

ISSN 2078-8673

БІОЛОГІЧНІ СИСТЕМИ

НАУКОВИЙ ВІСНИК
ЧЕРНІВЕЦЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ

БІОЛОГІЯ

Рік заснування 1996

**Том 7
Випуск 1**

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ

Чернівці
Чернівецький національний університет
2015

Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – Т. 7, Вип. 1. – Чернівці: Чернівецький національний університет, 2015. – 140 с.

Scientific Herald of Chernivtsi University. Biology (Biological Systems). – Vol. 7, Is. 1. – Chernivtsi : Chernivtsi National University, 2015. – 140 p.

У випуску висвітлено проблеми біохімії, молекулярної генетики, біотехнології, екології, ботаніки, збереження біоти і біоресурсів, ґрунтознавства, над якими працюють науковці Чернівецького національного університету та інших наукових установ і вузів України.

The articles of the journal highlight actual problems of biochemistry, molecular genetics, biotechnology, ecology, protection of biodiversity and acclimation, soil sciences, which are studied by the scientists of Chernivtsi National University as well as other universities and research institutes of Ukraine.

*Друкується за ухвалою вченої ради
Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича*

Редакційна колегія:

Головний редактор **М. М. Марченко**
Заступники головного редактора:
С. С. Костишин, Р. А. Волков

**І. П. Григорюк, Ю. М. Дмитрук,
Г. П. Копильчук, С. С. Руденко, І. І. Чорней**

Editorial Board:

Editor-in-Chief: **M. M. Marchenko**
Deputy Editors:
S. S. Kostyshyn, R. A. Volkov

**I. P. Hryhoryuk, Y. M. Dmytruk,
G. P. Kopylchuk, S. S. Rudenko, I. I. Chorney**

Редакційна рада:

**В. С. Акатов (Росія)
В. С. Бленер (США)
В. Гемлебен (Німеччина)
В. А. Кунах
М. Я. Співак
І. Ф. Мещишен
В. М. Решетніков (Білорусь)
С. Скіба (Польща)
Я. Собоцка (Словаччина)
О. Б. Стрельцов (Росія)
Л. Фартайш (Румунія)
М. М. Федорончук**

Відповідальні секретарі:
І. О. Шмараків, В. В. Буджак

Editorial Council:

**V. S. Akatov (Russia)
W. S. Blaner (USA)
V. Hemleben (Germany)
V. A. Kunakh
N. Ya. Spivak
I. F. Meschyshen
V. M. Reshetnikov (Bilorusia)
S. Skiba (Poland)
J. Sobotska (Slovakia)
O. B. Streltsov (Russia)
L. Fartais (Romania)
M. M. Fedoronchuk**

Responsible Secretaries:
I. O. Shmarakov, V. V. Budzhak

Свідомство про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації
Міністерства Юстиції України серія КВ № 15752-4224Р від 12.10.2009

Загальнодержавне видання

**Журнал входить до переліку наукових фахових видань України,
в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття
наукових ступенів доктора і кандидата наук**

Адреса редколегії:

Інститут біології, хімії та біоресурсів
Чернівецького національного університету імені
Юрія Федьковича,
вул. Лесі Українки, 25
м. Чернівці, Україна, 58012

Address for correspondence:

Institute of Biology, Chemistry and Natural Resources
Yuriy Fedkovych
Chernivtsi National University
Lesya Ukrainka Str., 25
Chernivtsi, Ukraine, 58012

www.bio.chnu.edu.ua/vb
E-mail: vb@chnu.edu.ua

EXPRESSION OF *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1*, AND *HLF* GENES IN SUBCUTANEOUS ADIPOSE TISSUE OF OBESE MEN WITH AND WITHOUT GLUCOSE TOLERANCE

D. O. MINCHENKO^{1,2}

¹*Department of Molecular Biology, Palladin Institute of Biochemistry,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;*

²*Department of Pediatrics, Bohomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine;
e-mail: ominchenko@yahoo.com*

We studied the expression of CIDEA, CYR61, AZGP1, ASK1, and HLF genes in subcutaneous adipose tissue of two groups of obese men: with normal and impaired glucose tolerance as compared to control group (lean subjects). It was shown that the expression level of CIDEA, AZGP1, ASK1, and HLF genes is decreased in subcutaneous adipose tissue of obese men with normal glucose tolerance as compared to control group. At the same time, the expression of CYR61 gene is increased in subcutaneous adipose tissue at these experimental conditions. Magnitude of obesity-mediated changes in expression levels of these genes was gene specific and more robust in the case of AZGP1 gene. In the group of obese men with glucose intolerance the level of CYR61 gene expression in subcutaneous adipose tissue is also increased as compared to control group, but was significantly lower than in obese patients with normal glucose tolerance. At the same time, the expression of ASK1 and CIDEA genes is increased in subcutaneous adipose tissue in the group of obese men with glucose intolerance versus obesity group without impaired glucose tolerance. Results of this study provide evidence that the expression of CIDEA, CYR61, AZGP1, ASK1, and HLF genes is changed in subcutaneous adipose tissue of obese men with normal glucose tolerance and these changes possibly associated with developing of obesity and metabolic abnormalities. However, impaired glucose tolerance in obesity is associated with up-regulation of ASK1 and CIDEA genes and down-regulation of CYR61 gene expressions.

Key words: mRNA expression, CIDEA, CYR61, AZGP1, ASK1, HLF, subcutaneous adipose tissue, obesity, glucose intolerance.

Introduction. The obesity is the most profound public health problems and associated with dysregulation of basic metabolic processes and development of metabolic complications, including insulin resistance (Bray and Young, 2009; Huang et al., 2011; Kovac et al., 2009; Scott et al., 2008). In obese individuals adipose tissue is at the center of metabolic complications and increased body weight through the activation of proliferative processes in fat tissue; however, it is correct for initial step of this disease, when weight increases. After them, body mass is stabilized (weight maintenance) and proliferation processes are decreased. The processes of weight up or loss and weight maintenance should be viewed as biologically distinct (Johansson et al., 2012). Moreover, the obesity is a risk factor of malignancy. Different transcription factors, growth factors and protein kinases, including apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1), cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha-like effector A (CIDEA), cysteine-rich angiogenic inducer 61 (CYR61), zinc-binding alpha-2-glycoprotein 1 (AZGP1), and hepatic leukemia factor (HLF) play an important role in the regulation

of cell proliferation as well as in malignant tumor growth.

Protein kinases regulate a wide array of different physiological events, including cellular growth and proliferation, mitochondrial function and biogenesis, and activity of factors that have been linked to insulin resistance, obesity and its metabolic complications (Bashta et al., 2014; Ruderman et al., 2013; Wang and Kaufman, 2012). An apoptosis signal-regulating kinase (ASK1) is the key regulators of apoptosis as well as different metabolic processes (Prickett et al., 2014; Rastogi et al., 2012). Several molecular and cellular studies have demonstrated relationships between the development of metabolic abnormalities and the disruption of circadian rhythms through dysregulation of circadian and numerous other gene expressions, including genes encoding protein kinases and protein phosphatases for phosphorylation and dephosphorylation of different regulatory factors (Green et al., 2008; Ramsey et al., 2007; Ando et al., 2011; Shimba et al., 2011; Duong et al., 2011; Lombardi et al., 2012; Shaw et al., 2009; Ozcan et al., 2004; Wang and Kaufman, 2012).

Hepatic leukemia factor (HLF) is a member of the proline and acidic-rich (PAR) protein family, a subset of the transcription factors, which forms homodimers or heterodimers with other PAR family members and activate transcription. It promotes resistance to cell death and cycles with circadian rhythms (Waters et al., 2013). The cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha-like effector A (CIDEA) plays an important role in adipocyte lipolysis and obesity, activates apoptosis and this process is inhibited by the DNA fragmentation factor DFF45 but not by caspase inhibitors (Nordstrom et al., 2005). However, CIDE protein expressions are regulated by insulin through PI3K in adipocytes (Ito et al., 2011) and correlate with tumor and survival characteristics in patients with renal cell carcinoma (Yu et al., 2013).

Zinc-binding alpha-2-glycoprotein 1 (AZGP1) protein has ribonuclease activity, stimulates lipid degradation in adipocytes and causes the extensive fat losses associated with some advanced cancers (Huang et al., 2013). Moreover, AZGP1 might serve as a candidate tumor suppressor, because this protein was found in significantly lower level in invasive breast and gastric tissues (Parris et al., 2014; Huang et al., 2013). Cysteine-rich angiogenic inducer 61 (CYR61), which also known as CCN family member 1, is a matrix-associated signaling molecule, promotes cell proliferation, chemotaxis, angiogenesis and cell adhesion, controls the expression of a number of genes involved in angiogenesis, inflammation and matrix remodeling (Jim Leu et al., 2013; Tang et al., 2011).

It is possible that identification of the mechanisms of metabolic abnormalities in obesity and its complications at molecular and cellular levels will be useful for better understanding the developing of obesity and associated with obesity metabolic complications, including insulin resistance. However, a detailed molecular mechanism of the involvement of diverse regulatory networks in the development of obesity and insulin resistance are not clear yet and remains to be determined.

The main goal of this work was to study the role of the expressions of *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1*, and *HLF* genes in subcutaneous adipose tissue of obese individuals with normal and impaired glucose tolerance for evaluation of its possible significance to development of human obesity and glucose intolerance.

Materials and Methods. The 18 male subjects participate in this study, which were divided into three equal groups (6 men in each group): lean individuals as control and two groups of obese patients with or without glucose intolerance. Subjects studied were recruited from the patients'

cohort at Institute of Experimental Endocrinology Slovak Academy of Sciences. All participants gave written informed consent and the studies were approved by the local research ethics committees of Institute of Experimental Endocrinology.

Clinical characteristics of the study participants were previously described (Ratushna O.O. et al., 2012). The lean (control) participants were individuals with mean age 45 ± 8 years and mean body mass index (BMI) 23 ± 1.4 kg/m². The obese participants with normal glucose tolerance as well as the patients with glucose intolerance were individuals with mean age (45 ± 8 and 44 ± 7 years, correspondingly) and mean BMI (32 ± 1.4 and 34 ± 1.4 kg/m², correspondingly). Thus, BMI, which is a main criteria of obesity, in these last two groups of patients was significantly higher (+39 and +48 %, correspondingly; $P < 0.05$) as compared to the group of control individuals. Moreover, obese men with normal glucose tolerance have significantly lower insulin sensitivity index (-35 %; $P < 0.05$). In obese individuals with impaired glucose tolerance, versus obese subjects with normal glucose tolerance, the 2h OGTT (oral glucose tolerance test) and fasting insulin level were significantly increased (+47 and +62 %, correspondingly; $P < 0.05$). At the same time, insulin sensitivity index was decreased almost two fold; $P < 0.05$. Thus, a group of obese patients with impaired glucose tolerance has insulin resistance.

RNasy Lipid Tissue Mini Kit (QIAGEN, Germany) was used for RNA extraction from subcutaneous adipose tissue or isolated adipocytes of lean and obese individuals with normal or impaired glucose tolerance according to manufacturer's protocol.

The expression levels of genes related to regulation of an apoptosis and proliferation (*CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1*, and *HLF*) were measured in subcutaneous fat tissue by real-time quantitative polymerase chain reaction of complementary DNA (cDNA). QuantiTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN, Germany) was used for cDNA synthesis. The 7900 HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems), Absolute QPCR SYBRGreen Mix (Thermo Scientific, UK) and pair of primers specific for each studied gene (Sigma, USA) were used for quantitative polymerase chain reaction.

For investigation of *CIDEA* (cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha-like effector A) gene expression we used next forward and reverse primers: (5'- agaccttgggagacaacacg -3') and (5'- agaaactgtcccgtcacctg -3'). The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 337-356 and 628-609 of human *CIDEA* cDNA (GenBank accession number NM_001279). The size of amplified fragment is 292 bp.

The amplification of CYR61 (cysteine-rich angiogenic inducer 61), also known as CCN1, cDNA was performed using forward primer (5'-ctccctgttttgaatgga -3') and reverse primer (5'-tggtctgctgcatttctg -3'). These oligonucleotides correspond to sequences 852-871 and 1092-1073 of human CYR61 cDNA (GenBank accession number NM_001554). The size of amplified fragment is 241 bp.

For amplification of zinc-binding alpha-2-glycoprotein 1 (AZGP1) cDNA we used forward (5'-acaggtggaaggaatggagg -3') and reverse (5'-tctgcttggttatctgggct -3') primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 317-336 and 591-572 of human AZGP1 cDNA (GenBank accession number NM_001185). The size of amplified fragment is 275 bp.

The amplification of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1), cDNA was performed using forward (5'-aaagaggcttgctggcataa -3') and reverse (5'-tctgcagacatggactctgg -3') primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 2839-2858 and 3090-3071 of human ASK1 cDNA (GenBank accession number NM_005923). The size of amplified fragment is 252 bp.

For amplification of hepatic leukemia factor (HLF) cDNA we used forward (5'-catctcagcatgaccacagc -3') and reverse (5'-ggtctggctcataaccact -3') primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 827-846 and 1060-1041 of human HLF cDNA (GenBank accession number NM_002126). The size of amplified fragment is 234 bp.

The amplification of beta-actin (ACTB) cDNA was performed using forward - 5'-ggacttcgagcaagagatgg -3' and reverse - 5'-agcactgtgtggcgtacag -3' primers. These primers nucleotide sequences correspond to 747 - 766 and 980 - 961 of human ACTB cDNA (GenBank accession number NM_001101). The size of amplified fragment is 234 bp. The expression of beta-actin mRNA was used as control of analyzed RNA quantity. The primers were received from "Sigma" (USA).

The expression of beta-actin mRNA was used as control of analyzed RNA quantity. The amplified DNA fragments were analyzed on a 2 % agarose gel and that visualized by 5x Sight DNA Stain (EUROMEDEA). An analysis of quantitative PCR was performed using special computer program "Differential expression calculator".

Statistical analyses were performed as described previously (Bochkov et al., 2006). All values are expressed as mean \pm SEM from six independent experiments; $P < 0.05$ was considered as significant difference.

Results and Discussion. The expression of *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1*, and *HLF* genes, which encode proteins related to cell proliferation and apoptosis, was studied in subcutaneous adipose tissue of two groups of obese men with and without glucose intolerance and group of lean individuals as control for estimation of its possible significance in the development of obesity and metabolic complications, including glucose intolerance. As shown in Fig. 1, the expression level of mRNA of cysteine-rich angiogenic inducer 61 (CYR61) in subcutaneous adipose tissue of obese men with normal glucose tolerance is strongly increased (+108 %, $P < 0.05$) as compared to control group. At the same time, in the group of obese individuals with glucose intolerance the level of this gene expressions in subcutaneous adipose tissue was significantly higher than in control group (+51 %, $P < 0.05$), but less than in obese patients with normal glucose tolerance (-27 %, $P < 0.05$).

Investigation of the expression of apoptosis signal-regulating kinase 1 clearly demonstrates that in subcutaneous adipose tissue of obese men with normal glucose tolerance the expression level of this mRNA is strongly decreased (close to three fold, $P < 0.05$) as compared to control group (Fig. 2).

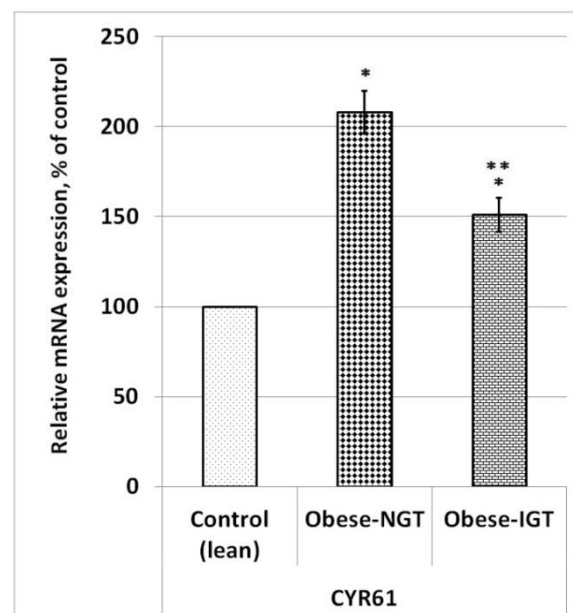


Fig. 1. The expression level of cysteine-rich angiogenic inducer 61 (CYR61) mRNA in subcutaneous adipose tissue of lean men (control) and obese individuals with normal (NGT) and impaired (IGT) glucose tolerance.

The values of CYR61 mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); $n = 6$; * - $P < 0.05$ vs group of control individuals; ** - $P < 0.05$ vs group with obesity and normal glucose tolerance test.

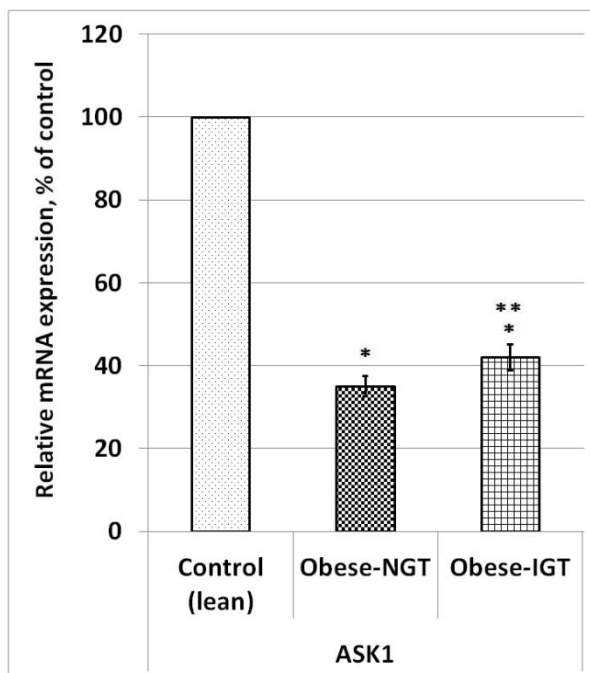


Fig. 2. The expression level of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) mRNA in subcutaneous adipose tissue of lean men (control) and obese individuals with normal (NGT) and impaired (IGT) glucose tolerance.

The values of ASK1 mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); n = 6; * - P < 0.05 vs group of control individuals; ** - P < 0.05 vs group with obesity and normal glucose tolerance test.

Moreover, as shown in Fig. 2, in subcutaneous adipose tissue of obese men with impaired glucose tolerance the expression level of ASK1 mRNA is also decreased as compared to control group (more than two fold, P < 0.05), but is increased as compared to the group of obese subjects with NGT (+20 %, P < 0.05). The expression level of gene, encoded the transcription factor HLF (hepatic leukemia factor) is also decreased in subcutaneous adipose tissue of obese individuals with normal glucose tolerance as compared to the group of men without obesity (two fold, P < 0.05) (Fig. 3). Moreover, similar changes in the level of this gene expression were founded in subcutaneous adipose of obese men with impaired glucose tolerance (-53 %, P < 0.05). Thus, glucose intolerance in obesity does not significantly change the expression of hepatic leukemia factor gene in fat tissue.

As shown in Fig. 4, the expression level of zinc-binding alpha-2-glycoprotein 1 (AZGPI) gene is decreased in subcutaneous adipose tissue (close to seven fold; P < 0.05) of obese individuals with normal glucose tolerance as compared to the group of control men. It was also demonstrated that in this adipose tissue of obese patients with impaired glucose tolerance the expression of AZGPI gene is

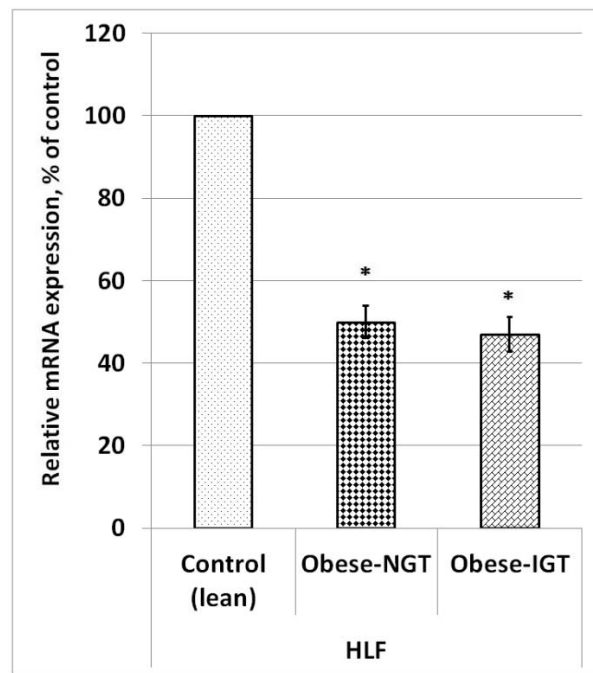


Fig. 3. The expression level of hepatic leukemia factor (HLF transcription factor) mRNA in subcutaneous adipose tissue of lean men (control) and obese individuals with normal (NGT) and impaired (IGT) glucose tolerance.

The values of HLF mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); n = 6; * - P < 0.05 vs group of control individuals.

also decreased with similar magnitude as compared to control individuals. Thus, glucose intolerance in obese men does not associated with changes in AZGPI gene expression in subcutaneous adipose tissue.

We also studied the expression of insulin controlled gene *CIDEA*, encoded cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha-like effector A, which plays an important role in obesity, adipocyte lipolysis and activate apoptosis. As shown in Fig. 5, magnitude of obesity-mediated changes in the expression levels of *CIDEA* gene is similar to that of *ASK1* gene: three fold decrease (P < 0.05) in subcutaneous adipose tissue of obese individuals with normal glucose tolerance as compared to control group. At the same time, in the group of obese individuals with impaired glucose tolerance the expression level of *CIDEA* gene was also decreased in subcutaneous adipose tissue as compared to control group (-54 %; P < 0.01). Thus, these changes are less than that in obese men with normal glucose tolerance in statistically significant manner: in obese individuals with impaired glucose tolerance the expression level of *CIDEA* gene was higher (+39 %; P < 0.05) as compared to obese patients with normal glucose tolerance (Fig. 5).

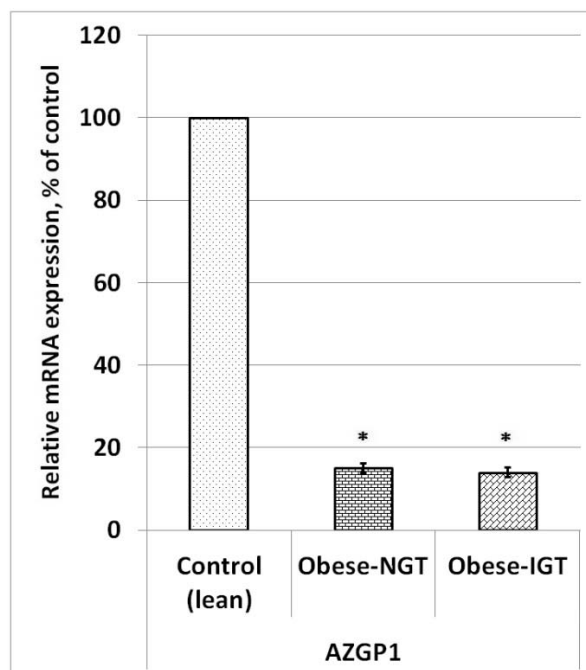


Fig. 4. The expression level of zinc-binding alpha-2-glycoprotein 1 (AZGP1) mRNA in subcutaneous adipose tissue of lean men (control) and obese individuals with normal (NGT) and impaired (IGT) glucose tolerance.

The values of AZGP1 mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); $n = 6$; * - $P < 0.05$ vs group of control individuals.

