмена гема в печени и крови крыс при введении хлорида гемаина *in vivo*..... 5

*** БОТАНИКА И ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ ***

- Чипиляк Т.Ф.** Зависимость сроков цветения *Iris hybrida hort.* от температурного фактора в условиях степной зоны Украины..... 13

*** ГЕНЕТИКА ***

- Ведмедева К.В.** Генетический контроль окраски краевых цветов мутантных линий подсолнечника..... 21
- Гайбонюк И.Е., Макух Г.В.** Анализ низкофункциональной аллели 7(TA) гена *UGT1A1* среди здоровых людей западного региона Украины..... 28
- Герман Е.Ю., Легостаева Е.В., Бабыка О.Н.** Индукция эффекта свидетеля в корневой меристеме проростков сои после γ -облучения..... 35
- Феськов А.М., Жилкова Е.С., Руденко В.А., Чумакова Н.А., Егунькова Е.В.** Особенности состояния хромосомного аппарата супругов при нарушении репродуктивной функции..... 41

*** ЗООЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ ***

- Ахмедова Н.А.** Биоразнообразии и структура сообществ почвенных инфузорий Талышских лесов юго-восточного Азербайджана..... 48
- Причепа Н.В.** Современное состояние орнитофауны дендропарка Александрия..... 55

*** КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ ***

- Новикова О.Ю., Божок Г.А., Бондаренко Т.П.** Морфологические особенности первичных культур клеток надпочечников неонатальных животных разных видов 63

*** МИКОЛОГИЯ ***

- Решетник Е.С.** Культивирование *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. при влиянии лазерного облучения..... 71

*** ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ ***

- Чабаненко Е.А., Ершова Н.А., Орлова Н.В., Шпакова Н.М.** Влияние амфифильных соединений на постгипертонический шок эритроцитов человека 84
- Чака Е.Г., Янко Р.В., Сафонов С.Л., Коломиец И.И., Левашов М.И.** Влияние серосодержащих соединений на устойчивость к стрессу *Drosophila melanogaster*..... 91

*** ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ ***

Авксентьева О.А., Зубрич О.И. Суточная динамика олигосахаридов, амилазная и инвертазная активность у изогенных по генам <i>PPD</i> линий пшеницы в условиях разного фотопериода.....	99
Бойко Л.И., Зубровская О.Н. Морфолого-анатомические и физиолого-биохимические признаки адаптации <i>Pittosporum tobira</i> (Thunb.) W.T.Aiton и <i>P. heterophyllum</i> Franch. с уровнем освещения.....	111
Гришко В.М., Лысенко О.И. Фитотоксичность хрома и никеля на начальном этапе онтогенетического развития кукурузы.....	123

*** К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ А.С.ЛИСЕЦКОГО (1919–1991) ***

Атемасова Т.А. Александр Сергеевич Лисецкий – к 100-летию со дня рождения.....	133
Девятко Т.Н. Сборы Александра Сергеевича Лисецкого в орнитологической коллекции Музея природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина.....	142
Ильяхин Ю.В. Александр Сергеевич Лисецкий и коллекция летучих мышей Музея природы Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина.....	156

*** ИНФОРМАЦИЯ ***

Правила для авторов	161
----------------------------------	-----