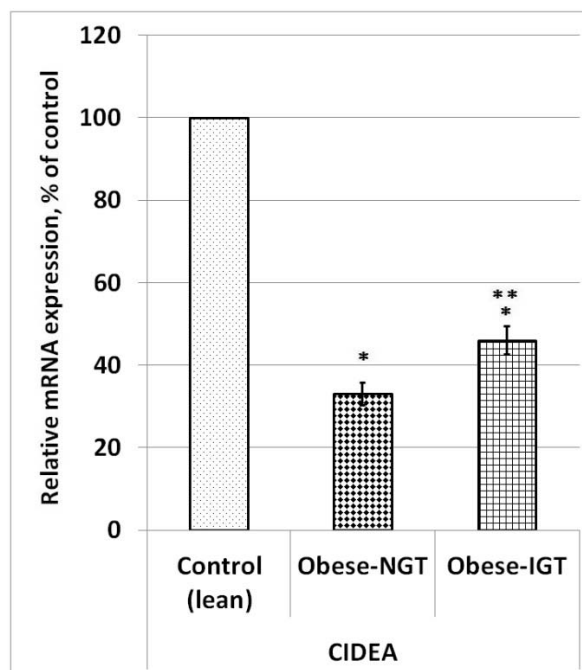


Fig. 5. The expression level of cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha-like effector A (CIDEA) mRNA in subcutaneous adipose tissue of lean men (control) and obese individuals with normal (NGT) and impaired (IGT) glucose tolerance.

The values of CIDEA mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA, are expressed as mean \pm SEM and represented as a percent of control (Lean, 100 %); $n = 6$; * - $P < 0.05$ vs group of control individuals; ** - $P < 0.05$ vs group with obesity and normal glucose tolerance test.

Results of this study clearly demonstrated that *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1*, and *HLF* play an important role in obesity and its metabolic complications, the most profound public health problems (Huang et al., 2011; Scott et al., 2008; Green et al., 2008; Ando et al., 2011). We investigated adipose tissue because in obese individuals this tissue is at the center of increased body weight and metabolic complications and shown that expression level of several key enzyme as well as growth and transcription factors is changed in subcutaneous adipose tissue of obese individuals with and without glucose intolerance in gene specific manner. These factors and enzyme regulate a cellular growth, apoptosis, and proliferation, activity of regulatory factors that possibly have been linked to insulin resistance, obesity and its metabolic complications (Ruderman et al., 2013; Wang and Kaufman, 2012).

It is possible that decreased expression of AZGP1 protein has relation to development of obesity because it is a key player in the regulation of lipid degradation in adipocytes (Huang et al., 2013). Moreover, AZGP1 might serve as a candidate tumor suppressor (Huang et al., 2013) and strong

decrease of this gene expression possibly contributes to obesity-associated tumorigenesis. Moreover, AZGP1 protein might serve as a candidate tumor suppressor, because this protein was found in significantly lower level in invasive breast and gastric tissues (Parris et al., 2014; Huang et al., 2013).

Moreover, the decreased expression of hepatic leukemia factor, which is a member of the PAR protein family of the transcription factors and regulates transcription, possibly also contributes to obesity development affecting cell death (Waters et al., 2013). Investigation of cysteine-rich angiogenic inducer 61, which is a matrix-associated signaling molecule and promotes cell proliferation, angiogenesis and cell adhesion (Jim Leu et al., 2013; Tang et al., 2011), shown significant up-regulation of its mRNA expression in obesity, which correlate to fat tissue growth. Moreover, CYR61, as insulin-like growth factor binding protein 10, is an insulin dependent factor and development of insulin resistance possibly responsible for some down-regulation of this gene expression in subcutaneous adipose tissue of obese subjects with impaired glucose tolerance.

We have also shown that obesity is also associated with significant decrease of the expression level of apoptosis signal-regulating kinase (ASK1) and cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha-like effector A (CIDEA), which are the key regulators of apoptosis as well as different metabolic processes, including adipocyte lipolysis and obesity (Prickett et al., 2014; Rastogi et al., 2012; Nordstrom et al., 2005). Moreover, CIDEA expression in adipocytes is regulated by insulin through PI3K (Ito et al., 2011) and possibly connected to the development of the obesity, insulin resistance and other metabolic complications, including glucose intolerance, but functional significance of this changes in the expression of *CIDEA* gene is not clear yet and warrants further investigation.

It is possible that results of this study clarifies some molecular mechanisms of adipose tissue growth in obesity and will be useful for better understanding the developing of obesity and associated with obesity metabolic complications, including insulin resistance and glucose intolerance, because most of studied genes are closely linked to the regulation of metabolic homeostasis, can modulate the intracellular signaling network and participate in the development of obesity as well as insulin resistance and glucose metabolism.

Results of this study provide evidence that the expression of *CIDEA*, *AZGP1*, *ASK1*, and *HLF* genes is decreases, but *CYR61* gene is increased, in subcutaneous adipose tissue of obese individuals with normal glucose tolerance; however, impaired glucose tolerance in obese men is associated with up-regulation of *ASK1* and *CIDEA* gene expressions and down-regulation of *CYR61* gene expression.

Conclusions. 1. It was shown that the expression level of *CIDEA*, *AZGP1*, *ASK1*, and *HLF* genes is decreased in subcutaneous adipose tissue of obese men with normal glucose tolerance as compared to control group; however, the expression of *CYR61* gene is increased at these experimental conditions.

2. The magnitude of obesity-mediated changes in expression levels of these genes was gene specific and more robust in the case of *AZGP1* gene.

3. In the group of obese men with glucose intolerance the level of *ASK1* and *CIDEA* gene expressions in subcutaneous adipose tissue is decreased as compared to control group, but was significantly higher than in obese patients with normal glucose tolerance.

4. Impaired glucose tolerance in obese individuals is associated with up-regulation of *ASK1* and *CIDEA* gene expressions and down-regulation of *CYR61* gene expression.

References:

1. Ando H., Kumazaki M., Motosugi Y., Ushijima K., Maekawa T., Ishikawa E., Fujimura A. Impairment of peripheral circadian clocks precedes metabolic abnormalities in ob/ob mice // *Endocrinology*. – 2011. – 152, N 4. – P. 1347–1354.
2. Bashta Y.M., Minchenko D.O., Bova D.O., Kovalevska O.V., Minchenko O.H. Expression of protein phosphatase DUSP genes in subcutaneous adipose tissue of obese men with normal and impairment glucose tolerance. *Biol. Systems*. – 2014. – 6, N 1. – P. 3–9.
3. Bochkov V.N., Philippova M., Oskolkova O., Kadl A., Furnkranz A., Karabeg E., Breuss J., Minchenko O.H., Mechtcheriakova D., Hohensinner P., Rychli K., Wojta J., Resink T., Binder B.R., Leitinger N.: Oxidized phospholipids stimulate angiogenesis via induction of VEGF, IL-8, COX-2 and ADAMTS-1 metalloprotease, implicating a novel role for lipid oxidation in progression and destabilization of atherosclerotic lesions // *Circ. Res.* – 2006. – 99, N 8. – P. 900–908.
4. Bray M.S., Young M.E. The role of cell-specific circadian clocks in metabolism and disease // *Obes. Rev.* – 2009. – 10, Suppl 2. – P. 6–13.
5. Duong H.A., Robles M.S., Knutti D., Weitz C.J. A molecular mechanism for circadian clock negative feedback // *Science*. – 2011. – 332. – P. 1436–1439.
6. Green C.B., Takahashi J.S., Bass J. The meter of metabolism // *Cell*. – 2008. – 134. – P. 728–742.
7. Huang C.Y., Zhao J.J., Lv L., Chen Y.B., Li Y.F., Jiang S.S., Wang W., Pan K., Zheng Y., Zhao B.W., Wang D.D., Chen Y.M., Yang L., Zhou Z.W., Xia J.C. Decreased expression of *AZGP1* is associated with poor prognosis in primary gastric cancer // *PLoS ONE*. – 2013. – 8, N 7. – P. E69155.
8. Huang W., Ramsey KM, Marcheva B, Bass J. Circadian rhythms, sleep, and metabolism // *J. Clin. Invest.* – 2011. – 121. – P. 2133–2141.
9. Ito M., Nagasawa M., Omae N., Ide T., Akasaka Y., Murakami K. Differential regulation of *CIDEA* and *CIDEC* expression by insulin via Akt1/2- and JNK2-dependent pathways in human adipocytes // *J. Lipid Res.* – 2011. – 52, N 8. – P. 1450–1460.
10. Jim Leu S.J., Sung J.S., Huang M.L., Chen M.Y., Tsai T.W. A novel anti-CCN1 monoclonal antibody suppresses Rac-dependent cytoskeletal reorganization and migratory activities in breast cancer cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2013. – 434, N 4. – P. 885–891.
11. Johansson L.E., Danielsson A.P., Parikh H., Klintonberg M., Norström F., Groop L., Ridderstråle M. Differential gene expression in adipose tissue from obese human subjects during weight loss and weight maintenance // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2012. – 96, N 1. – P. 196–207.
12. Kovac J., Husse J., Oster H. A time to fast, a time to feast: the crosstalk between metabolism and the circadian clock // *Mol. Cells*. – 2009. – 282. – P. 75–80.
13. Lombardi A., Ulianich L., Treglia A.S., Nigro C., Parrillo L., Lofrumento D.D., Nicolardi G., Garbi C., Beguinot F., Miele C., Di Jeso B. Increased hexosamine biosynthetic pathway flux dedifferentiates INS-1E cells and murine islets by an extracellular signal-regulated kinase

- (ERK)1/2-mediated signal transmission pathway // *Diabetologia*. – 2012. – 55, N 1. – P. 141–153.
14. Nordstrom E.A., Ryden M., Backlund E.C., Dahlman I., Kaaman M., Blomqvist L., Cannon B., Nedergaard J., Arner P. A human-specific role of cell death-inducing DFFA (DNA fragmentation factor- α)-like effector A (CIDEA) in adipocyte lipolysis and obesity // *Diabetes*. – 2005. – 54, N 6. – P. 1726 – 1734.
15. Ozcan U., Cao Q., Yilmaz E., Lee A.H., Iwakoshi N.N., Ozdelen E., Tuncman G., Gorgun C., Glimcher L.H., Hotamisligil G.S. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes // *Science*. – 2004. – 306. – P. 457-461.
16. Prickett T.D., Zerlanko B., Gartner J.J., Parker S.C., Dutton-Regester K., Lin J.C., Teer J.K., Wei X., Jiang J., Chen G., Davies M.A., Gershenwald J.E., Robinson W., Robinson S., Hayward N.K., Rosenberg S.A., Margulies E.H., Samuels Y. NISC Comparative Sequencing Program. Somatic mutations in MAP3K5 attenuate its proapoptotic function in melanoma through increased binding to thioredoxin // *J. Invest. Dermatol.* – 2014. – 134, N 2. – P. 452 – 460.
17. Ramsey K.M., Marcheva B., Kohsaka A., Bass J. The clock work of metabolism // *Annu. Rev. Nutr.* – 2007. – 27. – P. 219–240.
18. Rastogi S., Rizwani W., Joshi B., Kunigal S., Chellappan S.P. TNF- α response of vascular endothelial and vascular smooth muscle cells involve differential utilization of ASK1 kinase and p73 // *Cell Death Differ.* – 2012. – 19, N 2. – P. 274 – 283.
19. Ratushna O.O., Minchenko D.O., Danilovskyi S.V., Klimes I., Minchenko O.H. Expression of anti-angiogenic genes in subcutaneous adipose tissue of the obese individuals with pre-diabetes and type 2 diabetes // *Studia Biologica*. – 2012. – 6, N 2. – P. 17 – 32.
20. Ruderman N.B., Carling D., Prentki M., Cacicedo J.M. AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome // *J. Clin. Invest.* – 2013. – 123, N 7. – P. 2764 – 2772.
21. Scott E.M., Carter A.M., Grant P.J. Association between polymorphisms in the clock gene, obesity and the metabolic syndrome in man Clock polymorphisms and obesity // *Int. J. Obesity*. – 2008. – 32. – P. 658–662.
22. Shaw R.J. LKB1 and AMP-activated protein kinase control of mTOR signalling and growth // *Acta Physiol. (Oxf)*. – 2009. – 196. – P. 65-80.
23. Shimba S., Ogawa T., Hitosugi S., Ichihashi Y., Nakadaira Y., Kobayashi M., Tezuka M., Kosuge Y., Ishige K., Ito Y., Komiyama K., Okamatsu-Ogura Y., Kimura K., Saito M. Deficient of a clock gene, brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1), induces dyslipidemia and ectopic fat formation // *PLoS One*. – 2011. – 6. – P. e25231.
24. Tang Q.L., Chen W.L., Tan X.Y., Li H.G., Yuan X.P., Fan S., Wen B., Song Y. Expression and significance of Cyr61 in distant metastasis cells of human primary salivary adenoid cystic carcinoma // *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* – 2011. – 112, N 2. – P. 228 – 236.
25. Wang S., Kaufman R.J. The impact of the unfolded protein response on human disease // *J. Cell. Biol.* – 2012. – 197. – P. 857–867.
26. Waters K.M., Sontag R.L., Weber T.J. Hepatic leukemia factor promotes resistance to cell death: implications for therapeutics and chronotherapy // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2013. – 268, N 2. – P. 141 – 148.
27. Yu M., Wang H., Zhao J., Yuan Y., Wang C., Li J., Zhang L., Zhang L., Li Q., Ye J. Expression of CIDE proteins in clear cell renal cell carcinoma and their prognostic significance // *Mol. Cell. Biochem.* – 2013. – 378, N 1-2. – P. 145 – 151.

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1* ТА *HLF* У ПІДШКІРНІЙ ЖИРОВІЙ ТКАНИНІ ЧОЛОВІКІВ З ОЖИРІННЯМ ТА НОРМАЛЬНОЮ АБО ПОРУШЕНОЮ ТОЛЕРАНТНІСТЮ ДО ГЛЮКОЗИ

Д. О. Мінченко

*Проведено вивчення експресії генів *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1* та *HLF* у підшкірній жировій тканині двох груп чоловіків з ожирінням: з нормальною і порушеною толерантністю до глюкози у порівнянні з контрольною групою осіб без ознак ожиріння. Встановлено, що рівень експресії генів *CIDEA*, *AZGP1*, *ASK1* та *HLF* знижується у підшкірній жировій тканині чоловіків за умов ожиріння і нормальної толерантності до глюкози у порівнянні з контрольною групою чоловіків. У той же час, експресія гена *CYR61* посилюється у підшкірній жировій тканині за цих експериментальних умов. Величина обумовлених ожирінням змін в рівні експресії генів є гено-специфічною і виражена більшою мірою для гена *AZGP1*. За умов ожиріння, ускладненого порушеною толерантністю до глюкози, рівень експресії гена *CYR61* у підшкірній жировій тканині був також підвищеним у порівнянні з контрольною групою, але був меншим від значень його рівня експресії у групі пацієнтів з ожирінням і нормальною толерантністю до глюкози. В той же час, експресія генів *ASK1* та *CIDEA* є підвищеною у підшкірній жировій тканині чоловіків з ожирінням і порушеною толерантністю до глюкози у порівнянні з групою індивідуумів, що мали ожиріння без порушення толерантності до глюкози. Результати даної роботи вказують на те, що експресія генів *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1* та *HLF* у підшкірній жировій тканині чоловіків з ожирінням і нормальною толерантністю до глюкози змінюється і, ймовірно, ці зміни пов'язані з розвитком ожиріння та метаболічних порушень. Разом з тим, з порушенням толерантності до глюкози асоціюється підвищення рівня експресії генів *ASK1* і *CIDEA* та зниження *CYR61*.*

*Ключові слова: експресія мРНК, *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1*, *HLF*, підшкірна жирова тканина, ожиріння, порушена толерантність до глюкози.*

Одержано редколегією 13.12.2014 р.

УТВОРЕННЯ ОКСИДУ АЗОТУ У РОСЛИН ТА ЙОГО РОЛЬ ЗА ДІЇ СТРЕСОВИХ ФАКТОРІВ

Ю. В. ВАСИЛИК

Кафедра біохімії та біотехнології,
Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника,
вул. Шевченка, 57, 76018, Івано-Франківськ, Україна
e-mail: juliavasylyk@ukr.net

Оксид азоту – активована форма азоту, може впливати як позитивно, так і негативно на рослинний організм. В даній роботі наводиться доступна інформація стосовно впливу донорів оксиду азоту на рослинний організм. Так, за низьких концентрацій *NO є сигнальною молекулою з широким спектром регуляторних функцій. *NO задіяний у відповіді рослин на дію стресових чинників навколишнього середовища, як біотичного, так і абіотичного походження. Зокрема, *NO підвищує стійкість рослини до дії сольового стресу, іонів важких металів, патогенів, підвищує толерантність до різкого зниження або підвищення температури навколишнього середовища. У цій роботі розглянуті механізми утворення оксиду азоту в різних органелах, а також шляхи його надходження у рослинний організм ззовні. В утворенні *NO беруть участь такі ферменти як нітратредуктаза та NO -синтаза. Оксид азоту вивільняється з пероксисом, хлоропластів та мітохондрій. У мітохондріях рослин нітрит може відновлюватися до оксиду азоту. Інгібітори мітохондріального електронтранспортного ланцюга (ЕТЛ) інгібують і утворення *NO , що свідчить про те, що електрони з ЕТЛ мітохондрій можуть брати участь у відновленні нітриту. У пероксисомах *NO утворюється за дії ферменту NO -синтази. Також описано неферментативне відновлення нітритів у апопластах як один зі шляхів утворення *NO в рослинах, зокрема, в коренях. Вивільнення оксиду азоту з листків може зростати за дії гербіцидів та нітратних добрив. Крім того, що активні форми азоту продукуються самими рослинами, вони можуть надходити в їх організм з навколишнього середовища, наприклад, як диоксид азоту. В даній оглядовій статті запропонована узагальнююча схема впливу оксиду азоту та його перетворень в організмі рослин.

Ключові слова: оксид азоту; шляхи надходження; хімічні перетворення.

Оксид азоту – вільнорадикальна сигнальна молекула з широким спектром регуляторних функцій багатьох фізіологічних та патологічних процесів у вищих рослин (Lamattina et al., 2003, Baudhouin, 2011, Cognas et al., 2011). Він задіяний у процесах розвитку рослин, а також може вивільнятися у відповідь рослин на дію різних біотичних та абіотичних стресових чинників (Domingos et al., 2015). На субклітинному рівні *NO вивільняється різними органелами, включаючи пероксисоми, хлоропласти, мітохондрії та цитозоль (Cognas et al., 2011, Gupta et al., 2011, Tewari et al., 2013). Тому існує необхідність узагальнити інформацію про роль і вплив ендогенного та екзогенного оксиду азоту.

Утворення оксиду азоту в рослинах. Першим відомим механізмом генерації оксиду азоту (*NO) рослин був фермент нітратредуктаза (НР) (Crawford, 2006). За нормальних умов НР відновлює нітрат до нітриту, з подальшим перетворенням у *NO .



Відомо, що рослини можуть вивільняти *NO з листків, і це вивільнення може зростати за дії гербіцидів та обробці нітратними добривами (Klepper, 1979; Nishimura et al., 1986). Кількість вивільненого *NO залежить від рівня нітриту в тканинах, а також від взаємодії нітриту з певними метаболітами рослин (Klepper, 1979). Нітратредуктаза в системі *in vivo* також може продукувати *NO (Harper, 1981; Klepper, 1987). Ці дослідження були проведені в анаеробних умовах і показали накопичення нітриту та необхідність присутності НР для утворення *NO (Dean and Harper, 1988; Klepper, 1990). Накінець, дана серія експериментів показала, що очищений фермент нітратредуктаза перетворює нітрит до *NO (Yamasaki et al., 1999; Yamasaki, 2000; Rockel et al., 2002). Високий рівень *NO може також досягатись при додаванні нітриту за анаеробних умов (Rockel et al., 2002), у дефектних за НР ліній (Planchet et al., 2005) та при фосфорилуванні певних ділянок НР (Lea et al., 2004). Нітратредуктаза була першим виявленим ферментом, який каталізує утворення *NO в умовах *in vivo* для передачі сигналів та

координації захисної відповіді рослин (Desikan et al., 2004; Garcia-Mata and Lamattina, 2003).

У мітохондріях рослин нітрит також перетворюється в оксид азоту (Tischner et al., 2004; Planchet et al., 2005). Для синтезу NO *in vivo* та *in vitro* потрібні анаеробні умови. Інгібітори мітохондріального електрон-транспортного ланцюга (ЕТЛ) інгібують і синтез NO , що свідчить про те, що електрони з ЕТЛ мітохондрій можуть забезпечувати відновлення нітриту. Окрім описаних вище, було описано ще кілька механізмів утворення NO з нітриту. Так, нітрит перетворюється на оксид азоту у кислих умовах і за присутності відновників, зокрема, таких як аскорбінова кислота (Beligni and Lamattina, 2001). Окрім того, описане неферментативне відновлення нітритів в апопластному просторі клітин як один зі шляхів утворення NO в рослинах, особливо в коренях (Bethke et al., 2004). Залежна від нітриту NO-редуктаза (каталізує утворення оксиду азоту) була виявлена в плазматичній мембрані коренів тютюну, і була висунута гіпотеза про її участь у передачі сигналів (Crawford, 2006; Stohr et al., 2001; Stohr and Ullrich, 2002).

Пізніше було встановлено, що у рослин, як і тварин, також наявна NO-синтаза (NOS), яка продукує NO і як субстрат теж використовує L-аргінін. Даний фермент дислокується в пероксисомах (Corpas et al., 2011; Corpas and Barroso, 2014).

На тепер відомо, що НР, NOS та ЕТЛ мітохондрій є головними джерелами NO у рослинних клітинах (Gupta et al., 2005; Planchet et al., 2005; Corpas et al., 2011). Оскільки $\text{O}_2^{\cdot-}$ також інтенсивно утворюється в мітохондріях (Møller, 2001), то, ймовірно, вони також є місцем утворенням пероксинітриту.

Окрім того, що активні форми кисню (АФК) та азоту продукуються самими рослинами, вони можуть надходити в організм і з навколишнього середовища. Озон (O_3), диоксид сірки (SO_2) та диоксид азоту (NO_2), які є основними забруднювачами повітря, можуть призводити до окисних модифікацій багатьох клітинних компонентів, чи навіть можуть стимулювати запрограмовану смерть клітини (Halliwell and Gutteridge, 1999; Overmyer et al., 2003).

Роль оксиду азоту за дії стресових факторів. Оксид азоту може впливати як позитивно, так і негативно на рослинний

організм. Він відіграє важливу роль в рослинному організмі за дії абіотичних стресових факторів (Shi et al., 2012). Так, NO підвищує толерантність до заморожування та нагрівання рослин арабідопсісу та очерету (Corpas et al., 2011; Zhao et al., 2009). Крім того, фармакологічні дослідження показали, що NO відіграє ключову роль у регуляції токсичності Cd^{2+} та Zn^{2+} та індукує запрограмовану загибель клітин, чим підвищує стійкість рослин до дії іонів важких металів (Xu et al., 2010; Arasimowicz-Jelonek et al., 2011). Зараження рослин патогенами призводить до швидкого вивільнення великої кількості NO , що свідчить про залучення оксиду азоту у регуляції їхньої стійкості до хвороб (Malik et al., 2011; Yun et al., 2011). При цій взаємодії NO часто активує загибель клітин, що є захисною реакцією організму (McDowell and Dangel, 2000). У цьому випадку NO подібно до АФК виступає в ролі сигнальної молекули для активації захисної відповіді на стрес (Levine et al., 1994). Водночас, може відбуватись неконтрольоване вивільнення великої кількості АФК та АФА, що може призводити до значних пошкоджень клітинних компонентів. Тому при інтерпретації результатів за дії екзогенних донорів оксиду азоту дуже важливо мати інформацію про фізіологічний стан рослин.

Екзогенне додавання донорів оксиду азоту також може підвищувати солестійкість у багатьох видів рослин, зокрема, очерету (*Phragmites communis*), соняшнику, люпину (*Lupinus luteus*), пшениці, рису, помаранчу (*Citrus aurantium* L.), а також клітинної суспензії тютюну (Corpas et al., 2011).

На рисунку 1 (Beligni and Lamattina, 2001) показана активація кількох захисних механізмів у відповідь на дію стресових факторів навколишнього середовища (голубі стрілки). Серед них – активація системи генерації NO .

У цій ситуації NO може виступати цитотоксикантом (рожевий фон та червоні стрілки) або протектором (зелений фон та стрілки). Взаємодія NO з активними формами кисню може призводити до утворення активних сполук, які проявлятимуть токсичний або захисний ефекти. Опосередковані шляхи захисту також можуть реалізовуватись через активацію антиоксидантної системи оксидом азоту.

екзогенного *NO важко визначити чи ефект є дійсно фізіологічним результатом, чи тільки фармакологічним.

При швидкому рості листків гороху, оброблених сумішшю KNO_2 та KI/H_2SO_4 , було отримано неоднозначні результати (Leshem and Haramaty, 1996). Так, за низьких мікромолярних концентрацій *NO (5×10^{-6} М) зростала швидкість розвитку листків, в той час як при високих концентраціях концентрацій *NO ($12,5 \times 10^{-6}$ М) даний показник не змінювався. За дії наномолярних та мікромолярних концентрацій *NO донорів (нітропрусиду натрію, *S*-нітрозоглутатіону та *S*-нітрозоцистеїну) прискорювалося видовження сегментів коренів кукурудзи так само, або навіть більше, ніж за таких же концентрацій індолоцтової кислоти (ІОК) (Gouvêa et al., 1997).

При додаванні в середовище метиленового синього, який знешкоджує *NO , вплив донорів *NO та ІОК знижувався, в результаті чого не спостерігалось елонгації коренів (Gouvêa et al., 1997). Автори дійшли висновку, що існує певний взаємозв'язок між елонгацією коренів *Paulownia tormentosa* та дією *NO та ІОК.

Подібні результати були отримані Рібеїро і колегами (Ribeiro et al., 1999), які використовували анти-NOS антитіла (білок, NOS – NO-синтаза) і виявили NO-синтазу в цитозолі активних зон поділу клітин кукурудзи. Більше того, при перенесенні цього білка в ядро зони елонгації коренів кукурудзи, було показано можливу участь *NO в активації транскрипційних факторів, залучених в експресії генів, які регулюють швидкий ріст зони елонгації (видовження) (Ribeiro et al., 1999). Проте, ці результати знову ж неоднозначні, оскільки надійно не доведена присутність NOS у рослин.

Був вивчений ефект *NO на пероксидази (гемвісні ферменти), які беруть участь була у лігніфікації судин ксилеми. Так, 5 мМ нітропрусид натрію інгібував гваяколпероксидазу на 42-62%. Однак це не впливало на біосинтез лігніну (Ferrer and Ros Barceló, 1999).

Оксид азоту та нітрати стимулювали проростання насіння *Paulownia tormentosa* (Grubišić and Konjević, 1990; Grubišić et al., 1992). Так донор *NO нітропрусид натрію та різні органічні і неорганічні нітрати (оптимальна концентрація 1-10 мМ) стимулювали проростання насіння з однаковою ефективністю. В результаті автори дійшли висновку, що ефект нітратних складових залежав від їх здатності вивільняти *NO та редокс змін, які були тісно пов'язані із виведенням насінин зі стану спокою. Стимуляція проростання насіння за дії *NO та

світла була виявлена у насіння салату латук (*Lactuca sativa* L.) (Beligni and Lamattina, 2000). У цій же роботі було показано, що *NO призводив до зростання концентрації хлорофілу у проростках пшениці, вирощеної в темряві. Короткотермінова дія світла (білого та червоного спектрів) призводила до дво-, трикратного зростання концентрації хлорофілів у листках проростків, оброблених донорами *NO у порівнянні до контрольних (оброблених водою) проростків. Ще більша різниця була отримана за дії додаткових стресових біотичних (інфікування *Septoria tritici*) та абіотичних (поранення) факторів, що показало можливий зв'язок між *NO , світлом та шляхом проведення сигналів за умов стресу (Beligni and Lamattina, 2000). У рослин трьох різних видів (*Arabidopsis thaliana* L. cv Columbia, *Lactuca sativa* L. cv Grand Rapids and *Solanum tuberosum* L. cv Pampeana), вирощених в темряві або при низькоінтенсивному освітленні, додавання наномолярних концентрацій *NO призводило до достовірного сповільнення видовження гіпокотилу та міжвузлів (Beligni and Lamattina, 2000).

Таким чином, зрозуміло, що оксид азоту сам, чи в комбінації з іншими чинниками, регулює багато процесів у рослин. З іншого боку, за високих рівнів, оксид азоту може бути токсичним. Хоча наявність NO-синтази у рослин надійно не доведена, відомі кілька ендогенних джерел *NO , зокрема це відновлення нітрату та нітриту. Важливо зауважити, що оксид азоту разом з іншими компонентами піддаються різноманітним перетворенням через свою високу реакційну здатність. Тому для отримання повного уявлення про адаптивну відповідь клітини на дію оксиду азоту та його похідних важливо використовувати різні експериментальні підходи – від вивчення експресії генів до визначення активності антиоксидантних ферментів та рівня певних метаболітів.

Список літератури:

1. Arasimowicz-Jelonek M., Floryszak-Wieczorek J., Gwóźdź E.A. The message of nitric oxide in cadmium challenged plants. // Plant Sci. – 2011. – 181. – P. 612 – 620.
2. Baudhouin E. The language of nitric oxide signaling. // Plant Biol. (Stuttg). – 2011. –13. – P. 233 – 242.
3. Beligni M.V., Lamattina L. Nitric oxide in plants: the history is just beginning. // Plant. – Cell Environ. – 2001. – 24. – P. 267 – 278.
4. Bethke P.C., Badger M.R., Jones R.L. // Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues. – Plant Cell. – 2004. – 16. – P. 332 – 341.
5. Corpas F.J., Barroso J.B. Peroxisomal plant nitric oxide synthase (NOS) protein is imported by

- peroxisomal targeting signal type 2 (PTS2) in a process that depends on the cytosolic receptor PEX7 and calmodulin. // *FEBS Lett.* – 2014. – <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2014.04.034>
6. Corpas F.J., Barroso J.B., del Río L.A. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. // *Trends Plant Sci.* – 2001. – 6. – P. 145 – 150.
 7. Corpas F.J., Leterrier M., Valderrama R., Airaki M., Chaki M., Palma J.M., Barroso J.B. Nitric oxide imbalance provokes a nitrosative response in plants under abiotic stress. // *Plant Sci.* – 2011. – 181. – P. 604 – 611.
 8. Crawford N.M. Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants. // *J. Exp. Bot.* – 2006. – 57, № 3. – P. 471 – 478.
 9. Dean J.V., Harper J.E. The conversion of nitrite to nitrogen oxide(s) by the constitutive NAD(P)H-nitrate reductase enzyme from soybean. // *Plant Physiol.* – 1988. – 88. – P. 389 – 395.
 10. Desikan R., Cheung M.K., Bright J., Henson D., Hancock J.T., Neill S.J. ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. *J. Exp. Bot.* – 2004. – 55. – P. 205 – 212.
 11. Domingos P., Prado A. M., Wong A., Gehring C., Feijo J. A. Nitric Oxide: A Multitasked signaling gas in plants. // *Molecular Plant.* – 2015. – <http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.010>
 12. Ferrer M.A., Ros Barcelo A. Differential effects of nitric oxide on peroxidase and H₂O₂ production by the xylem of *Zinnia elegans*. // *Plant Cell Environ.* – 1999. – 22. – P. 891 – 897.
 13. Garcia-Mata C., Lamattina L. Abscisic acid, nitric oxide and stomatal closure: is nitrate reductase one of the missing links? // *Trends Plant Sci.* – 2003. – 8. – P. 20 – 26.
 14. Gouvêa C.M.C.P., Souza J.F., Magalhães A.C.N., Martins I.S. NO-releasing substances that induce growth elongation in maize root segments. // *Plant Grow. Regul.* – 1997. – 21. – P. 183 – 187.
 15. Grubišić D., Giba Z., Konjevic R. The effect of organic nitrates in phytochrome-controlled germination of *Paulownia tormentosa* seeds. // *Photochem. Photobiol.* – 1992. – 56. – P. 629 – 632.
 16. Grubišić D., Konjevic R. Light and nitrate interaction in phytochrome-controlled germination of *Paulownia tormentosa* seeds. // *Planta.* – 1990. – 181. – P. 239 – 243.
 17. Gupta K.J., Igamberdiev A.U., Manjunatha G., Segu S., Moran J.F., Neelawarne B., Bauwe H., Kaiser W.M. The emerging roles of nitric oxide (NO) in plant mitochondria. // *Plant Sci.* – 2011. – 181. – P. 520 – 526.
 18. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine. // Oxford: Oxford Univ. Press. 3rd ed. – 1999.
 19. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine. // Oxford: Clarendon Press. – 2007.
 20. Harper J.E. Evolution of Nitrogen Oxide(s) during In Vivo Nitrate Reductase Assay of Soybean Leaves. // *Plant Physiol.* – 1981. – 68 (6) . – P. 1488 – 1493.
 21. Klepper L.A. Comparison between NO_x evolution mechanisms of wild-type and *nrl1* mutant soybean leaves. // *Plant Physiology.* – 1990. – 93. – P. 26 – 32.
 22. Klepper L.A. Nitric oxide emissions from soybean leaves during in vivo nitrate reductase assays. // *Plant Physiol.* – 1987. – 85. – P. 96 – 99.
 23. Klepper L.A. Nitric-oxide (NO) and nitrogen-dioxide (NO₂) emissions from herbicide-treated soybean plants. // *Atmos. Environ.* – 1979. – 13. – P. 537 – 542.
 24. Lamattina L., García-Mata C., Graziano M., Pagnussat G. Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule. // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2003. – 54. – P. 109 – 136.
 25. Lea U.S., Ten Hoopen F., Provan F., Kaiser W.M., Meyer C., Lillo C. Mutation of the regulatory phosphorylation site of tobacco nitrate reductase results in high nitrite excretion and NO emission from leaf and root tissue. // *Planta.* – 2004. – 219. – P. 59 – 65.
 26. Leshem Y.Y., Haramaty E. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* L. foliage. // *J. Plant Physiol.* – 1996. – 148. – P. 258 – 263.
 27. Levine A., Tenhaken R., Dixon R., Lamb C. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. // *Cell Devel. Biol.* – 1994. – 79. – P. 583 – 593.
 28. Malik S.I., Hussain A., Yun B.W., Spoel S.H., Loake G.J. GSNOR-mediated de-nitrosylation in the plant defence response. // *Plant Sci.* – 2011. – 181. – P. 540-544.
 29. McDowell J.M., Dangl J.L. Signal transduction in the plant immune response. *Trends in Biochemical Sciences.* – 2000. – 25. – P. 79 – 82.
 30. Møller I.M. Plant mitochondria and oxidative stress. Electron transport, NADPH turnover and metabolism of reactive oxygen species. // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2001. – 52. – P. 561 – 591.
 31. Overmyer K., Brosche M., Kangasjarvi J. Reactive oxygen species and hormonal control of cell death. // *Trends Plant Sci.* – 2003. – 8. – P. 335 – 342.
 32. Planchet E., Jagadis Gupta K., Sonoda M., Kaiser W.M. Nitric oxide emission from tobacco leaves and cell suspensions: rate limiting factors and evidence for the involvement of mitochondrial electron transport. // *Plant J.* – 2005. – 41. – P. 732 – 743.
 33. Ramamurthi A., Lewis R.S. Measurements and modelling of nitric oxide release rates for nitric oxide donors. // *Chem. Res. Toxicol.* – 1997. – 10. – P. 408 – 413.
 34. Rapoport S. M. The reticulocyte. // Boca Raton, FL: CRC Press. – 1986.
 35. Ribeiro E.A.Jr, Cunha F.Q., Tamashiro W.M.S.C., Martins I.S. Growth phase-dependent subcellular localization of nitric oxide synthase in maize cells. // *FEBS Letters.* – 1999. – 445. – P. 283 – 286.
 36. Rockel P., Strube F., Rockel A., Wildt J., Kaiser W.M. Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate reductase in vivo and in vitro // *J. Exp. Bot.* – 2002. – 53. – P. 103 – 110.

37. Shi H.-T., Li R.-J., Cai W., Liu W., Fu Z.-W., Lu Y.-T. In vivo role of nitric oxide in plant response to abiotic and biotic stress. // *Plant Signal. – Behav.* – 2012 – 7 (3). – P. 437 – 439.
38. Stohr C., Strube F., Marx G., Ullrich W.R., Rockel P. A plasma membrane-bound enzyme of tobacco roots catalyses the formation of nitric oxide from nitrite. // *Planta.* – 2001. – 212. – P. 835 – 841.
39. Stohr C., Ullrich W.R. Generation and possible roles of NO in plant roots and their apoplastic space. *J. Exp. Bot.* – 2002. – 53. – P. 2293 – 2303.
40. Tanno M., Sueyoshi S., Miyata N., Nakagawa S. Nitric oxide generation from aromatic N-nitrosoureas at ambient temperature. // *Chem. Pharm. Bulletin.* – 1996. – 44. – P. 1849 – 1852.
41. Tewari R.K., Prommer J., Watanabe M. Endogenous nitric oxide generation in protoplast chloroplasts. // *Plant Cell Rep.* – 2013. – 32. – P. 31 – 44.
42. Tischner R., Planchet E., Kaiser W.M. Mitochondrial electron transport as a source for nitric oxide in the unicellular green alga *Chlorella sorokiniana*. // *FEBS Letters.* – 2004. – 576. – P. 151 – 155.
43. Xu J, Yin H, Li Y, Liu X. Nitric oxide is associated with long-term zinc tolerance in *Solanum nigrum*. // *Plant Physiol.* – 2010. – 154. – P. 1319 – 1334.
44. Yamasaki H. Nitrite-dependent nitric oxide production pathway: implications for involvement of active nitrogen species in photoinhibition in vivo. // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 2000. – 355. – P. 1477 – 1488.
45. Yamasaki H., Sakihama Y., Takahashi S. An alternative pathway for nitric oxide production in plants: new features of an old enzyme. // *Trends Plant Sci.* – 1999. – 4. – P. 128 – 129.
46. Yun B.W., Feechan A., Yin M., Saidi N.B.B., Le Bihan T., Yu M., et al. S-nitrosylation of NADPH oxidase regulates cell death in plant immunity. – 2011. – 478. – P. 264 – 268.
47. Zhao M.G., Chen L, Zhang L.L., Zhang W.H. Nitric reductase-dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in *Arabidopsis*. // *Plant Physiol.* – 2009. – 151. –P. 755 – 767.

GENERATION OF NITRIC OXIDE AND ITS ROLE UNDER STRESS CONDITIONS IN PLANTS

Y. V. Vasylyk

*Nitric oxide is one of reactive nitrogen species. This form of nitrogen can influence the plant organism both positively and negatively. This work provides available information on the effect of nitric oxide donors on the plant organism. At low concentrations *NO can operate as a signaling molecule with a wide range of regulatory functions. *NO is involved in the response of plants to stressful environmental factors, both biotic and abiotic nature. Specifically, *NO increases plant resistance at exposure to salt stress, heavy metal ions, pathogens, increases tolerance to sudden decrease or increase of the ambient temperature. In this work the mechanisms of nitric oxide formation in various plant organelles are described. Plant organisms also can be affected environmentally derived *NO. Nitrate reductase and NO-synthase are the enzymes involved in *NO formation. Nitric oxide is released from the peroxisomes, chloroplasts and mitochondria. Nitrite can be reduced to nitric oxide in the plant mitochondria. Inhibitors of the mitochondrial electron transport chain (ETC) also inhibit *NO production. That indicate that the electrons from mitochondrial ETC can participate in reduction of nitrite. In peroxisomes *NO is formed by the action of the enzyme NO-synthase. Also non-enzymatic reduction of nitrite in apoplast space as one of the ways of *NO formation in plants, especially in roots, was described. The increase of nitric oxide release can be observed under treatment by herbicides and nitrate fertilizers. In addition, reactive nitrogen species can be received by plants from the environment, particularly as nitric oxide. This review paper presents generalized scheme of effect of nitric oxide and its transformations in plants.*

Key words: nitric oxide; transportation routes; chemical transformation.

Одержано редколегією 03.03.2015 р.

ВМІСТ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ ПЛАЗМИ КРОВІ ТВАРИН ЗА УМОВ БІЛКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Г. П. КОПИЛЬЧУК, І. М. БУЧКОВСЬКА, Р. О. НІКОЛАЄВ

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58000
e-mail: kopilchuk@gmail.com*

У роботі проведено дослідження вмісту білкових фракцій плазми крові щурів за умов аліментарної білкової недостатності. Значна увага приділяється визначенню вмісту загального протеїну в плазмі крові тварин. З метою дослідження особливостей змін даних біохімічних показників за умов аліментарної депривації протеїну дослідних тварин протягом 28 днів утримували на напівсинтетичному низькопротеїновому раціоні з урахуванням принципу парного харчування. Для дослідження використовували цитровану кров, взятую із vena portae hepatis загальноприйнятим методом. Плазму крові отримували шляхом центрифугування. Визначення концентрації загального білка плазми крові проводили біуретовим методом. Кількісне співвідношення альбумінів, α_1 -, β - та γ -глобулінів визначали турбідиметричним методом, який ґрунтується на тому, що фосфатні розчини визначеної концентрації осаджують білкові фракції плазми крові з утворенням суспензії, ступінь каламутності якої визначають нефелометрично при довжині хвилі 590 – 670 нм. Встановлено, що при нестачі протеїну в харчовому раціоні у тварин спостерігається розвиток гіпопротеїнемії внаслідок зниження концентрації загального білка в плазмі крові. Слід відмітити, що зниження концентрації загального протеїну в плазмі крові дослідних тварин відбувається внаслідок зменшення вмісту альбумінів та вказує на наявність гіпоальбумінемії. Водночас перебування щурів на низькопротеїновому раціоні супроводжується зростанням вмісту α - та γ -глобулінових фракцій плазми крові тварин. Слід відмітити, що рівень α -глобулінів підвищується лише за рахунок α_1 -протеїнової фракції, значення якої вірогідно перевищують показники контрольної групи. Щодо α_2 - та β -глобулінів, верифікації змін їх вмісту за умов нестачі протеїну нами не виявлено. За умов білкової недостатності коефіцієнт альбуміно-глобулінового співвідношення знаходиться в межах 0,83, що вказує на зниження резерву легкодоступних амінокислот та зростання катаболізму протеїнів за даних експериментальних умов, що, в свою чергу, може виступати першопрчиною розвитку патологічних станів печінки.

Ключові слова: загальний білок, альбуміни, α_1 -глобуліни, α_2 -глобуліни, β -глобуліни, γ -глобуліни, плазма крові, білкова недостатність

Вступ. Білки плазми крові – лабільна динамічна система, що перебуває в рівновазі з протеїнами тканин та значною мірою визначає біохімічний гомеостаз організму (Eghtesad et al., 2013; Alberghina et al., 2011). Відомо, що протеїни плазми здійснюють транспорт численних екзогенних та ендогенних метаболітів, беруть участь у зв'язуванні гормонів, ліпідів, жиророзчинних вітамінів тощо (Пшенкина, 2011; Van der Vusse, 2009). Будучи амфотерними електролітами, вони відіграють важливу роль у підтриманні кислотно-основного балансу організму, є факторами зсідання крові, антитілами (Schroeder, Cavacini, 2010), а також використовуються як пластичний матеріал для синтезу білків тканин (Шульга, Безроднова, 2013; Kragh-Hansen et al., 2002).

Основна маса білків плазми крові синтезується в клітинах печінки – альбуміни, α -глобуліни, частина β -глобулінів, фібриноген, компоненти системи зсідання крові (II, V, VII, IX, X, XI фактори) (Voss et al., 2002; Singh et al.,

2012), більша частина β - та γ -глобулінів – у клітинах імунної системи (Fairbanks et al., 2008; Schroeder, Cavacini, 2010).

Диспротеїнемія, що спостерігається під час багатьох захворювань, призводить до порушення гомеостазу та розвитку специфічних реакцій організму (Schroeder, Cavacini, 2010; Добреля, 2007), досить частими причинами яких може виступати незбалансоване харчування з надлишком або дефіцитом основних макро- та мікронутрієнтів, зокрема білків та вітамінів. Відомо, що загальний білок плазми являє собою сумарну концентрацію всіх циркулюючих білків і є основною складовою частиною крові. За даними літератури (Eghtesad et al., 2013; Лившиц, 2001) зниження даного показника спостерігається при відсутності протеїну в харчовому раціоні, ендогенних інтоксикаціях (Fairbanks et al., 2008), посиленому катаболізмі білка або його перерозподілі внаслідок виходу із кров'яного русла з утворенням трансудат-ексудативних комплексів (Dideriksen, 2013).

Водночас вміст альбумінів – найчисельнішої фракції білків плазми крові – має діагностичне значення, а його зниження вказує на дисфункцію печінки, нирок та інших органів (Quinlan et al., 2005).

Метою роботи було дослідити зміни співвідношення вмісту білкових фракцій плазми крові за умов білкової-енергетичної недостатності.

Об'єкт і методи. Дослідження проводили на білих безпородних щурах віком 2,5-3 місяці та масою 100-120 г. Утримання тварин та маніпуляції з ними здійснювали з дотриманням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986). Протягом експерименту тварини знаходились у пластмасових клітках із піщаною підстилкою та вільним доступом до води. Нормування добового раціону проводили з урахуванням принципу парного харчування (Mashiko et al., 2007).

Дослідні тварини були поділені на групи:

1 – тварини, які утримувалися на напівсинтетичному раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами – група контролю (К);

2 – тварини, які протягом 28 днів до початку експерименту отримували напівсинтетичний низькопротеїновий раціон (1/3 загальноприйнятої норми добової потреби протеїну) (НПР) (Reeves et al., 1993).

Цервікальну дислокацію дослідних тварин під легким ефірним наркозом проводили на 28 добу експерименту. Для дослідження використовували цитровану кров, взятую із *vena portae hepatis* загальноприйнятим методом. Плазму крові отримували шляхом центрифугування при 1500 г (Топіков, Дяченко, 2006).

Визначення концентрації загального білка плазми крові проводили біуретовим методом з використанням стандартного набору реактивів «Філісіт-Діагностика» (Україна). Вміст загального білка виражали в г/л.

Кількісне співвідношення білкових фракцій плазми крові визначали турбідиметричним методом (Горячковский, 2005). Принцип методу ґрунтується на тому, що фосфатні розчини визначеної концентрації осаджують білкові фракції плазми крові з утворенням суспензії, ступінь каламутності якої визначають

нефелометрично при довжині хвилі 590 – 670 нм. Вміст кожної фракції обчислювали у %, приймаючи їх загальну суму за 100%.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів варіаційної статистики. Порівняння між двома групами здійснювали за допомогою програми *Microsoft Excel*, використовуючи двовибірковий *t*-критерій Стьюдента для незалежних вибірок. Вірогідними вважали відмінності між групами при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати досліджень показали, що в плазмі крові щурів, які знаходилися на низькопротеїновому раціоні, спостерігається зниження концентрації загального білка (рис. 1, а) в 1,3 рази порівняно зі значеннями контролю. Вірогідно, таке зниження за умов білкової недостатності відбувається не лише внаслідок обмеженого надходження харчового протеїну, але й зменшення вмісту альбумінів за даних експериментальних умов (рис. 1, б).

За даними літератури (Степанець та ін., 2013; Клімова та ін., 2011; Finfer et al., 2004) у кількісному співвідношенні альбуміни є найважливішими, оскільки на 80% визначають колоїдно-осмотичний тиск плазми крові, беруть безпосередню участь в забезпеченні буферної ємності, підвищують резерви вільних амінокислот в організмі тощо. Слід відмітити, що синтез альбуміну відбувається в гепатоцитах та безпосередньо залежить від надходження амінокислот з їжею, зокрема, триптофану, а також наявності АТФ, глутатіонтрансферази (Voss et al., 2002; Singh et al., 2012) та іонів Mg^{2+} (Barle et al., 2002; Ruot et al., 2000).

Вірогідно, виникнення гіпоальбумінемії у нашому випадку, з одного боку, пов'язано з порушенням синтетичної функції печінки, що зумовлено зменшенням кількості гепатоцитів або погіршенням їх функціональної здатності (Quinlan et al., 2005), з іншого, – посиленням використання альбумінів як легкомобілізованих білків для поповнення метаболічного пулу амінокислот (Шульга, Безроднова, 2013; Kragh-Hansen et al., 2002). Окрім того, не виключено, що зниженням рівня досліджуваного показника за умов білкової недостатності зумовлено пригніченням одного з факторів трансляції поліпептидного ланцюга альбуміну в клітинах печінки – глутатіонтрансферази, що підтверджується нашими попередніми дослідженнями (Копильчук, Бучковська, 2014; Копильчук и др., 2014).

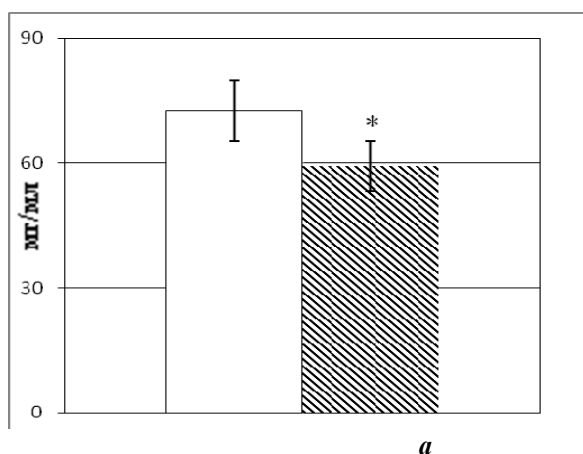
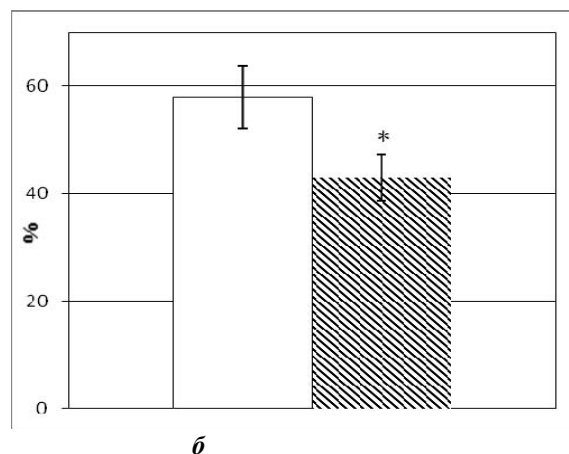


Рис. 1. Вміст загального білка (а) та альбуміну (б) в плазмі крові щурів за умов білкової недостатності



Pic. 1. The content of total protein (a) and albumin (b) in plasma of rats under the conditions of protein deficiency

Примітка (тут і надалі):

- – тварини, які утримувалися на напівсинтетичному раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами – група контролю (К);
- ▨ – тварини, які протягом 28 днів знаходилися на низькопротеїновому раціоні (НПР);

* - статистично достовірна різниця порівняно з контролем, $P \leq 0,05$.

Note (thereafter):

- – animals are kept in semi-synthetic diet in all nutrients – control group (C);
- ▨ – animals that were over 28 days on the low-protein diet (LPD);

* – statistically significant difference compared with control, $P \leq 0,05$.

З літератури (Пшенкіна 2011; Van der Vusse, 2009) відомо, що в регуляції зв'язувальної здатності альбуміну важлива роль належить вільним жирним кислотам (ВЖК). За фізіологічних умов молекула альбуміну може зв'язувати та транспортувати 2-4 ВЖК, що забезпечує зниження концентрації активних вільних жирних кислот у плазмі крові. Тому, можна припустити, що встановлене нами зменшення кількості альбумінів за умов білкової недостатності може виступати однією з причин розвитку жирової інфільтрації печінки.

Водночас перебування тварин на низькопротеїновій дієті супроводжується порушенням співвідношення гетерогенної фракції білків плазми крові, до складу якої

входять α -, β - та γ -глобуліни. Так, нами встановлено, що за умов аліментарної білкової недостатності в плазмі крові щурів підвищення вмісту α -глобулінів відбувається за рахунок зростання лише α_1 -протеїнової фракції (рис. 2, а), значення якої в 1,5 рази перевищують показники контрольної групи. Відомо, що до α_1 -глобулінів належать α_1 -антитрипсин, α_1 -антихімотрипсин, α_1 -кислий глікопротеїн, альфа-фетопротеїн тощо (Степанець та ін., 2013; Fairbanks et al., 2008). Зростання вмісту цих протеїнів може відбуватися у випадку надходження в кров значної кількості протеолітичних ензимів із тканин, наприклад, при гострому панкреатиті, що може мати місце й за даних експериментальних умов.

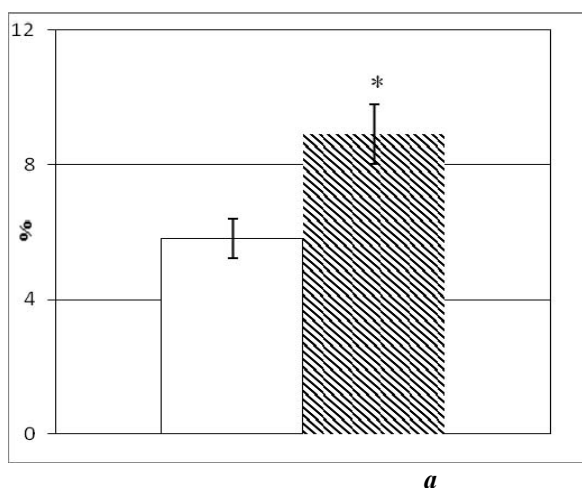
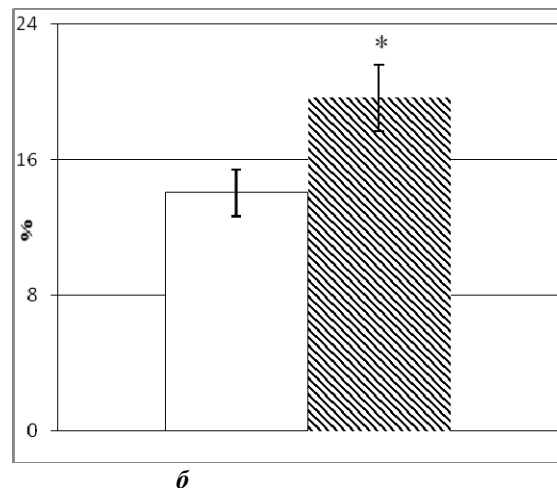


Рис. 2. Вміст α_1 -глобулінів (а) та γ -глобулінів (б) в плазмі крові щурів за умов білкової недостатності



Pic. 2. Content α_1 -globulin (a) and γ -globulin (b) in plasma of rats under the conditions of protein deficiency

Слід відмітити, що біологічна функція α_1 -антитрипсину та α_1 -антихімотрипсину реалізується шляхом зв'язування з трипсином, хімотрипсином, плазміном, тромбіном та призводить до пригнічення активності даних протеїназ.

Щодо α_2 -глобулінів, які включають гаптоглобін, α_2 -макроглобулін, церулоплазмін, С-реактивний білок тощо, верифікації змін їх вмісту за умов нестачі протеїну нами не виявлено, що однозначно підтверджується результатами попередніх досліджень (Копильчук, Волощук и др., 2014). Слід відмітити, що відсотковий вміст β -глобулінової фракції у плазмі крові дослідних тварин також знаходився в межах норми та не перевищував 15%. Водночас нами встановлено, що в плазмі крові щурів, які зазнавали аліментарної білкової депривації, спостерігається зростання кількості γ -глобулінів, до складу яких, як відомо, належать імуноглобуліни – IgG, IgA, IgM, IgD, IgE – функціональні антитіла, що забезпечують гуморальний імунітет (Schroeder, Cavasini, 2010). Так, як видно з рис. 2, вміст γ -глобулінів у плазмі крові дослідних тварин в 1,4 рази перевищує значення контролю (рис. 2, б). Слід відмітити, що показник кількості білків вказаної фракції є найстабільнішим, проте його зміни можуть бути свідченням адекватної реакції імунної системи у відповідь на нестачу протеїну. Враховуючи те, що обмежене споживання білка, як показано у роботі (Добреля, 2007) призводить до зниження кількості продукування антитіл, але практично не виявляє жодного впливу на функції клітин, які їх виробляють, можна припустити, що підвищення вмісту γ -глобулінів у плазмі крові дослідних тварин відбувається внаслідок надмірного утворення імунокомпетентними клітинами системи В-лімфоцитів патологічних білків – парапротеїнів (PIg) (Smogorzewska et al., 2004).

Відомо, що коефіцієнт альбуміно-глобулінового співвідношення (А/Г) – важливий діагностичний показник стану білкового обміну в організмі, який у нормі складає 1,2-2. Аналіз отриманих нами результатів засвідчує, що рівень А/Г-співвідношення знаходиться в межах 0,83 та виявляється нижчим значень контролю в 1,8 рази (рис. 3). Таким чином, низькі значення цього показника вказують на зниження резерву легкодоступних амінокислот та зростання катаболізму протеїнів (Alberghina et al., 2011) за умов білкової недостатності, що, в свою чергу, може виступати першопричиною розвитку патологічних станів печінки, зокрема гепатостеатозу, гепатиту тощо.

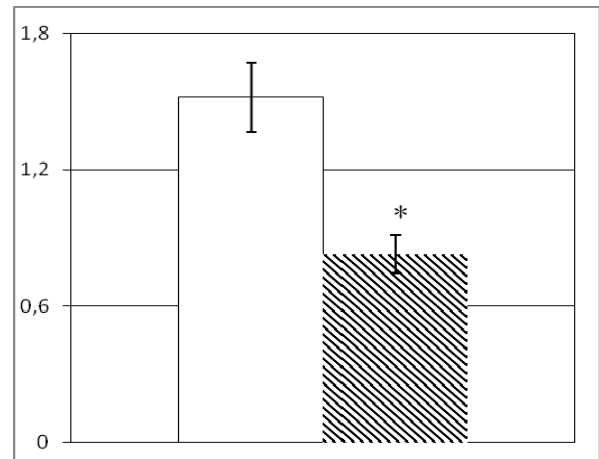


Рис. 3. Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт плазми крові щурів за умов білкової недостатності

Fig. 3. Albumin-globulin ratio blood plasma of rats under the conditions of protein deficiency

Висновки. Отже, аліментарна білкова недостатність супроводжується розвитком диспротеїнемії, що характеризується зниженням концентрації альбуміну з одночасним зростанням вмісту α - та γ -глобулінових фракцій плазми крові тварин.

Список літератури:

- Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: справочное пособие. – Изд. 3-е. – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.
- Добреля И.В. Роль белка в поддержании иммунной защиты и усилении иммунной функции. – 2007. – Ел.ресурс: http://east-house.org.ru/journals/vetklinika/2007/03Mar/08_page13-14.pdf.
- Електрофоретичне дослідження білків і ферментів крові людини та тварин. методичні вказівки / Уклад. Топіков В.А., Дяченко Л.Ф. – Одеса: Б.в., 2006. – 56с.
- Клімова О., Звягінцева О., Малишев А. Зміна співвідношення білкових фракцій сироватки крові у експериментальних тварин різного віку після імунізації цитотоксичною сироваткою хворих з аутоімунним захворюванням – міастенією // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2011. – Вип. 55. – С. 27-33.
- Копильчук Г.П., Бучковська І.М. Стан глутатіонової системи клітин печінки щурів за низькопротеїнового раціону та гострого гепатотоксичного ураження // Ukr. Biochem. J. – 2014. – Vol. 86, N 5 (Supplement 1). – P. 165-166.
- Копильчук Г.П., Борщовецкая Н.Л., Чопик Н.В., Бучковская И.М. Активность ключевых ферментов синтеза и конъюгации глутатиона в гепатоцитах крыс при алиментарной белковой недостаточности // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2014. – № 6-1. – С. 70-73.
- Копильчук Г.П., Волощук О.Н., Аврам И.И. Особенности острофазового ответа при токсическом гепатите, развивающемся на фоне алиментарной депривации протеина // Актуальные проблемы

- гуманитарных и естественных наук. – 2014. – №6-1. – С. 33-35.
8. Лившиц В.М. Биохимические анализы в клинике. Справочник / В. М. Лившиц, В.И. Сидельникова // М: Мед. информационное агентство, 2001. – 303 с.
 9. Пшенкина Н.Н. Структура альбумина и транспорт лекарств // Медицинский академический журнал. – 2011. – Т. 11, № 3. – С. 3-15.
 10. Степанец І., Моргаєнко О., Остапченко Л. Білковий склад сироватки крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2013. – Вип. 61. – С. 30-36.
 11. Шульга И.М., Безроднова С.М. Дискриминантный анализ в изучении детей и подростков с недостаточным, достаточным питанием и больных туберкулёзом Клиническая медицина. – 2013. – Т. 14. – С. 647-655.
 12. Alberghina D., Giannetto C., Vazzana I. et al. Reference intervals for total protein concentration, serum protein fractions, and albumin/globulin ratios in clinically healthy dairy cows // J. Vet. Diagn. Invest. – 2011. – Vol. 23. – P. 111-114.
 13. Barle H., Januszkiewicz A., Hailstro L. et al. Albumin synthesis in humans increases immediately following the administration of endotoxin // Clinical Science. – 2002. – Vol. 103. – P. 525-531.
 14. Dideriksen K. Influence of Amino Acids, Dietary Protein, and Physical Activity on Muscle Mass Development in Humans / K. Dideriksen, S. Reitelseder, L. Holm // Nutrients. – 2013. – № 5. – С. 852-876.
 15. Eghtesad S. Malnutrition in Liver Cirrhosis: The Influence of Protein and Sodium / S. Eghtesad, H. Poustchi, R. Malekzadeh // Middle East Journal of Digestive Diseases. – 2013. – Vol. 5, № 2. – P. 65-75.
 16. Fairbanks K.D., Tavill M.D., Tavill A.S. Liver Disease in Alpha 1-Antitrypsin Deficiency: A Review // Am J Gastroenterol. – 2008. – Vol. 103. – P. 2136-2141.
 17. Finfer S., Bellomo R., Boyce N. et al. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit // Engl. J. Med. – 2004. – Vol. 22. – P. 2247-2256.
 18. Kragh-Hansen U., Chuang V., Otagiri M. Practical aspects of the ligandbinding and enzymatic properties of human serum albumin // Biol. Pharm. Bull. – 2002. – Vol. 25. – P. 695-704.
 19. Mashiko S., Ishihara A., Iwaasa H. et al. Pair-Feeding Study Reveals That a Y5 Antagonist Causes Weight Loss in Diet-Induced Obese Mice by Modulating Food Intake and Energy Expenditure // Molecular pharmacology. – 2007. – Vol. 71, № 2. – P. 602-608.
 20. Quinlan G.J., Martin G.S., Evans T.W. Albumin: biochemical properties and therapeutic potential // Hepatology. – 2005. – Vol. 41. – P. 1211-1219.
 21. Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahey G.C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet // The journal of nutrition. – 1993. – № 5. – P. 1939-1951.
 22. Ruot B., Breuille D., Rambourdin F. et al. Synthesis rate of plasma albumin is a good indicator of liver albumin synthesis in sepsis // Am J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2000. – Vol. 279. – P. 244-251.
 23. Schroeder H.W., Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins // J Allergy Clin. Immunol. – 2010. – Vol. 125, № 2. – P. 41-52.
 24. Singh M., Aggarwal H., Aggarwa S. Significance of the Glutathione-S-Transferase Activity and the Total Thiols Status in Chronic Alcoholics // J. Clin. and Diagn. Res. – 2012. – Vol. 6, № 1. – P. 31-33.
 25. Smogorzewska A., Flood J.G., Long W.H. et al. Paraprotein Interference in Automated Chemistry Analyzers // Clinical Chemistry. – 2004. – Vol. 50, № 9. – P. 1691-1693.
 26. Van der Vusse G.J. Albumin as fatty acid transporter // Drug Metab. Pharmacokinet. – 2009. – Vol. 24, № 4. – P. 300-307.
 27. Voss S., Whalen R., Boyer T. Mechanism of negative regulation of rat glutathione S-transferase A2 by the cytokine interleukin 6 // Biochem J. – 2002. – Vol. № 1. – P. 229-237.

CONTENT OF PROTEIN FRACTIONS OF BLOOD PLASMA IN ANIMALS UNDER THE CONDITIONS OF PROTEIN DEFICIENCY

H. P. Kopylchuk, I. M. Buchkovska, R. O. Nikolaev

In work considered the researches the content of protein fractions in blood plasma of rats under conditions of alimentary protein deficiency. Much attention is paid to the determination of total protein content in the blood plasma of animals. In order to study the characteristics changes of the data of biochemical parameters in the conditions of alimentary deprivation protein research animals kept for 28 days on a semi-synthetic low-protein diet based on the principle of paired food. For research use sodium citrate blood taken from the vena portae hepatis conventional method. Plasma obtained by centrifugation. Determination of the concentration of total protein in blood plasma was performed biuret method. The proportion of albumin, α -, β - and γ -globulin was determined turbidimetry method that is based on the fact that phosphate solutions of certain concentration precipitated protein fraction of blood plasma to form a suspensions, which determine the degree of turbidity nephelometric at a wavelength of 590 – 670 nm. Found that the shortage of protein in the diet of animals seen the development of hypoproteinemia due to lower total protein concentration in blood plasma. It should be noted that the decrease in the concentration of total protein in the blood plasma of experimental animals is due to reduce the content of albumin and indicates the presence of hypoalbuminemia. At the same time staying in rats low-protein diet accompanied by increased content of α - and γ -globulin plasma fractions animals. It should be noted that the level of α -globulin is increased only at the expense α_1 -protein fraction whose value significantly higher than those in the control group. As for α_2 - and β -globulin, verification of changes in their content a shortage of protein not found us. Under conditions protein deficiency rate of albumin-globulin ratio is in the range of 0.83, indicating a decrease in reserve readily available amino acids and increased catabolism of proteins under these experimental conditions, which in turn may be a primary cause development of pathological conditions of the liver.

Keywords: total protein, albumin, α_1 -globulin, α_2 -globulins, β -globulins, γ -globulins, blood plasma, protein deficiency

Одержано редколлегією 27.02.2015

EFFECT OF NUTRIENT DEPRIVATION ON THE EXPRESSION OF PDGFC, PDGFRA, AND PDGFRB GENES IN U87 GLIOMA CELLS DEPENDS ON ERN1 SIGNALING ENZYME FUNCTION

K. I. KUBAICHUK, D. O. MINCHENKO, O. O. RIABOVOL, O. V. HALKIN,
O. H. MINCHENKO

*Department of Molecular Biology, Palladin Institute of Biochemistry National Academy of Sciences of Ukraine, 9
Leontovycha St., 01601, Kyiv, Ukraine;*

*Departments of Pediatrics, Bohomolets National Medical University, 13 Shevchenka Blvd., 01601, Kyiv, Ukraine;
e-mail: ominchenko@yahoo.com*

Growth factors, which control angiogenesis, play an important role in malignant tumor progression. We studied the effect of glucose or glutamine deprivation conditions on the expression level of platelet derived growth factor C (PDGFC) and its receptors PDGFRA (platelet derived growth factor receptor A) and PDGFRB mRNA in U87 glioma cells. It was shown that the suppression of both enzymatic activities of sensor and signaling enzyme ERN1 (endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1), the major component of endoplasmic reticulum stress signaling, upregulates the expression level of genes encoding PDGFC, PDGFRA, and PDGFRB in U87 glioma cells. Glutamine deprivation condition leads to increase the expression level of PDGFC gene and to decrease – PDGFRA and PDGFRB genes in control glioma cells, but ERN1 knockdown modifies the effect of glutamine deprivation on the expression of these genes. It was also shown that the expression level of PDGFC gene did not change significantly in control glioma cells at glucose deprivation condition, but in cells with ERN1 knockdown glucose deprivation decreases the expression of this gene. Results of this investigation clearly demonstrated that the expression of PDGFC, PDGFRA, and PDGFRB genes in U87 glioma cells is dependent from blockade of ERN1-mediated endoplasmic reticulum stress and is mostly regulated by glutamine and glucose deprivation in dependence of ERN1 signaling enzyme function.

Key words: mRNA expression, ERN1 knockdown, PDGFC, PDGFRA, PDGFRB, glutamine deprivation, glucose deprivation, U87 glioma cells

Introduction. Malignant gliomas are highly aggressive tumors and are characterized by marked angiogenesis and extensive tumor cell invasion into the normal brain parenchyma (Bi et al., 2005). Moreover, nutrient deprivation condition as well as hypoxia are associated to glioma development and more aggressive behaviour as well as to cell surviving (Denko et al., 2008; Johnson et al., 2008; Lenihan and Taylor, 2013; Moenner et al., 2007).. The endoplasmic reticulum stress response-signalling pathways are tightly linked to angiogenesis and cell proliferation process as well as tumor growth because blockade of ERN1 signaling in glioma and lung cancer cells had anti-tumor effects (Auf et al., 2010, 2013; Drogat et al., 2007).

The unfolded protein response/endoplasmic reticulum stress is associated with accumulation of unfolded/misfolded proteins in the endoplasmic reticulum (Moenner et al., 2007; Wang and Kaufman, 2012). This adaptive response is activated upon the accumulation of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum and is mediated by three endoplasmic reticulum-resident sensors named PERK (double stranded RNA activated protein Kinase (PRK)-like ER kinase), IRE1alpha (Inositol Requiring Enzyme-1alpha) also known as ERN1

(Endoplasmic Reticulum to Nucleus signaling 1) and ATF6 (Activating Transcription Factor 6); however, ERN1 is the dominant sensor and signaling enzyme (Bi et al., 2005; Fels et al., 2006; Manie et al., 2014; Minchenko et al., 2013; Zhang and Kaufman, 2006). Induction of endoplasmic reticulum stress is the early cellular response to the accumulation of misfolded proteins in the lumen of the endoplasmic reticulum and tends to limit the de novo entry of proteins in to the endoplasmic reticulum and facilitate both the endoplasmic reticulum protein folding and degradation to adapt cells for survival (Hetz et al., 2013; Minchenko et al., 2014; Schröder, 2008).

The ERN1 enzyme has two distinct catalytic domains: for kinase and endoribonuclease, both of which contribute to ERN1 signalling. The ERN1-associated protein kinase activity autophosphorylates and dimerizes this enzyme, leading to the activation of its endoribonuclease domain, which responsible for initiation of the pre-XBP1 (X-box binding protein 1) mRNA splicing and degradation of a specific subset of mRNA (Acosta-Alvear et al., 2007; Korennykh et al., 2009; Maurel et al., 2014; Pluquet et al., 2013; Romero-Ramirez et al., 2004). Mature XBP1 mRNA splice

variant encodes a transcription factor that stimulates the expression of hundreds of unfolded protein response-specific genes (Aragon et al., 2009; Hollien et al., 2009). Moreover, XBP1s has some additional functions, which are important for the regulation of glucose homeostasis (Lee et al., 2011; Park et al., 2010; Zhou et al., 2011). At the same time, it was shown that an inhibitor of ERN1 kinase activates the endoribonuclease of this enzyme to confer cytoprotection against endoplasmic reticulum stress. It is possible that activation of the ERN1 endoribonuclease after inhibition of kinase is a result of its interaction with other sensor-signalling systems of endoplasmic reticulum stress.

Growth factor PDGFC, also known as VEGFE (vascular endothelial growth factor E), is a member of the platelet-derived growth factor family and works as homodimer. It may play an essential role in the regulation of angiogenesis, cell proliferation, cell migration, survival, chemotaxis, and possibly responsible for invasiveness (Lee et al., 2013; Ruffini et al., 2013; Son et al., 2014; Wright et al., 2014). In the nucleus, PDGFC seems to have additional function. There is data that PDGFC mRNA expression is down-regulated in human papillary thyroid carcinomas containing infiltrated lymphocytes and inverse correlation exist between PDGFC expression and lymphocyte infiltration (Bruland et al., 2009). No other PDGF family member could be linked to lymphocyte specific gene expression in our collection of PTCs biopsies. Platelet-derived growth factor receptors (PDGFRs) are catalytic receptors that have intracellular tyrosine kinase activity and have roles in the regulation of many biological processes including angiogenesis, cell proliferation, apoptosis and differentiation, and contribute to the pathophysiology of some diseases, including cancer (Sciaccaluga et al., 2013; Sun et al., 2014). There are two isoforms of the PDGFR receptor (PDGFRA and PDGFRB, which can form homo- or heterodimers, which induce receptor dimerization and transphosphorylation at specific tyrosine residues and activates the intracellular kinase activity, initiating intracellular signaling through the MAPK, PI3-K and PKCG pathways (Cheng et al., 2013; Sciaccaluga et al., 2013; Sun et al., 2014).

The main goal of this study was investigation the role of the blockade of ERN1 signaling enzyme on the expression of *PDGFC*, *PDGFRA*, and *PDGFRB* genes in glioma U87 cells and its regulation by hypoxia and nutrient deprivation condition.

Materials and Methods. The glioma cells U-87 MG (ATCC HTB-14) was obtained from ATCC (USA) and grown in high glucose (4.5 g/l) Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium (DMEM; Gibco, Invitrogen, USA)

supplemented with glutamine (2 mM), 10% fetal bovine serum (Equitech-Bio, Inc., USA), penicillin (100 units/ml; Gibco) and streptomycin (0.1 mg/ml; Gibco) at 37°C in a 5% CO₂ incubator. In this study we used two sublimes of this glioma cells. One subline was obtained by selection of stable transfected clones with overexpression of vector (pcDNA3.1), which was used for creation of dnERN1 (dominant/negative construct of ERN1). This untreated subline of glioma cells (control glioma cells) was used as control 1 in the study of effects of nutrient (glutamine or glucose) deprivations on the expression level of different protein kinase and associated with kinase genes. Second subline was obtained by selection of stable transfected clones with overexpression of dnERN1 and has suppressed both protein kinase and endoribonuclease activities of ERN1 signaling enzyme (Auf et al., 2010; Drogat et al., 2007).

The effect of glutamine and glucose deprivation conditions on the expression level of PDGFC, PDGFRA, and PDGFRB mRNAs in glioma cells, transfected by vector, as well as effect of ERN1 knockdown was compared with cells, transfected by vector (control 1). The glioma cells with blockade of ERN1 was also used as control 2 for investigation the effect of glutamine and glucose deprivation conditions on the expression level of these genes upon ERN1 knockdown. Nutrient deprivation conditions were created by changing the complete Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium on the medium without glutamine or glucose and culture plates were exposed to these conditions for 16 hrs.

The suppression level of ERN1 both enzymatic activity in glioma cells that over express a dnERN1 was previously shown by analysis of ERN1 autophosphorylation and the expression of XBP1 alternative splice variant (XBP1s), a key transcription factor in ERN1 signaling, upon induction of endoplasmic reticulum stress by tunicamycin (0.01 mg/ml, 2 hours) (Minchenko et al., 2014).

Total RNA was extracted from glioma cells using Trizol reagent according to manufacturer protocols (Invitrogen, USA). The RNA pellets were washed with 75 % ethanol and dissolved in nuclease-free water. For additional purification RNA samples were re-precipitated with 95 % ethanol and re-dissolved again in nuclease-free water. QuaniTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN, Germany) was used for cDNA synthesis. Polymerase chain reaction was performed in triplicate.

The expression levels of PDGFC, PDGFRA, and PDGFRB mRNA were measured in glioma cell line U87 and its ERN1 knockdown subline by real-time quantitative polymerase chain reaction using „Mx

3000P QPCR” (Stratagene, USA) and SYBRGreen Mix (AB gene, Great Britain).

The amplification of PDGFC (platelet derived growth factor C) cDNA was performed using forward primer (5’- ctctgtgtaaacgctgtgg -3’) and reverse primer (5’- tatctcctgtgtcctct -3’). These oligonucleotides correspond to sequences 1314 – 1333 and 1528 – 1509 of human PDGFC cDNA (GenBank accession number NM_016205). The size of amplified fragment is 215 bp. For amplification of PDGFRA (platelet-derived growth factor receptor, alpha polypeptide) cDNA we used forward (5’- ggcacgctctttactccatg -3’ and reverse (5’- aaggccgctgtgttttctt -3’) primers. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 262 – 281 and 571 – 552 of human PDGFRA cDNA (GenBank accession number NM_006206). The size of amplified fragment is 310 bp. The amplification of PDGFRB (platelet-derived growth factor receptor, beta polypeptide) cDNA for real time qPCR analysis was performed using two oligonucleotides primers: forward – 5’- cggagagcatcttcaacagc -3’ and reverse – 5’- taacctcgcccaacagtct -3’. The nucleotide sequences of these primers correspond to sequences 3084 – 3103 and 3366 – 3347 of human PDGFRB cDNA (GenBank accession number NM_002609). The size of amplified fragment is 283 bp. For amplification of beta-actin (ACTB) cDNA was used forward - 5’- ggacttcgagcaagagatgg -3’ and reverse - 5’- agcactgtgtggcgtagc -3’ primers. These primers nucleotide sequences correspond to 747 – 766 and 980 – 961 of human ACTB cDNA (GenBank

accession number NM_001101). The size of amplified fragment is 234 bp. The expression of beta-actin mRNA was used as control of analyzed RNA quantity. The primers were received from “Sigma-Aldrich” (USA).

An analysis of quantitative PCR was performed using special computer program “Differential expression calculator” and statistical analysis using program OriginPro 7.5. The values of PDGFC, PDGFRA, and PDGFRB mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA and represent as percent of control (100 %). All values are expressed as mean ± SEM from triplicate measurements performed in four independent experiments.

Results and Discussion. In this work we studied the effect of glucose and glutamine deprivation conditions on the expression level of PDGFC and its receptors PDGFRA and PDGFRB mRNAs in U87 glioma cells with knockdown of ERN1, the major component of endoplasmic reticulum stress signaling. As shown in Fig. 1, the suppression of both enzymatic activities of signaling enzyme ERN1 significantly upregulated (2.6 fold) the expression level of *PDGFC* gene in U87 glioma cells. Moreover, glutamine deprivation condition upregulates the expression level of mRNA for PDGFC (+35 %) in control glioma cells as compared to control 1, but in cells with blockade of ERN1 signaling enzyme function the expression level of this gene does not change significantly as compared to control 2 upon glutamine deprivation condition (Fig. 1).

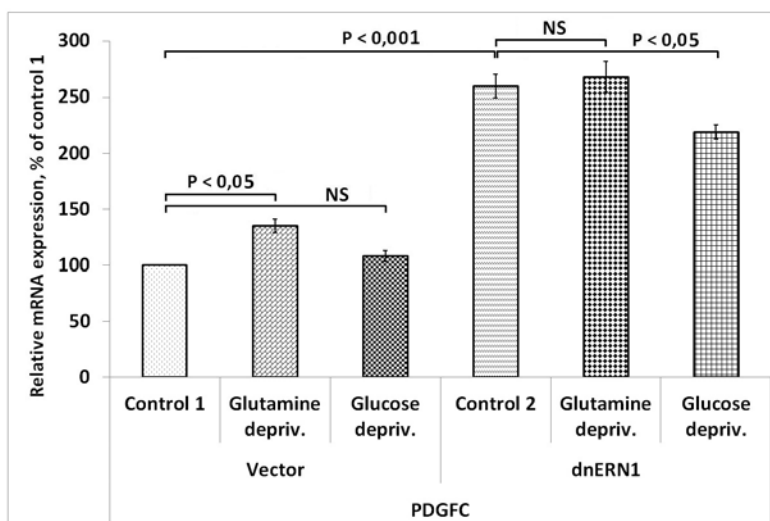


Fig. 1. Effect of glutamine and glucose deprivation on the expression level of PDGFC (platelet derived growth factor C) mRNA in U87 glioma cells, transfected with vector pcDNA3.1 (Vector) and cells, transfected with dominant/negative constructs of ERN1 signaling enzyme (dnERN1) into vector pcDNA3.1, measured by quantitative real-time PCR. The level of this mRNA expression was normalized to the expression of beta-actin. The changes in the expression of PDGFC mRNA in the glutamine or glucose deprivation conditions in control glioma cells were compared to control 1 (100 %), but in cells, transfected with dnERN1, – to control 2; n = 4. Note: in fig. 1 – 3: Control 1 represents cells, transfected with vector pcDNA3.1 and Control 2 – cells, transfected with dnERN1.

Thus, blockade of ERN1 signaling enzyme function eliminates the effect of glutamine deprivation condition on the expression level of *PDGFC* gene in U87 glioma cells. At the same time, glucose deprivation condition does not change significantly the expression level of *PDGFC* gene in control glioma cells, but slightly downregulates it expression (-16 %) in cells without ERN1 signaling enzyme function.

Investigation of the expression of *PDGFRA* gene demonstrates that knockdown of signaling enzyme ERN1 leads to significant (more than 2 fold) increase of its mRNA expression level in U87 glioma cells (Fig. 2). Moreover, the glutamine as well as glucose deprivation condition strongly downregulates the expression level of *PDGFRA* gene (2 fold) in control glioma cells; however, in cells with suppressed function of ERN1 signaling enzyme glutamine deprivation condition does not affect its expression (Fig. 2). At the same time, glucose deprivation condition also downregulates (+-64 %) the expression level of *PDGFRA* mRNA in glioma cells after blockade of ERN1 signaling enzyme function (Fig. 2). Thus, the regulation of *PDGFRA* mRNA expression in glioma cells both by glucose and glutamine deprivation conditions is strongly depended upon ERN1 signaling enzyme function.

As shown in Fig. 3, the *PDGFRB* gene expression is upregulated (more than in 3 fold) in glioma cells with suppressed function of ERN1 signaling enzyme of endoplasmic reticulum stress. the expression level of this gene in glutamine deprivation condition is strongly decreased (in 3

fold) in control glioma cells and ERN1 knockdown significantly decreases this effect (-29 % only). At the same time, glucose deprivation condition slightly decreases the expression level of *PDGFRB* mRNA both in control glioma cells (-17 % as compared to control 1) and in cells with blockade of ERN1 signaling enzyme function (-21 % as compared to control 2) (Fig. 3).

Upregulation of platelet-derived growth factor C in cells with blockade of ERN1 signaling enzyme function possibly not contributes to suppressed angiogenesis in tumors growing from these glioma cells, but it may be responsible for enhanced invasiveness, because *PDGFC* plays an essential role in the regulation of cell migration and invasiveness, not only angiogenesis (Auf et al., 2010; Drogat et al., 2007; Lee et al., 2013; Ruffini et al., 2013; Son et al., 2014). Moreover, *PDGFC* gene expression is down-regulated in human papillary thyroid carcinomas (Bruland et al., 2009). These results agree with data Hose et al. (2009) concerning a complex network in the regulation of angiogenesis in malignant tumors. They demonstrate that purified myeloma cells from 300 untreated patients do not show a significantly higher median number of expressed pro-angiogenic (45) or anti-angiogenic (31) genes, but almost all of these myeloma cells samples aberrantly express at least one of the angiogenic factors. Furthermore, this complex angiogenic network is regulated by endoplasmic reticulum stress signaling at transcriptional and post-transcriptional levels that has been shown preferentially for VEGF-A (Pereira et al., 2010).

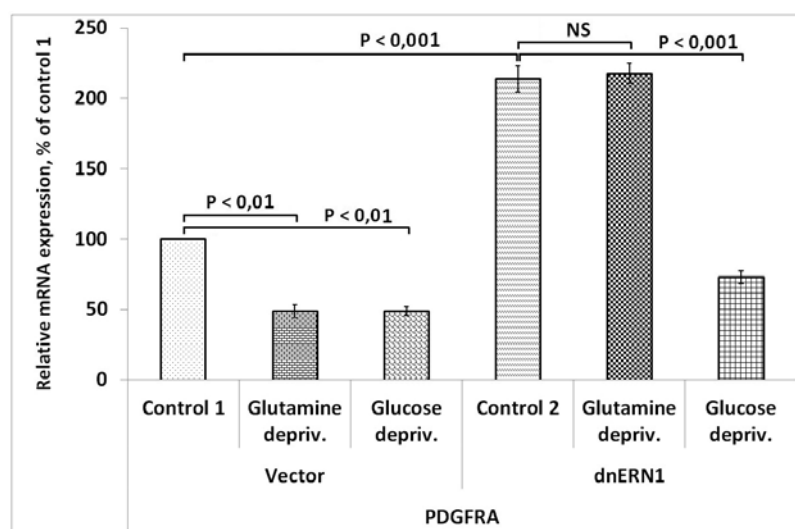


Fig. 2. Effect of glutamine and glucose deprivation on the expression level of *PDGFRA* (platelet derived growth factor receptor A) mRNA in U87 glioma cells, transfected with vector *pcDNA3.1* (Vector) and cells, transfected with dominant/negative constructs of ERN1 signaling enzyme (*dnERN1*) into vector *pcDNA3.1*, measured by quantitative real-time PCR. The level of this mRNA expression was normalized to the expression of beta-actin. The changes in the expression of *PDGFRA* mRNA in the glutamine or glucose deprivation conditions in control glioma cells were compared to control 1 (100 %), but in cells, transfected with *dnERN1*, – to control 2; n = 4.

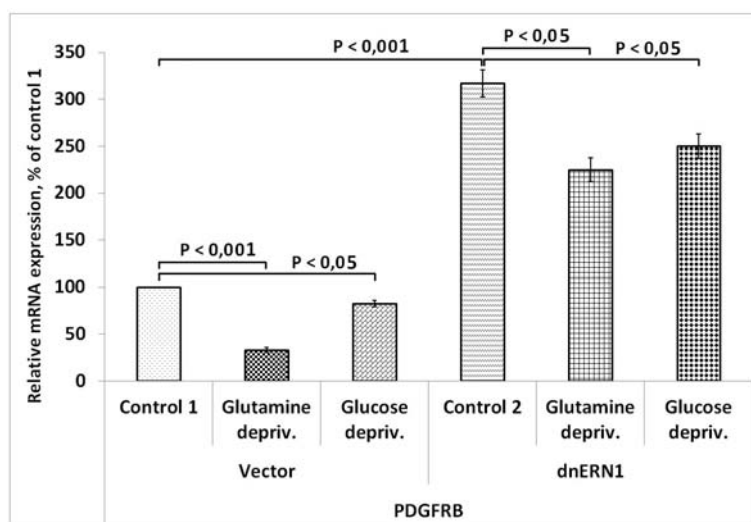


Fig. 3. Effect of glutamine and glucose deprivation on the expression level of *PDGFRB* (platelet derived growth factor receptor B) mRNA in U87 glioma cells, transfected with vector *pcDNA3.1* (Vector) and cells, transfected with dominant/negative constructs of ERN1 signaling enzyme (*dnERN1*) into vector *pcDNA3.1*, measured by quantitative real-time PCR. The level of this mRNA expression was normalized to the expression of beta-actin. The changes in the expression of *PDGFRB* mRNA in the glutamine or glucose deprivation conditions in control glioma cells were compared to control 1 (100 %), but in cells, transfected with *dnERN1*, – to control 2; $n = 4$.

We have also shown that both receptors of PDGF are upregulated in glioma cells with knockdown of ERN1 signaling enzyme. Thus, upregulation of PDGFC correlates to increased expression of *PDGFRA* and *PDGFRB* genes and possibly all these genes contributes to enhanced invasiveness of glioma cells without ERN1 function (Auf et al., 2010; Sciacaluga et al., 2013; Sun et al., 2014). Moreover, glutamine deprivation suppresses the expression of *PDGFRA* and *PDGFRB* genes in glioma cells and this effect mostly depends on ERN1 signaling enzyme function. This data correlate with upregulation of both PDGF receptor genes in glioma cells with ERN1 knockdown and indicate possible participation of *PDGFRA* and *PDGFRB* genes in invasiveness of these glioma cells (Sciacaluga et al., 2013).

Results of this investigation clearly demonstrated that the expression of *PDGFC*, *PDGFRA*, and *PDGFRB* genes in U87 glioma cells is dependent from blockade of ERN1-mediated endoplasmic reticulum stress and is mostly regulated by glutamine and glucose deprivation in dependence from ERN1 signaling enzyme function. Significant increase of the expression of *PDGFC* as well as *PDGFRA* and *PDGFRB* genes in glioma cells with knockdown of signaling enzyme ERN1 correlates with suppressed proliferation rate of these cells and enhanced invasiveness and possibly contributes in these effects, because encoded by these genes proteins are multifunctional and play an important role in the regulation of angiogenesis, cell proliferation and migration (Lee et al., 2013; Ruffini

et al., 2013; Sciacaluga et al., 2013; Son et al., 2014; Sun et al., 2014).

Conclusions.

1. It was shown that suppression of both enzymatic functions of sensor and signaling enzyme ERN1 (endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1), the major component of endoplasmic reticulum stress signaling, upregulates the expression level of genes encoding PDGFC, *PDGFRA*, and *PDGFRB* in U87 glioma cells.

2. Glutamine deprivation condition leads to upregulation of the expression of *PDGFC* gene and to decrease – *PDGFRA* and *PDGFRB* genes in control glioma cells, but ERN1 knockdown eliminates the effect of glutamine deprivation on the expression of *PDGFC* and *PDGFRA* genes.

3. It was also shown that the expression level of *PDGFC* gene did not change significantly in control glioma cells at glucose deprivation condition, but decreased in cells with ERN1 knockdown. At the same time, the expression level of *PDGFRA* and *PDGFRB* genes is decreased in both types of glioma cells.

4. Results of this investigation clearly demonstrated that the expression of *PDGFC*, *PDGFRA*, and *PDGFRB* genes in U87 glioma cells is dependent from endoplasmic reticulum stress mediated by ERN1 and that glutamine and glucose deprivation conditions mostly affect these gene expressions in dependence of ERN1 signaling enzyme function.

References:

1. Acosta-Alvear D., Zhou Y., Blais A., Tsikitis M., Lents N.H., Arias C., Lennon C.J., Kluger Y.,

- Dynlacht D.D. XBP1 controls diverse cell type- and condition-specific transcriptional regulatory networks // *Molecular Cell*. – 2007. – 27. – P. 53 – 66.
2. Aragón T., van Anken E., Pincus D., Serafimova I.M., Korennykh A.V., Rubio C.A., Walter P. Messenger RNA targeting to endoplasmic reticulum stress signalling sites. // *Nature*. – 2009. – 457, N 7230. – P. 736 – 740.
 3. Auf G., Jabouille A., Delugin M., Guérit S., Pineau R., North S., Platonova N., Maitre M., Favereaux A., Seno M., Bikfalvi A., Minchenko D., Minchenko O., Moenner M. High epiregulin expression in human U87 glioma cells relies on IRE1 α and promotes autocrine growth through EGF receptor. // *BMC Cancer*. – 2013. – 13, N 1. – P. 597.
 4. Auf G., Jabouille A., Guérit S., Pineau R., Delugin M., Bouche-careilh M., Favereaux A., Maitre M., Gaiser T., von Deimling A., Czabanka M., Vajkoczy P., Chevet E., Bikfalvi A., Moenner M. A shift from an angiogenic to invasive phenotype induced in malignant glioma by inhibition of the unfolded protein response sensor IRE1. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010. – 107, N 35. – P. 1555 – 1558.
 5. Bi M., Naczki C., Koritzinsky M., Fels D., Blais J., Hu N., Harding H., Novoa I., Varia M., Raleigh J., Scheuner D., Kaufman R.J., Bell J., Ron D., Wouters B.G., Koumenis C. ER stress-regulated translation increases tolerance to extreme hypoxia and promotes tumor growth. // *EMBO J.* – 2005. – 24, N 19. – P. 3470 – 34815.
 6. Bruland O., Fluge Ø., Aksten L.A., Eiken H.G., Lillehaug J.R., Varhaug J.E., Knappskog P.M. Inverse correlation between PDGFC expression and lymphocyte infiltration in human papillary thyroid carcinomas. // *BMC Cancer*. – 2009. – 9. – P. 425.
 7. Cheng S., Li Y., Yang Y., Feng D., Yang L., Ma Q., Zheng S., Meng R., Wang S., Wang S., Jiang W.G., He J. Breast cancer-derived K172N, D301V mutations abolish Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor 1 inhibition of platelet-derived growth factor receptor signaling. // *FEBS Lett.* – 2013. – 587, N 20. – P. 3289 – 3295.
 8. Denko N.C. Hypoxia, HIF1 and glucose metabolism in the solid tumour. // *Nature Reviews Cancer*. – 2008. – 8. – P. 705 – 713.
 9. Drogat B., Auguste P., Nguyen D.T., Bouche-careilh M., Pineau R., Nalbantoglu J., Kaufman R.J., Chevet E., Bikfalvi A., Moenner M. IRE1 signaling is essential for ischemia-induced vascular endothelial growth factor-A expression and contributes to angiogenesis and tumor growth in vivo. // *Cancer Res.* – 2007. – 67. – P. 6700 – 6707.
 10. Fels D.R., Koumenis C. The PERK/eIF2 α /ATF4 module of the UPR in hypoxia resistance and tumor growth. // *Cancer Biology & Therapy*. – 2006. – 5, N 7. – P. 723 – 728.
 11. Hetz C., Chevet E., Harding H.P. Targeting the unfolded protein response in disease. // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2013. – 12, N 9. – P. 703 – 719.
 12. Hollien J., Lin J.H., Li H., Stevens N., Walter P., Weissman J.S. Regulated Ire1-dependent decay of messenger RNAs in mammalian cells. // *J. Cell. Biol.* – 2009. – 186, N 3. – P. 323 – 331.
 13. Hose D., Moreaux J., Meissner T., Seckinger A., Goldschmidt H., Benner A., Mahtouk K., Hillengass J., Rème T., De Vos J., Hundemer M., Condomines M., Bertsch U., Rossi J.F., Jauch A., Klein B., Möhler T. Induction of angiogenesis by normal and malignant plasma cells. // *Blood*. – 2009. – 114, N 1. – P. 128 – 143.
 14. Johnson A. B., Denko N., Barton M. C. Hypoxia induces a novel signature of chromatin modifications and global repression of transcription. // *Mutat. Res.* – 2008. – 640. – P. 174 – 179.
 15. Korennykh A.V., Egea P.F., Korostelev A.A., Finer-Moore J., Zhang C., Shokat K.M., Stroud R.M., Walter P. The unfolded protein response signals through high-order assembly of Ire1. // *Nature*. – 2009. – 457, N 7230. – P. 687 – 693.
 16. Lee C., Zhang F., Tang Z., Liu Y., Li X. PDGF-C: a new performer in the neurovascular interplay. // *Trends Mol. Med.* – 2013. – 19, N 8. – P. 474 – 486.
 17. Lee J., Sun C., Zhou Y., Lee J., Gokalp D., Herrema H., Park S.W., Davis R.J., Ozcan U. p38 MAPK-mediated regulation of Xbp1s is crucial for glucose homeostasis. // *Nature Medicine*. – 2011. – 17, N 10. – P. 1251 – 1260.
 18. Lenihan C.R., Taylor C.T. The impact of hypoxia on cell death pathways. // *Biochem. Soc. Trans.* – 2013. – 41, N 2. – P. 657 – 663.
 19. Manié SN, Lebeau J, Chevet E. Cellular mechanisms of endoplasmic reticulum stress signaling in health and disease. 3. Orchestrating the unfolded protein response in oncogenesis: an update. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2014. – 307, N 10. – P. C901 – 907.
 20. Maurel M, Chevet E, Tavernier J, Gerlo S. Getting RIDD of RNA: IRE1 in cell fate regulation. // *Trends Biochem. Sci.* – 2014. – 39, N 5. – P. 245 – 254.
 21. Minchenko D.O., Hubenya O.V., Terletsky B.M., Moenner M., Minchenko O.H. Effect of hypoxia, glutamine and glucose deprivation on the expression of cyclin and cyclin-dependent kinase genes in glioma cell line U87 and its subline with suppressed activity of signaling enzyme endoplasmic reticulum-nuclei-1. *Ukr. Biokhim. Zh.* – 2011. – 83, N 1. – P. 18-29.
 22. Minchenko O.H., Kharkova A.P., Bakalets T.V., Kryvdiuk I.V. Endoplasmic reticulum stress, its sensor and signaling systems and the role in the regulation of gene expressions in malignant tumor growth and hypoxia. // *Ukr. Biochim. J.* – 2013. – 85, N 5. – P. 5 – 16.
 23. Minchenko O.H., Kubaichuk K.I., Minchenko D.O., Kovalevska O.V., Kulinich A.O., Lypova N.M. Molecular mechanisms of ERN1-mediated angiogenesis. // *Int. J. Physiol. Pathophysiol.* – 2014. – 5, N 1. – P. 1 – 22.
 24. Moenner M., Pluquet O., Bouche-careilh M., Chevet E. Integrated endoplasmic reticulum stress responses in cancer. // *Cancer Res.* 2007. – 67, N 22. – P. 10631 – 10634.
 25. Park S.W., Zhou Y., Lee J., Lu A., Sun C., Chung J., Ueki K., Ozcan U. The regulatory subunits of PI3K, p85 α and p85 β , interact with XBP-1 and

- increase its nuclear translocation. // *Nature Medicine*. – 2010. – 16, N 4. – P. 429 – 437.
26. Pereira E.R., Liao N., Neale G.A., Hendershot L.M. Transcriptional and post-transcriptional regulation of proangiogenic factors by the unfolded protein response. // *PLoS One*. – 2010. – 5, N 9. – P. e12521.
 27. Pluquet O., Dejeans N., Bouhcecareilh M., Lhomond S., Pineau R., Higa A., Delugin M., Combe C., Lorient S., Cubel G., Dugot-Senant N., Vital A., Loiseau H., Gosline S.J., Taouji S., Hallett M., Sarkaria J.N., Anderson K., Wu W., Rodriguez F.J., Rosenbaum J., Saltel F., Fernandez-Zapico M.E., Chevet E. Posttranscriptional regulation of PER1 underlies the oncogenic function of IRE α . // *Cancer Res*. – 2013. – 73, N 15. – P. 4732 – 4743.
 28. Romero-Ramirez L., Cao H., Nelson D., Hammond E., Lee A.H., Yoshida H., Mori K., Glimcher L.H., Denko N.C., Giaccia A.J., Le Q.-T., Koong A.C. XBP1 is essential for survival under hypoxic conditions and is required for tumor growth. // *Cancer Res*. – 2004. – 64, N 17. – P. 5943 – 5947.
 29. Ruffini F., Tentori L., Dorio A.S., Arcelli D., D'Amati G., D'Atri S., Graziani G., Lacal P.M. Platelet-derived growth factor C and calpain-3 are modulators of human melanoma cell invasiveness. // *Oncol. Rep*. – 2013. – 30, N 6. – P. 2887 – 2896.
 30. Schröder M. Endoplasmic reticulum stress responses. // *Cell. Mol. Life Sci*. – 2008. – 65, N6. – P. 862 – 894.
 31. Sciaccaluga M., D'Alessandro G., Pagani F., Ferrara G., Lopez N., Warr T., Gorello P., Porzia A., Mainiero F., Santoro A., Esposito V., Cantore G., Castigli E., Limatola C. Functional cross talk between CXCR4 and PDGFR on glioblastoma cells is essential for migration. // *PLoS ONE*. – 2013. – 8, N 9. – P. E73426.
 32. Son D., Na Y.R., Hwang E.S., Seok S.H. Platelet-derived growth factor-C (PDGF-C) induces anti-apoptotic effects on macrophages through Akt and Bad phosphorylation. // *J. Biol. Chem*. – 2014. – 289, N 9. – P. 6225 – 6235.
 33. Sun Y., Zhang W., Chen D., Lv Y., Zheng J., Lilljebjorn H., Ran L., Bao Z., Sonesson C., Sjogren HO, Salford LG, Ji J, French PJ, Fioretos T, Jiang T and Fan X. A glioma classification scheme based on coexpression modules of EGFR and PDGFRA. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2014. – 111, N 9. – P. 3538 – 3543.
 34. Wang S., Kaufman R.J. The impact of the unfolded protein response on human disease. // *J. Cell. Biol*. – 2012. – 197, N 7. – P. 857 – 867.
 35. Wright J.H., Johnson M.M., Shimizu-Albergine M., Bauer R.L., Hayes B.J., Surapisitchat J., Hudkins K.L., Riehle K.J., Johnson S.C., Yeh M.M., Bammler T.K., Beyer R.P., Gilbertson D.G., Alpers C.E., Fausto N., Campbell J.S. Paracrine activation of hepatic stellate cells in platelet-derived growth factor C transgenic mice: evidence for stromal induction of hepatocellular carcinoma. // *Int. J. Cancer*. – 2014. – 134, N 4. – P. 778 – 788.
 36. Zhang K., Kaufman R.J. The unfolded protein response: a stress signaling pathway critical for health and disease. // *Neurology*. – 2006. – 66, N 2 (Suppl 1). – P. S102 – S109.
 37. Zhou Y., Lee J., Reno C.M., Sun C., Park S.W., Chung J., Lee J., Fisher S.J., White M.F., Biddinger S.B., Ozcan U. Regulation of glucose homeostasis through a XBP-1-FoxO1 interaction. // *Nature Medicine*. – 2011. – 17, N 3. – P. 356 – 365.

ВПЛИВ ДЕФІЦИТУ ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН НА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНІВ *PDGFC*, *PDGFRA* ТА *PDGFRB* У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87 ЗАЛЕЖИТЬ ВІД ФУНКЦІЇ СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ ERN1

К.І. Кубайчук, Д. О. Мінченко, О. О. Рябовол, О.В. Галкін, О. Г. Мінченко

*Фактори росту, що контролюють ангіогенез, відіграють важливу роль у рості злоякісних пухлин. Ми вивчали вплив дефіциту глюкози і глутаміну на рівень експресії мРНК *PDGFC* (platelet derived growth factor C) та його рецепторів *PDGFRA* (platelet derived growth factor receptor A) and *PDGFRB* у клітинах гліоми лінії U87. Встановлено, що пригнічення обох ензиматичних активностей сенсорно-сигнального ензиму ERN1 (endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1), основного сигнального компонента стресу ендоплазматичного ретикулуму, підвищує рівень експресії генів, що кодують *PDGFC*, *PDGFRA* та *PDGFRB* у клітинах гліоми лінії U87. За умов дефіциту глутаміну спостерігається збільшення рівня експресії гена *PDGFC* та зменшення – генів *PDGFRA* і *PDGFRB* у контрольних клітинах гліоми, але виключення ERN1 модифікує ефект дефіциту глутаміну на експресію цих генів. Було також показано, що за умов дефіциту глюкози рівень експресії гена *PDGFC* істотно не змінюється у контрольних клітинах гліоми, але у клітинах з виключеним ERN1 дефіцит глюкози зменшує експресію цього гена. Результати цього дослідження чітко продемонстрували, що рівень експресії генів *PDGFC*, *PDGFRA* та *PDGFRB* у клітинах гліоми лінії U87 залежить від блокади опосередкованого ERN1 стресу ендоплазматичного ретикулуму і переважно змінюється за умов дефіциту глутаміну та глюкози в залежності від функції сигнального ензиму ERN1.*

Ключові слова: експресія мРНК, виключення ERN1, *PDGFC*, *PDGFRA*, *PDGFRB*, дефіцит глутаміну, дефіцит глюкози, клітини гліоми лінії U87

Одержано редколегією 12.04.2015 р.

РОЗРОБКА СИСТЕМИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ВІРУСУ НЕКРОТИЧНОГО ПОЖОВТІННЯ ЖИЛОК БУРЯКУ ТА ЙОГО МОНІТОРИНГ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

К. В. ГРИНЧУК¹, І. О. АНТІПОВ¹, М. В. ЄРМОЛАЄВ²

¹ Національний університет біоресурсів і природокористування України,

² Державна установа «Центральна фітосанітарна лабораторія»

e-mail: blackgrampus@ukr.net

Здійснено ІФА скринінг вірусу некротичного пожовтіння жилок буряку (ВНПЖБ) в агроценозах України, а саме в Західній та Центральній частині України та показано наявність ВНПЖБ в зразках коренеплодів цукрового буряку, відібраних в Чемеровецькому районі Хмельницької області. Проведено біоінформативний аналіз нуклеотидних послідовностей ізолятів ВНПЖБ, депонованих в генетичний банк даних. Встановлено консервативні послідовності гену, що кодує білок оболонки та розроблено дизайн праймерів специфічних до нуклеотидних послідовностей геному ВНПЖБ. Синтезовано специфічні олігонуклеотидні праймери, проведено лабораторне випробування та здійснено оптимізацію проведення полімеразної ланцюгової реакції за основними показниками. Оптимальна температура гібридизації праймерів становила 54 °С – 62 °С, а найвищий вихід ампліконів був зареєстрований за концентрації іонів магнію 2,5 мМ.

Ключові слова: діагностика, ПЛР, вірус некротичного пожовтіння жилок буряку.

Вступ. Перші повідомлення про появу ризоманії, збудником якої є вірус некротичного пожовтіння жилок буряку, з'явилися в Італії в 1952 році. Через десять років хвороба цілком охопила північну й східну частину Центральної Італії. Вірус має вузьке коло рослин хазяїв, які обмежуються видами родини *Chenopodiaceae*. Потенційні втрати врожаю можуть сягати до 80-90% (Tamada, 1975). ВНПЖБ передається грибом *Polymyxa betae*, який відноситься до родини *Plasmodiophoraceae*, класу *Plasmodiophoromycetes* (R. Koenig et al, 2000).

Сиквенс РНК-2 ВНПЖБ, опублікований S. Bouzoubaa та ін. у 1986 році, був використаний С. Henry для дизайну пари праймерів для проведення зворотньої транскрипції та ПЛР ампліфікації: Forward¹⁸⁰⁰5'-ACT CGG CAT ACT ATT CAC T(T)-3'¹⁷⁸¹, Reverse¹³⁰¹5'-CGA TTG GTA TGA GTG ATT T(A)-3'¹³²⁰, з розміром продукту ампліфікації 500 п.н (Bouzoubaa et al., 1986, M. Henry et al., 1995). Дана пара праймерів використовується дослідниками і на сьогоднішній день (ОЕРР/ЕРРО, 2006, Kilic, Yardimci, 2012, Shahnejat-Bushehri et al., 2006). Morris і Henry розробили дизайн 3-х праймерів для проведення гніздової ЗТ-ПЛР також на основі сиквенсу англійського ізоляту для доповнення внутрішнього сиквенсу ампліфікованого фрагменту розміром 500 п.н. протягом першого раунду ЗТ-ПЛР:

Rhzn17 Reverse¹⁷⁰⁰5'-GACGAAAGAGCAGCCATAGC-3'¹⁶⁸¹, Rhzn16

Reverse¹⁶⁹²5'-AGCAGCCATAGCAACAGCTG-3'¹⁶⁷⁴, Rhzn15 Forward¹³⁷⁵5'-ATAGAGCTGTTAGAGTCACC-3'¹³⁹⁴.

При проведенні ПЛР з парою праймерів Rhzn15 і Rhzn16 утворюється продукт ампліфікації розміром 318 п.н., Rhzn15 і Rhzn17 – 326 п.н. (Morris et al., 2001). Дизайн праймерів з розміром продукту ампліфікації 500 п.н. був здійснений на основі сиквенсу лише одного ізоляту у 1986 році.

Методи, які базуються на ампліфікації нуклеїнових кислот збільшують чутливість аналізу, порівняно з серологічними методами, і створюють передумови для якісної, надійної, швидкої діагностики та ідентифікації ВНПЖБ. Створення універсальної діагностичної тест-системи передбачає аналіз максимальної можливої кількості нуклеотидних послідовностей ізолятів ВНПЖБ, оскільки кожен окремий ізолят має власні генетичні особливості, які при розробці тест-систем слід враховувати.

Метою досліджень було провести моніторинг ВНПЖБ на території України, розробити біотехнологічні прийоми молекулярно-біологічної діагностики та ідентифікації ВНПЖБ методом ПЛР, провести оптимізацію параметрів ампліфікації.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили на коренеплодах цукрового буряку, відібраних в різних кліматичних зонах України.

Імуноферментний аналіз проводили з використанням неконкурентного сандвіч-методу і поліклональних антитіл комерційного набору (Sediag, Франція) згідно рекомендацій виробника. Показники оптичної густини реєстрували за довжини хвилі 405 нм через кожні 30 хв протягом 3 год. (рис. 1.)

Для пошуку нуклеотидних послідовностей гену та проведення біоінформативного аналізу використано базу даних NCBI (National Center for Biotechnological Information). Біоінформативний аналіз геномів проводили, використовуючи програмне забезпечення «MultAlin» (Multiple sequence alignment). Дизайн праймерів розробляли, використовуючи програмне забезпечення «Primer3».

Екстракцію сумарної РНК проводили за стандартною методикою. На останньому етапі сумарну РНК розчиняли в 50 мкл DEPC. Зразки РНК зберігали при -20 °С. Реакцію зворотної транскрипції проводили за допомогою

комерційного набору «Реверта-L-100» згідно рекомендацій (AmpliSens, Росія).

ПЛР проводили за допомогою ампліфікатора «GeneAmp 2400» (Applied Biosystems) у реакційній суміші об'ємом 15 мкл, яка містила 1x ПЛР буфер з 1,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатів (dNTPs) (AmpliSens, Росія), 5 пмоль специфічних олігонуклеотидних праймерів, 10-50 нг кДНК, 0,5 U Taq полімерази (AmpliSens, Росія). ПЛР проводили за наступних умов: початкова денатурація 5 хв – 94 °С; тридцять циклів: денатурація 30 с – 94 °С; гібридизація праймерів 30 с – 60 °С; елонгація 30 с – 72 °С.

Після ампліфікації продукти ПЛР розділяли методом горизонтального електрофорезу в 1,5%-му агарозному гелі, який готували, використовуючи TBE буфер з концентрацією 0,5 мг/мл бромиду етидію. По завершенні електрофорезу гель забарвлювали 1% розчином бромового етидію, візуалізували за допомогою УФ транслюмінатора.

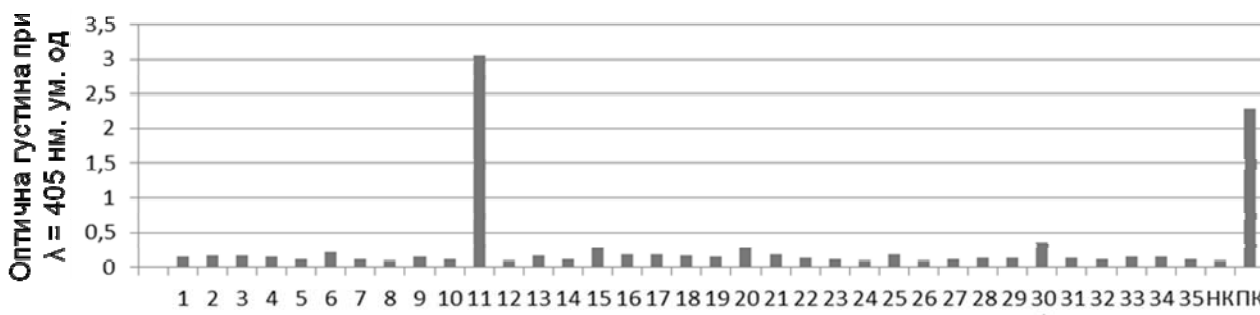


Рис. 1. Діаграма імуноферментного аналізу зразків цукрових буряків відібраних в різних областях України.

Чернівецька (1 – Заставнівський район), Черкаська (2 – Маньківський, 3 – Корсунь–Шевченківський, 4 – Золотоніський, 5 – Уманський райони), Чернігівська (6 – Бобровицький, 7 – Прилуцький, 8 – Ічнянський, 9 – Носівський райони), Хмельницька (10 – Красилівський, 11 – Червоногородський, 12 – Старокостянтинівський, 13 – Старосинявський райони), Тернопільська (14 – Гусятинський, 15 – Заліщицький, 16 – Теребовлянський, 17 – Бучацький, 18 – Чортківський райони), Вінницька (19 – Барський, 20 – Тростянецький, 21 – Томашпільський, 22 – Хмельницький райони), Житомирська (23 – Попільнянський, 24 – Андрушівський, 25 – Бердичівський, 26 – Житомирський райони), Рівненська (27 – Острозький, 28 – Рівненський, 29 – Гощанський, 30 – Радивилівський, 31 – Дубенський райони), Київська (32 – Васильківський, 33 – Згурівський, 34 – Баршівський, 35 – Яготинський райони) PREGIONK – позитивний контроль; НК – негативний контроль.

Fig 1. ELISA sugar beet samples taken from different regions of Ukraine.

Chernivetska oblast (1 – Zastavnivsky region), Cherkaska oblast (2 – Mankivsky region, 3 – Korsun–Shevchenky region, 4 – Zolotonosky region, 5 – Umansky region), Chernihivska oblast (6 – Bobrovitsky region, 7 – Prilutsky region, 8 – Ichnyansky region, 9 – Nosovsky region), Khmelnytska oblast (10 – Krasylivsky region, 11 – Chernohorodsky region, 12 – Starokonstantinovsky region, 13 – Starosyniavsky region), Ternopiliska oblast (14 – Husyatynsky region, 15 – Zalishchyky region, 16 – Terebovlyansky region, 17 – Buchatskiy region, 18 – Chertkovsky region), Vinnitska oblast (19 – Barsky area, 20 – Trostianetsky region, 21 – Tomashpilsky area, 22 – Khmelnitsky region), Zhytomyrska oblast (23 – Popelnyansky region, 24 – Andrushevsky region, 25 – Berdichevsky region, 26 – Zhitomirsky region), Rivnenska oblast (27 – Ostrozky region, 28 – Rivnensky region, 29 – Goshchansky region, 30 – Radivilovsky region, 31 – Dubensky region), Kievska oblast (32 – Vasilkovsky region, 33 – Zgurovsky region, 34 – Baryshivka region, 35 – Yagotytsky region), НК – positive control; ПК – negative control.

Таблиця
Характеристики створених праймерів

Table
Characteristics of designed primers

Положення на матриці	Нуклеотидна послідовність 5'-3'	Довжина, нуклеотидів	Температура гібридизації, °С	GC-склад, %	Розмір продукту, п.н.
Forward	TTCGGACGTCGTGAGTGTТА	20	60,30	50,00	419
Reverse	CCCGAGTCCACATТААТТСС	20	59,24	50,00	

Результати та їх обговорення. Проведено скринінг посівів цукрових буряків в різних регіонах України на предмет ураження ВНПЖБ. Відібрано зразки коренеплодів з різних районів Чернівецької, Черкаської, Чернігівської, Хмельницької, Тернопільської, Вінницької, Житомирської, Рівненської, Київської областей. Методом ІФА встановлено наявність ВНПЖБ в зразках коренеплодів цукрового буряку, відібраних в Чемеровецькому районі Хмельницької області (Рис.1).

Для дизайну праймерів, специфічних до нуклеотидних послідовностей ВНПЖБ, проведено біоінформативний аналіз, який включав скринінг послідовностей генів ВНПЖБ, що кодують білок оболонки. Для біоінформативного аналізу використано 25 повнорозмірних нуклеотидних послідовностей гену, що кодує білок оболонки ВНПЖБ. Нуклеотидні послідовності з генетичного банку обрані таким чином, щоб охопити якомога ширший ареал розповсюдження вірусів у кожному конкретному випадку. Вони представлені послідовностями з наступними номерами у системі даних генетичних послідовностей (GenBank): EU330451.1 Німеччина, AY920465.1 Сербія, D84411.1 Японія, NM117903.1 Франція, AF197556.1 Казахстан, X04197.1, S71490.1 Китай, U25668.1 Китай, AY771348.1 США, AY696114.1 Іспанія, AY696076.1 США, AY696073.1 США, AJ634739.1 Бельгія, AY771347.1 США, AY696089.1 Франція, AV563010.1 Італія, AV018621.1 Японія, EF473096.1 Китай, JF910100.1 Казахстан, AY696084.1 Франція, AV018626.1 Японія, AJ634734.1 Бельгія, AY696091.1 Франція, AY696098.1 Бельгія, EU785962.1 Польща (рис. 2.).

На підставі узагальнених даних щодо відомих нуклеотидних послідовностей вірусних геномів виявлено специфічні консервативні нуклеотидні послідовності, які використано як матриці для олігонуклеотидних праймерів у процесі синтезу віруспецифічних фрагментів нуклеїнових кислот. Використовуючи консенсусну

нуклеотидну послідовність гену, що кодує білок оболонки ВНПЖБ створено праймери з оптимальними параметрами:

Forward: 5'-TTCGGACGTCGTGAGTGTТА-3', Reverse: 5'-CCCGAGTCCACATТААТТСС-3' з утворенням продукту ампліфікації розміром 419 п.н (табл.).

Для екстракції РНК використовували бічні корінці коренеплодів. З сумарної РНК методом зворотної транскрипції отримували кДНК. При проведенні ПЛР аналізу зразків цукрових буряків, у яких попередньо методом ІФА встановлено наявність вірусної інфекції, показано наявність смуг ампліфікації очікуваного розміру 419 п.н.

Далі було проведено оптимізацію параметрів ПЛР за температурними показниками гібридизації праймерів в межах 54 °С - 62 °С. Встановлено що температура в досліджуваному діапазоні не впливала на результати реакції ампліфікації (рис. 3).

Оптимальна концентрація іонів магнію для ефективної роботи ферменту Taq-полімерази при якій не спостерігалася наявність неспецифічних смуг ампліконів і відмічався найвищий вихід продуктів ампліфікації становила 2,5 мМ (рис.4).

Висновки. Проведено агроекологічний моніторинг розповсюдження ВНПЖБ на території України методом ІФА. Створено діагностичну тест-систему для діагностики та ідентифікації ВНПЖБ на основі методу ПЛР. Проведено лабораторне випробовування створеної діагностичної тест-систем та підтверджена ефективність її роботи, що відкриває можливості для широкого впровадження ПЛР діагностикуму у лабораторну практику при проведенні фітосанітарного та карантинного контролю в процесі вирощування цукрових буряків. Оптимізовано умови проведення ПЛР аналізу та встановлено, що температура гібридизації праймерів в межах 54 °С – 62 °С не впливала на вихід продуктів ампліфікації, а найвища концентрація ампліконів була зареєстрована за концентрації іонів магнію 2,5 мМ.


```

:473096.1 .....
'696084.1 .....T.....T.....T.....
J785962.1 .....T.....T.....T.....
'696091.1 .....T.....T.....T.....
'696098.1 .....T.....T.....T.....
ø18626.1 .....A.....T.....T.....
:910100.1 .....
nsensus GCATGCTATGGACTTGCCAAGGCTGGAATCTATCTATAATAAAACCTGTTGGCAGGATTAGGCTCGGGTTGGaCTGACAATAATCCCTTTTGTGCCCGATGACCCGGTTTCCACAGACACTAACT
391 400 410 420 430 440 450 460 470 480 490 500 510 520
|-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----|
J330451.1 .....C.....C.....
'920465.1 .....C.....
D84411.1 .....C.....
1117903.1 .....A.....C.....C.....
X04197.1 .....T.....A.....A.....A.....
:197556.1 .....A.....C.....C.....
I634739.1 .....C.....C.....
I634734.1 .....T.....A.....A.....A.....
S71490.1 .....S71490.1.....A.....C.....C.....
U25668.1 .....U25668.1.....A.....C.....C.....
'771348.1 .....C.....C.....C.....
'696114.1 .....C.....C.....C.....
'696076.1 .....C.....C.....C.....
'696073.1 .....C.....C.....C.....
I563010.1 .....C.....C.....C.....
'771347.1 .....C.....C.....C.....
'696089.1 .....C.....C.....C.....
ø18621.1 .....ø18621.1.....C.....C.....
:473096.1 .....:473096.1.....C.....C.....
'696084.1 .....T.....A.....A.....A.....
J785962.1 .....T.....A.....A.....A.....
'696091.1 .....T.....A.....A.....A.....
'696098.1 .....T.....A.....A.....A.....
ø18626.1 .....T.....G.....A.....A.....
:910100.1 .....:910100.1.....A.....C.....
nsensus ATGTACGGTGCACCTTGTTATATGTTAACTCTGTCTGACCCAGAAATTTGCGTTGATAAGTAACTTTAACTGATTACAGGTTAGCAGATAATGCATCTGCTAAATGTGCGTAGAGATGTGG
521 530 540 550 560 570 580 590 600 610 620 630 640 650
|-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----|
J330451.1 .....
'920465.1 .....
D84411.1 .....
1117903.1 .....
X04197.1 .....T.....T.....C.....T.....C.....A.....C.....
:197556.1 .....
I634739.1 .....
I634734.1 .....T.....T.....C.....T.....C.....A.....C.....
S71490.1 .....C.....C.....
U25668.1 .....C.....C.....
'771348.1 .....
'696114.1 .....
'696076.1 .....

```

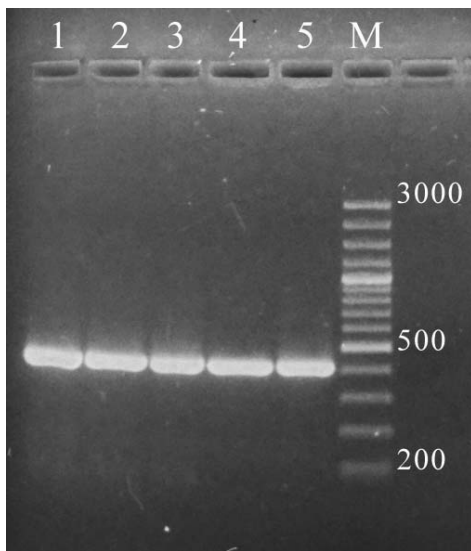



Рис. 3. Електрофореграма ПЛР аналізу ВНПЖБ з різними температурами гібридизації праймерів.

Примітка: 1 – 54 °С, 2 – 56 °С, 3 – 58 °С, 4 – 60 °С, 5 – 62 °С, М – маркер молекулярної ваги (O'GeneRuler™ DNA Ladder, #SM0321).

Fig.3. The electrophoregram of PCR analysis of BNYVV with different temperatures of primers hybridization

Note: 1 – 54 °C, 2 – 56 °C, 3 – 58 °C, 4 – 60 °C, 5 – 62 °C, M (GeneRuler 10 bp DNA Lader 0241) – marker lengths of fragments (base pairs)

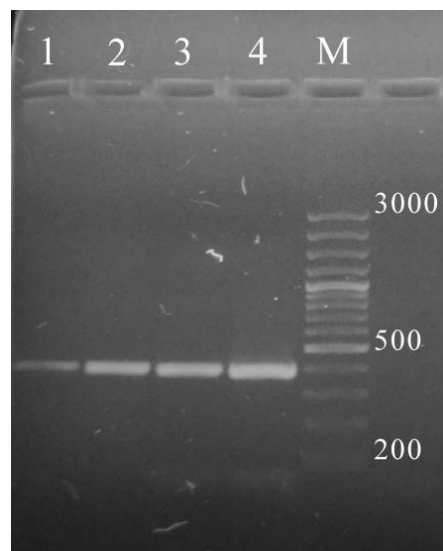


Рис.4. Електрофореграма ПЛР аналізу ВНПЖБ з різними концентраціями іонів магнію в реакційній суміші:

Примітка: 1 – 1,3 мМ, 2 – 1,8 мМ, 3 – 2,0 мМ, 4 – 2,5 мМ, М – маркер молекулярної ваги (O'GeneRuler™ DNA Ladder, #SM0321).

Fig.4. The electrophoregram of PCR analysis of BNYVV with different concentration of Mg²⁺ ions

Note: 1 – 1,3 мМ, 2 – 1,8 мМ, 3 – 2,0 мМ, 4 – 2,5 мМ, M (GeneRuler 10 bp DNA Lader 0241) – marker lengths of fragments (base pairs)

Список літератури:

1. Beet necrotic yellow vein virus (benyvirus). // European and Mediterranean Plant protection organization (OEPP/EPPO). – 2006. – P. 429–440.
2. Detection of beet necrotic yellow vein virus using reverse transcription and polymerase chain reaction / C. M.Henry, I. Barker, J. Morris, S. A. Hugo. // Journal of Virological Methods. – 1995. – №54. – P. 15–18.
3. Development of a highly sensitive nested RT-PCR method for beet necrotic yellow vein virus detection / [J. Morris, G. G. Clover, V. A. Hatju et al.]. // Journal of Virological Methods. – 2001. – №95. – P. 163–169.
4. Kilic H. C. Nested RT-PCR and immunocapture RT-PCR for detection of beet necrotic yellow vein virus on sugar beet in lake district of Turkey / H. C. Kilic, N. Yardimci. // Romanian agricultural research. – 2012. – №29. –P. 333–337.
5. Koenig R. Beet necrotic yellow vein virus. CMI / R. Koenig, T. Tamada AAB Descriptions of Plant viruses, 2000. – №144.
6. Nucleotide Sequence of Beet Necrotic Yellow Vein Virus RNA-2 / [S. Bouzoubaa, V. Ziegler, D. Beck et al.]. // J. gen. Virol. – 1986. – №67. – P. 1689–1700.
7. Shahnejat-Bushehri A. Detection of beet necrotic yellow vein virus with reverse transcription-Polymerase chain reaction / A. Shahnejat-Bushehri, J. Adel, M. Dehkordi. // Int. J. Agri. Biol.. – 2006. – №8. – P. 280–285.
8. Tamada T. Beet necrotic yellow vein virus. CMI/AAB Descriptions of Plant viruses, 1975. – №144.

THE DEVELOPMENT OF PCR SYSTEM FOR IDENTIFICATION OF BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS AND MONITORING IN UKRAINE

K. Grinchuk, I. Antipov, M. Ermolaev

The ELISA screening of beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in agrocenoses of Ukraine (Western and Central Ukraine) was performed and the presence of BNYVV was shown in samples of roots of sugar beet plants selected in Chemerovetsky region of Khmelnytskyi oblast. The bioinformative analysis of nucleotide sequences of isolates of BNYVV deposited in genetic databank was made. The conserved gene sequence encoding coat protein was established and specific primers for nucleotide sequences of the genome of the BNYVV were developed. The specific oligonucleotide primers were synthesized. The laboratory testing of synthesized primers and the optimization of polymerase chain reaction were made. The optimum temperature of primers hybridization was 54 °C - 62 °C and the highest production of amplicons was registered by the concentration of Mg²⁺ was 2,5 mM.

Keywords: diagnostics, PCR, beet necrotic yellow vein virus.

Одержано редколлегією 13.02.2015

РІВЕНЬ РЕДОКС-ЧУТЛИВИХ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ EGR-1, SP-1 ТА HIF-1 ЗА ЕТАНОЛ-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ ШЛУНКУ

С. БЕРЕГОВИЙ, Т. ЧЕРВІНСЬКА, Г. ТОЛСТАНОВА

*Навчально-науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка,
e-mail: s_beregoviy@ukr.net*

Зміни оксидативного статусу клітин слизової оболонки шлунку є основними чинниками розвитку ерозивно-виразкових ураження в ньому. Egr-1, Sp-1 та Hif-1α – це гіпоксія-чутливі транскрипційні фактори, котрі реагують на гіпоксичні зміни в клітині та приймають участь в патогенезі виразкової хвороби шлунка. Роль гіпоксія чутливих транскрипційних факторів за етанол-індукованих уражень шлунка вивчені недостатньо, тому метою даної роботи була перевірка участі Egr-1, Sp-1 та Hif-1α в патогенезі етанол індукованих уражень шлунка. Дослідження були проведені на білих щурах-самцях вагою 180-220г. Для моделювання етанол-індукованих уражень шлунку, дослідним групам щурів інтрагастрально вводили 1 мл 96% етанолу. Контрольним групам щурів вводили 1 мл фізіологічного розчину. В слизовій оболонці шлунка щурів визначали експресію протеїнів за допомогою Вестерн-блот аналізу. Дія етанолу тривалістю 20 хв викликала масивні крововиливи та ерозії. Збільшення тривалості дії етанолу до 1 год призводило до погіршення клінічної картини. Нами було встановлено зменшення вмісту гіпоксія-чутливого транскрипційного фактору Hif-1α через 1 год дії етанолу, що було пов'язано з патологічними змінами в слизовій оболонці шлунка щурів. Вміст транскрипційного фактору Egr-1 залишався не змінним на протязі всього експерименту. Так як Sp-1 конкурує за сайти зв'язування з Egr-1, ми перевірили гіпотезу, що Sp-1 – основний транскрипційний фактор за даної патології. Встановлено, що через 20 хв та 1 год дії етанолу вміст Sp-1 зростає. Отримані результати експресії гіпоксія-чутливих транскрипційних факторів в слизовій оболонці шлунка щурів у відповідь на дію етанолу потребують подальшого дослідження. Зроблено висновок, що за умов розвитку етанол-індукованої виразки шлунку відбуваються різнонаправлені зміни в рівні редокс-чутливих транскрипційних факторів, зокрема Egr-1, Sp-1 та Hif-1. Sp-1 – відіграє ключову роль в патогенезі даної патології.

Ключові слова: виразка шлунка, етанол, гіпоксія, Egr-1, Sp-1, Hif-1α.

Вступ. Зміни оксидативного статусу клітин слизової оболонки шлунку є основними чинниками розвитку ерозивно-виразкових ураження в ньому. Про-оксиданти здатні впливати на транскрипційний апарат клітини, змінюючи активність редокс-чутливих транскрипційних факторів.

Egr-1, Sp-1 та Hif-1α – це гіпоксія-чутливі транскрипційні фактори, котрі реагують на гіпоксичні зміни в клітині. Вони самі, або опосередковано регулюють транскрипцію генів, асоційованих з патогенезом виразкової хвороби шлунку (фактори росту, регулятори клітинного циклу, тощо) (Khomenko et al., 2006; Szabo et al., 2007) Egr-1 є ключовим транскрипційним фактором за різноманітних патологій (Rosen et al. 2005; Thiel and Cibelli, 2002). В попередніх дослідженнях (Береговий та ін. 2014) нами встановлено, що експресія Egr-1 підвищувалась на фоні гіпоксії в слизовій оболонці шлунка щурів, котрі були піддані дії водно-іммобілізаційного стресу різної тривалості. Метою даної роботи було дослідження участі редокс-чутливих транскрипційних факторів Egr-1, Sp-1

та Hif-1 в механізмах розвитку етанол-індукованих уражень шлунку щурів.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження були проведені на білих щурах-самцях масою 180-220 г які були рандомізовано поділені по 3 щури/група. До початку досліду тварин утримували на голоді 24 години з вільним доступом до води. Впродовж усього експерименту тварини не зазнавали жорстокого поводження і негуманного умертвіння. Дослідження відповідають основним вимогам щодо утримання та роботи з лабораторними тваринами згідно правил Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.), та згідно етичних норм у відповідності до українського законодавства.

Для моделювання етанол-індукованих уражень шлунку, дослідним групам щурів інтрагастрально вводили 1 мл 96% етанолу. Контрольним групам щурів вводили 1 мл фізіологічного розчину. Щурів умертвляли через 20 хв та 1 год. після введення етанолу чи

контрольної субстанції (фізіологічний розчин) шляхом цервікальної дислокації та видаляли шлунок. Шлунок розрізали по малій кривизні, вивертали слизовою назовні, ретельно промивали фізіологічним розчином, реєстрували макроскопічні ураження слизової оболонки шлунку, фотографували та швидко зіскрябували слизову оболонку і занурювали її в рідкий азот для подальших молекулярно-біологічних досліджень.

Для визначення рівня протеїнів методом вестренблот аналізу, видалену слизову оболонку шлунку гомогенізували в лізуючому буфері (0,1% SDS, 1% Triton X100, 2 мкМ PMSF), з додаванням коктейлю інгібіторів протеїназ (16,65 мл/л) та фосфатаз (1 мкМ ортованадат натрія) (Sigma, США). Концентрацію загального протеїну вимірювали за методом Бредфорд з використанням набору «Bio-Rad для білкового аналізу» (Bio-Rad, США). Електрофоретичне розділення протеїнів (50, 75 чи 100 мкг заг. протеїну/зразок) проводили в 12%, 10% чи 8% SDS поліакриламідному гелі, після чого проводили електроперенесення на нітроцелюлозну мембрану згідно стандартного протоколу фірми Bio-Rad. Антитіла до Egr-1 (sc-110, 1:300), Sp-1 (sc-59, 1:500), Hif-1 α (NB100-105, 1:200) β -актин (1:1000) (Santa-Crus Biotech., США) використовували для визначення рівня відповідних протеїнів у слизовій оболонці

шлунка, з наступною інкубацією із вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрому і розведеними у співвідношенні 1:20000 (анти-кролине антитіло), 1:10000 (анти-мишине антитіло). Візуалізацію результатів Вестерн блот проводили ECL-реагентом.

Оптико-денситометричний аналіз проводили за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення «Phoretix 1D».

Результати не менше трьох різних експериментів піддавали статистичній обробці за t тестом Стьюдента. Дані представлені у вигляді $M \pm SD$, статистично значущою вважали різницю $p < 0,05$.

Результати та обговорення. Після введення етанолу в слизовій оболонці шлунка щурів ми спостерігали масивні крововиливи, ерозії та виразки. Дані патологічні процеси можуть призводити до гіпоксії в тканинах, тому ми перевірили рівень протеїну Hif-1 α . Нами встановлено, що дія етанолу тривалістю 20 хв не призводила до статистично значущих змін вмісту протеїну Hif-1 α . Але 1 год дії етанолу на слизову оболонку щурів призводила до зменшення вмісту протеїну Hif-1 α в 1.6 разів ($p < 0.05$) (рис. 1). Ці результати можуть свідчити про те, що за умов дії етанолу відбуваються патологічні процеси без залучення Hif-1 α . Дані результати потребують подальшого детального дослідження.

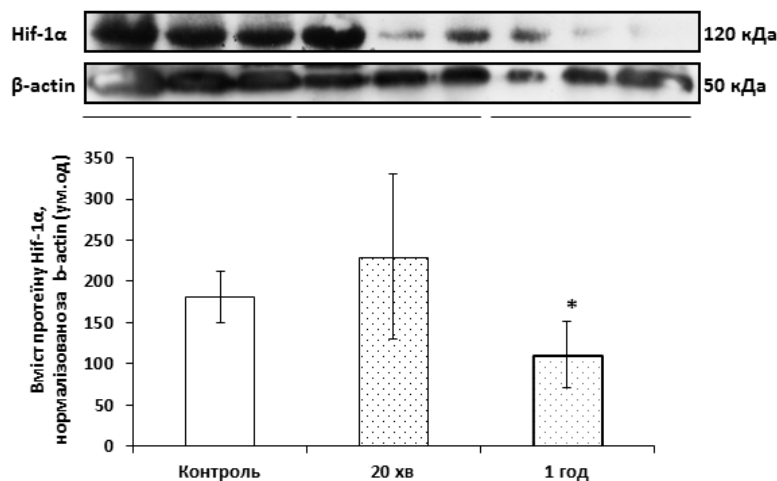


Рис. 1. Вміст протеїну Hif-1 α в слизовій оболонці шлунка щурів за умов етанол-індукованої виразки.

Примітка: результати Вестерн блот аналізу нормалізовані за рівнем β -актину, $M \pm SD$, * - $p < 0,05$ відносно показників в контролі.

Fig. 1. Hif-1 protein content in rat gastric mucosa after exposure to ethanol.

Note: Western blot assay results are normalized to β -actin levels, $M \pm SD$, * - $p < 0,05$ in comparison to control values.

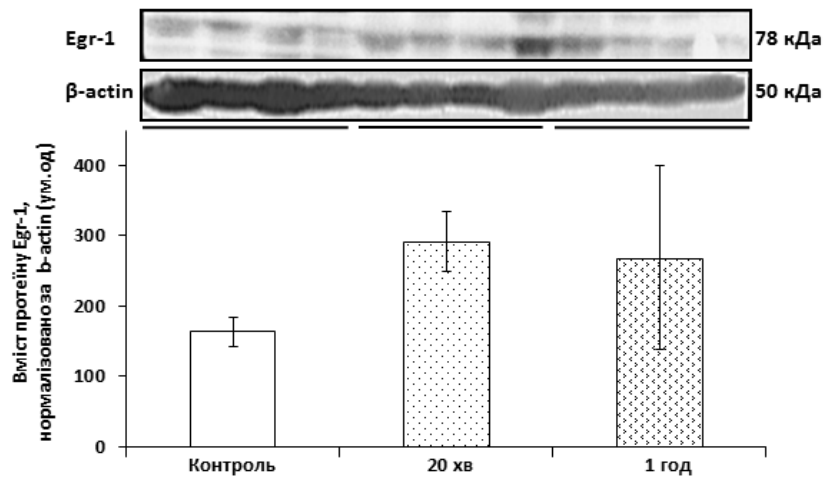


Рис. 2. Вміст протеїну Egr-1 в слизовій оболонці шлунка щурів за умов етанол-індукованої виразки.
Примітка: результати Вестерн блот аналізу нормалізовані за рівнем β-актину, $M \pm SD$, * - $p < 0,05$ відносно показників в контролі.

Fig. 2. Egr-1 protein content in rat gastric mucosa after exposure to ethanol.
Note: Western blot assay results are normalized to β-actin levels, $M \pm SD$, * - $p < 0,05$ in comparison to control values.

За даними літератури (McMullen et.al., 2005) показано, що EGR-1 сприяє підвищенню експресії TNF-альфа, викликаних ліпополісахаридами, після хронічного вживання етанолу щурами та що відсутність EGR-1 запобігає хронічній етанол-індукованій жировій дистрофії печінки. У дослідженнях Szabo та співавт. (Szabo et. al., 2007) показано збільшення експресії протеїну та мРНК Egr-1 за умов цистеамін-викликаній виразки дванадцятипалої кишки. Зниження експресії Egr-1 викликало загострення симптомів хвороби. Група проф. Тарнавського (Tarnawski et.al., 2007) показала, що гіпоксичні зміни в слизовій оболонці шлунка

літніх щурів супроводжувались підвищенням експресії Egr-1 мРНК та протеїну і збільшенням його регуляторної активності. Більш того, літні щури були більш вразливими до розвитку експериментальних виразок шлунка. Нами не виявлено змін вмісту Egr-1 за дії етанолу тривалістю 20 хв та 1 год (рис. 2). Регуляторна активність Egr-1 знаходиться в тісному взаємозв'язку з транскрипційним фактором - Sp1, сайти зв'язування яких частково перекриваються в спільній зоні промотора, що в деяких випадках може призводити до конкуренції за сайт зв'язування (Silverman et. al., 1999; Minc et.al., 1999).

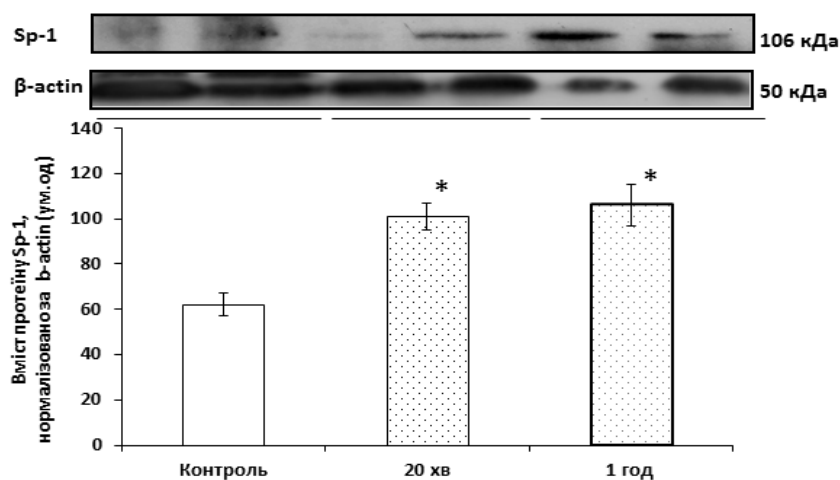


Рис. 3. Вміст протеїну Sp-1 в слизовій оболонці шлунка щурів за умов етанол-індукованої виразки
Примітка: результати Вестерн блот аналізу нормалізовані за рівнем β-актину, $M \pm SD$, * - $p < 0,05$ відносно показників в контролі.

Fig. 3. Sp-1 protein content in rat gastric mucosa after exposure to ethanol.
Note: Western blot assay results are normalized to β-actin levels, $M \pm SD$, * - $p < 0,05$ in comparison to control values.

Тому на фоні відсутньої експресії Egr-1 ми припустили, що за етанол-індукованих уражень шлунка щурів ключовим транскрипційним фактором може бути Sp-1. Нами встановлено зростання транскрипційної активності Sp-1 в 1.6 разів ($p < 0,05$) через 20 хв дії етанолу на слизову оболонку щурів. Через 1 годину дії етанолу на слизову оболонку щурів вміст транскрипційного фактору Sp-1 досягав свого максимуму та був вище в 1,7 разів ($p < 0,05$) від контрольних показників (рис. 3). Це свідчить про залучення Sp-1 в патологічні процеси за умов етанол-індукованих виразок шлунка щурів.

Це може свідчити про те, що молекулярні механізми в слизовій оболонці шлунка щурів у відповідь на дію етанолу є інакшими порівняно з дією стресу, про що свідчить залучення Sp-1 а не Egr-1 та зниження експресії Hif-1 α . Отримані результати експресії гіпоксія-чутливих транскрипційних факторів в слизовій оболонці шлунка щурів у відповідь на дію етанолу потребують подальшого дослідження.

Висновки. Нами вперше встановлено, що за умов розвитку етанол-індукованої виразки шлунку відбуваються різнонаправлені зміни в рівні редокс-чутливих транскрипційних факторів Egr -1, Sp -1 та Hif -1. Показано, що Sp-1 – відіграє ключову роль в патогенезі даної патології.

Список літератури:

1. Береговий С. Механізм розвитку стрес індукованих уражень шлунка: роль гіпоксії та транскрипційного фактору EGR-1 / С. Береговий, О.

Єфименко, Я. Олефір, Г. Толстанова // The Ukrainian Biochemical Journal. – 2014. – Vol. 86, № 5. – С. 42.

2. Suppression of early growth response factor-1 with egr-1 antisense oligodeoxynucleotide a ggravates experimental duodenalul cers / T. Khomenko, S. Szabo, X. Deng [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. – 2006. - Vol. 290, №. 6. – P. 1211–1218.

3. Early growth response-1 transcription factor is essential for ethanol-induced fatty liver injury in mice / M. R. McMullen, M. T. Pritchard, Q. Wang [et al.] // Gastroenterology. – 2005. – Vol. 128, № 7. – P. 2066–2076.

4. The human copper-zinc superoxide dismutase gene (SOD1) proximal promoter is regulated by Sp1, Egr-1, and WT1 via non-canonical binding sites / E. Minc, P. de Coppet, P. Masson [et al.] // J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274, №1. – P. 503-509.

5. Rosen J. B. Expression of egr-1 (zif268) mRNA in insect fear-related brain regions following exposure to a predator / J. B. Rosen, R. E. Adamec, B. L. Thompson // Behav. Brain Res. – 2005. – Vol. 162, №. 2. – P. 279–288.

6. Silverman E. S. Pathways of Egr-1-mediated gene transcription in vascular biology / E. S. Silverman, T. Collins // Am. J. Pathol. – 1999. – Vol. 154, № 3. – P. 665-670.

7. New molecular mechanism of duodenalul ceration / S. Szabo, X. Deng, T. Khomenko [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2007. – Vol. 1113. – P. 238-255.

8. Aging gastropathy-novel mechanisms: hypoxia, up-regulation of multifunctional phosphatase PTEN, and proapoptotic factors / A. Tarnawski, R. Pai, X. Deng [et al.] // Gastroenterology. – 2007. – Vol. 133, № 6. – P. 1938-1947.

9. Thieland G. Regulation of life and death by the zinc finger transcription factor Egr-1 / G. Thieland G. Cibelli // J. Cell. Physiol. – 2002. – Vol. 193, №. 3. – P. 287–292.

THE LEVEL OF REDOX-RESPONSIVE TRANSCRIPTION FACTOR EGR-1, SP-1 AND HIF-1 UNDER CONDITIONS OF ETHANOL-INDUCED GASTRIC LESIONS

Beregovyi S., Chervinska T., Tolstanova G.

Changes in redox status of gastric mucosa cells are the main pathogenic factor of gastric erosion and gastric ulcer development. Egr-1, Sp-1 and Hif-1 α – are the hypoxia-sensitive transcription factors that respond to hypoxic changes in cells and are involved in the pathogenesis of gastric ulcer. The role of hypoxia-sensitive transcription factors during ethanol-induced gastric lesions studied not enough, so the aim of this study was to test the involvement Egr-1, Sp-1 and Hif-1 α in the pathogenesis of ethanol-induced gastric lesions. The investigations were conducted on white male rats with weight of 180-220 g. For modeling of ethanol-induced gastric lesions, experimental groups of rats were injected intragastrically 1 ml of 96% ethanol. Control groups of rats were administered 1 ml of saline. In the gastric mucosa of rats was determined protein expression by Western blot analysis. 20 minutes of ethanol exposure caused the massive hemorrhages and erosions. Increased exposure time was associated with worsened clinical picture. We have established decrease in the content of hypoxia-sensitive transcription factor Hif- α after 1 hour ethanol exposure, that was associated with pathological changes in gastric mucosa of rats. The content of transcription factor Egr-1 remained unchanged during the entire experiment. Since Sp-1 competes for binding sites with Egr-1, we tested the hypothesis that Sp-1 - main transcription factor for this pathology. We found that 20 minutes and 1 hour of ethanol exposure induced increasing of Sp-1 content. The results of expression of hypoxia-sensitive transcription factors in rats gastric mucosa in response to ethanol requires further studying. We concluded that under the conditions of ethanol-induced gastric ulcers there are multidirectional changes in the level of redox-sensitive transcription factors, including Egr -1, Sp -1 and Hif -1. Sp-1 - plays a key role in the pathogenesis of this disease.

Key words: gastric ulcer, ethanol, hypoxia, Egr-1, Sp-1, Hif-1 α .

Одержано редколегією 11.05.2015

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ ВНУТРИБРЮШИННОГО ВВЕДЕНИЯ ПОВЫШЕННОЙ ДОЗЫ МЕТАНОЛА

Н. И. МОЛЧАНЮК

*Государственное учреждение «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины», Лаборатория патолого анатомических и электронно-микроскопических исследований, г. Одесса
e-mail: elmicroscop@gmail.com*

У крыс линии Вистар электронно-микроскопически исследовались гепатоциты (ГП) печени в динамике, через 25 и 40 минут, 1, 3, 7 и 14 суток, после однократного внутрибрюшинного введения метанола из расчета 2,5 г/кг массы тела животного. Показано, что через 25 - 40 минут в ГП отмечается очаговая дезорганизация ультраструктур в цитоплазме клеток. Через 1 сутки выявляется патология митохондрий, проявляющаяся признаками деструкции крист или их полного отсутствия, отмечается рыхлость митохондриальных мембран и определяется уменьшение количества гранул гликогена. Через 3 суток в части ГП отмечается различной степени дезорганизация и деструкция ультраструктур, наблюдаются признаки внутриядерного и цитоплазматического отека с деструкцией цитоплазматических органелл. В митохондриях отмечается внутримитохондриальный отек с разрушением крист и образование вакуолей. В цитоплазме выражено сужение канальцев ЗЭС с дегрануляцией мембран, практически полное отсутствие гранул гликогена. Плазмолемма клеток рыхлая и фрагментированная. К 7 суткам в части ГП выражен полиморфизм альтернативных изменений в цитоплазме: от внутрицитоплазматических очагов или тотального отека цитоплазмы, гомогенизации митохондрий и деструкции элементов зернистой эндоплазматической сети до клеток с сохранной ультраструктурой и клеток с признаками компенсаторно-восстановительных процессов. Вокруг органелл диффузно лежат плотные мелкие единичные или сливающиеся в группы осмиофильные гранулы гликогена. На 14 сутки отмечаются ГП как с нормальной ультраструктурой, так и с признаками деструктивных изменений. Метанол, в первую очередь, вызывает изменения ультраструктуры митохондрий, что свидетельствует о ранних нарушениях энергетических процессов в клетках печени, а также изменения количества и структурных особенностей гранул гликогена, указывающих на влияние этого токсического вещества на углеводный обмен в печени. Представленные в статье данные являются начальным этапом исследования влияния метанола на ткани глаза. Возможно, более расширенное и углубленное изучение влияния этого токсического фактора на живой организм даст возможность представить структурные механизмы действия метанола на различные органы и системы человека.

Ключевые слова: гепатоциты, метанол, ультраструктура.

Введение. В последние годы участились случаи отравления населения, как в Украине, так и других странах метиловым спиртом (метанолом). Метанол – прозрачная бесцветная жидкость, по вкусу и запаху напоминает этиловый спирт. В настоящее время он широко используется в качестве промышленного органического растворителя. Кроме того, разрабатывается применения его в качестве альтернативного топлива и источника энергии (Kavet, Nauss, 1990). Доступность и широкое его использование увеличивает вероятность случайного или хронического воздействия на организм. В связи с этим возникает важность изучения механизмов его токсичности для человека, а также для других живых существ. Известно также, что употребление метанола человеком в однократной дозе от 10 до 100 мг приводит к летальному исходу. Описано, что первично метанол поражает зрительный нерв,

сетчатку и ткани головного мозга (Битенский, 2007; Пауков, Ерохин, 2004; Серов, 2004). В литературных источниках найдены единичные работы, посвященные изучению морфологических изменений и биохимических показателей в сетчатке и зрительном нерве экспериментальных животных, вызванных действием метанола (Baumbach et. al., 1977; Murray, et. al., 1991; Rajamani, et. al., 2006.). Нами проводятся экспериментальные исследования действия метанола на ультраструктуру тканей глаза и ряда внутренних органов. В настоящее время опубликованы результаты изучения влияния метанола на ультраструктуру сетчатки и зрительного нерва белых крыс, в которых показано его выраженное токсическое влияние на хориоретинальный комплекс, нервные элементы сетчатки и зрительного нерва (Думброва и Молчанюк, 2009; Думброва и Молчанюк, 2010).

Как известно, основная антиоксидантная функция в организме осуществляется клетками печени. В литературе представлены данные о том, что сам по себе метанол обладает умеренной токсичностью, однако в результате его окисления в печени образуются промежуточные продукты полураспада: формальдегид и муравьиная кислота, обладающие высокой токсичностью. Нами в комплексном исследовании действия метанола на живой организм была также предпринята попытка изучить влияние метанола в различных дозировках на печень крыс линии Вистар. О влиянии этанола на человека имеется обширная литература (Пауков и Ерохин, 2004; Серов, 2004; Шульпина и др., 1987; Шорманов и др., 2006). В то же время экспериментальные работы представлены в единичном числе. Так, в эксперименте на крысах и на секционном материале изучено влияние этанола на содержание гликогена в печени и скелетной мышце. В печени крыс наблюдается достоверное снижение содержания гликогена через 24ч после введения этанола. Содержание гликогена в печени достоверно снижается как при остром отравлении этанолом, так и при наступлении смерти от сердечной патологии в состоянии алкогольного опьянения (Акимов и др., 2010). О токсическом влиянии многих веществ на структурные элементы печени имеется обширная литература. Например, найдены морфологические работы, свидетельствующие о повреждении гепатоцитов после применения некоторых фармакологических средств. Так, малые дозы фтора (0,5 мг фторионов на 1 кг массы тела в течении 1мес), у крыс вызывают деструктивные изменения в гепатоцитах (ГП). Особым видом патологии является миграция митохондрий в ядра ГП с последующим образованием мегааутофагосом и их лизисом, что делает необходимым проводить мероприятия, направленные на инактивацию фтора (Гайдаш и др., 2011). Кроме этого, другими авторами изучены у белых крыс особенности морфологических изменений ткани печени и уровень биохимических маркеров окислительного стресса при эндотоксиновой интоксикации в эксперименте. Полученные авторами результаты показывают, что эндотоксин является фактором, приводящим к ухудшению функциональных свойств печени (Бабанин и др., 2009).

Цель настоящей работы – изучить в динамике действие метанола на ГП печени белых крыс при однократном внутрибрюшинном введении в дозе 2,5 г/кг массы тела животного.

Материалы и методы. Работа выполнена на 18 взрослых белых крысах линии Вистар массой 250 - 300 г, подразделенных на 2 группы: I-я –

опытная, в которой крысам внутрибрюшинно, однократно вводили метанол из расчета 2,5 г/кг. Доза метанола при ЛД₅₀ составляет 9,5 г/кг. II-я группа- контрольные животные, которым вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Изучался материал через 25 и 40 минут, 1, 3, 7 и 14 суток после однократного введения метанола. Исследовалась ультраструктура ГП крыс. Эвтаназия животных осуществлялась в соответствии с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Затем производились электронно-микроскопические исследования материала. Подробная методика обработки образцов для электронно-микроскопического исследования описана в статье (Думброва и Молчанюк, 2009). Обзорные полутонкие препараты окрашивались 1 % раствором метиленового синего. Ультратонкие срезы контрастировались растворами уранилацетата и цитрата свинца. Просматривались и фотографировались объекты в электронном микроскопе ПЭМ-100-01.

Результаты исследования и их обсуждение.

При ультраструктурном исследовании ГП через 25-40 минут после однократного введения метанола в дозе 2.5 г/кг массы тела, в отличие от контрольной группы, отмечается очаговая дезорганизация ультраструктур в цитоплазме клеток (Рис. 1). При этом структура ядер ГП также претерпевает изменения: в несколько просветленной кариоплазме располагается хроматин в диффузном состоянии и 1 или 2 крупных ядрышка. В околоядерной области наблюдаются крупные типичные скопления элементов ЗЭС и митохондрий. В то же время, в цитоплазме ГП увеличено количество мелких лизосом, отмечается также значительное уменьшение гранул гликогена, местами наблюдаются вакуолизованные митохондрии. Через 1 сутки в цитоплазме ГП выражен полиморфизм изменений митохондрий: от органелл с нормальной ультраструктурой до таковых с признаками деструкции крист или их полного отсутствия, т. е. с образованием вакуолей. Следует отметить также рыхлость и нечеткость мембран митохондрий. Митохондрии окружены единичными или собранными в стопки цистернами ЗЭС с обилием рибосом на их мембранах. Здесь же видны скопления полисом и мелких лизосом. Гранулы гликогена в форме розеток, располагающиеся в околоядерной области, нечеткие, их количество значительно уменьшено.

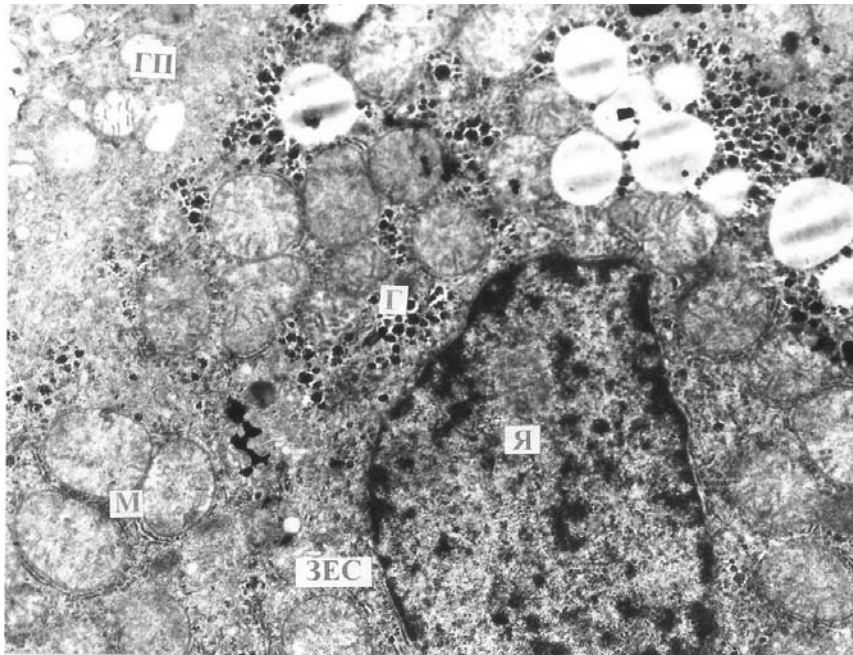


Рис. 1. Ультраструктура гепатоцита крысы через 40 минут после введения метанола в дозе 2,5 г/кг массы тела. Альтерация органелл в перинуклеарной цитоплазме ГП, набухание и вакуолизация митохондрий. Очаговое скопление розеток из гранул гликогена. Электронная микрофотография. X 5000.

Fig.1. Rat hepatocyte ultrastructure after 40 minutes after administration of methanol at 2.5 g/kg body weight. Alteration of organelles in the cytoplasm perinuclear GP, swelling and vacuolization of mitochondria. Focal accumulations of glycogen granules outlets. An electron micrograph. X 5000.

Условные обозначения (здесь на всех рисунках): ГП – гепатоцит, Я – ядро, ЗЭС – зернистая эндоплазматическая сеть, М – митохондрии, Г – гранулы гликогена.

Legend: ГП – hepatocyte, Я – nucleus, ЗЭС – rough endoplasmic reticulum, М – mitochondria, Г – glycogen granules.

Через 3 суток в части ГП отмечается различной степени дезорганизация и деструкция ультраструктур, наблюдаются признаки внутриядерного и цитоплазматического отека с деструкцией цитоплазматических органелл.

В митохондриях отмечается внутримитохондриальный отек с разрушением крист и образование вакуолей. В цитоплазме выражено сужение канальцев ЗЭС с дегрануляцией мембран, практически полное отсутствие гранул гликогена. Плазмолемма клеток рыхлая и фрагментированная.

Через 7 суток после введения метанола наблюдается грубая деструкция внутриклеточных структур у части ГП (Рис.2). В другой части ГП, в крупных клетках, сохраняется ядро с несколько просветленной или, наоборот, с уплотненной кариоплазмой, содержащей 2-3 ядрышка. В этих клетках выражен полиморфизм альтеративных изменений в цитоплазме: от внутрицитоплазматических очагов или тотального отека цитоплазмы, гомогенизации митохондрий и деструкции элементов ЗЭС. Вокруг органелл диффузно лежат плотные мелкие единичные или сливающиеся в группы осмиофильные гранулы

гликогена. Через 14 суток отмечается частичное восстановление ультраструктуры ГП. В цитоплазме большей части клеток наблюдаются крупные ядра с хроматином в диспергированном состоянии и 1-2 ядрышками, располагающимися в кариоплазме преимущественно у кариолеммы. В ядерной мембране хорошо выражены ядерные поры. По всей цитоплазме располагаются митохондрии, которые отличаются неоднородностью изменений. При этом преобладают органеллы с нормальной структурой. Встречаются также мелкие юные митохондрии. Здесь же и, особенно, в околядерной области, отмечаются скопления гранул гликогена в форме розеток, а также элементы ЗЭС, между которыми лежат скопления полисом (Рис.3). В меньшем количестве встречаются также ГП с признаками деструктивных изменений, которые были описаны в предыдущем сроке. Проведенные исследования показали, что после однократного введения метанола в динамике (от 25 минут до 14 суток) в использованной дозе развивается ряд альтернативных изменений в ГП, затрагивающие не только ультраструктуры цитоплазмы клеток, но и ядра, и плазматические мембраны.

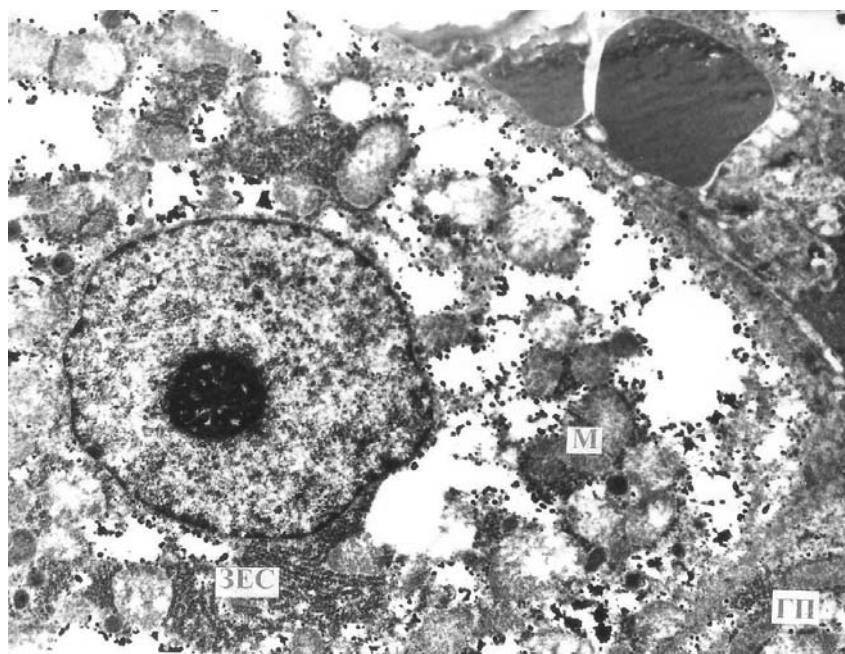


Рис. 2. Ультраструктура гепатоцита крысы через 7 суток после введения метанола в дозе 2,5 г/кг массы тела. Выраженная деструкция цитоплазматических ультраструктур. Ядро с крупным ядрышком. Электронная микрофотография. X 4000.

Fig. 2. Rat hepatocyte ultrastructure after 7 days after injection of methanol at 2.5 g/kg body weight. Severe destruction of cytoplasmic ultrastructures. The nucleus with a large nucleolus. An electron micrograph. X 4000.

Здесь также более выражено проявляются признаки внутриклеточных восстановительных

процессов. Однако часть ГП остается близкой к интактной.

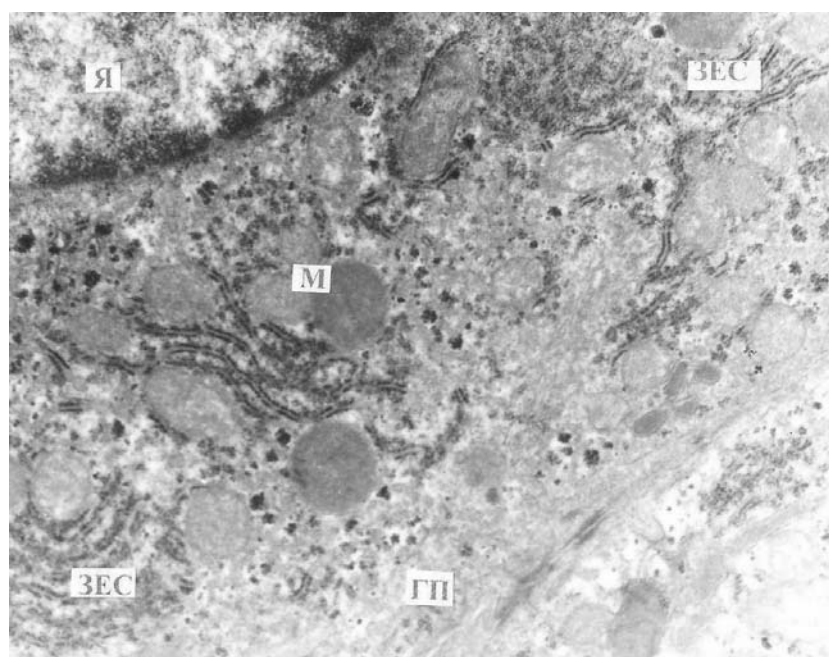


Рис. 3. Ультраструктура гепатоцита крысы через 14 суток после введения метанола в дозе 2,5 г/кг массы тела. Элементы внутриклеточных компенсаторно-восстановительных процессов: в перинуклеарной цитоплазме увеличение содержания элементов зернистой эндоплазматической сети и митохондрий; большое количество расширенных пор в ядерной мембране. Электронная микрофотография. X 12 000.

Fig. 3. Rat hepatocyte ultrastructure of safter 14 days after the injection of methanol in a dose 2.5 g/kg body weight. Elements of intracellular compensatory emediation processes in the perinuclear cytoplasm in crea se of elements granular endoplasmic reticulum and mitoc hondria; large number of open pores in the nuclear membrane. An electron micrograph. X 12000.

Следует особо отметить, что при использованной дозе метанола проявляется его выраженное влияние на митохондрии и гранулы гликогена в ГП.

Таким образом, метанол в первую очередь вызывает изменения ультраструктуры митохондрий, что свидетельствует о ранних нарушениях энергетических процессов в клетках печени. Параллельно с этим процессом, наблюдающиеся изменения количества и структурных особенностей гранул гликогена, указывают на влияние этого токсического вещества на углеводный обмен в печени.

Представленные в статье данные являются начальным этапом исследования влияния метанола на ткани глаза. Возможно, более расширенное и углубленное изучение влияния этого токсического фактора на живой организм даст возможность представить структурные механизмы действия метанола на различные органы и системы человека.

Список литературы:

1. Акимов П.А., Орбиданс А.Г., Терехин Г.А., Терехина Н.А. Влияние острой алкогольной интоксикации на содержание гликогена в печени и скелетных мышцах // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2010. - № 2. - С. 15-17.
2. Бабанин А.А., Захарова Н.А., Семенова Т.В., Нестеров Е.Н., Калиберденко В.К. Морфологическая оценка свободнорадикальных процессов при эндотоксиновом поражении печени // Морфология. - 2009. - 3. - № 2. - С. 5-11.
3. Битенский В. С. Роль алкоголизма и наркоманий в демографическом кризисе в Украине // Журнал АМН Украины. - 2007. - 13. - № 3. - С. 543 - 550.
4. Гайдаш А.А., Бабенко О.А., Баширов Р.С. Ультраструктура печени при действии малых доз фтора // Бюллетень сибирской медицины. - 2011. - № 3. - С. 168-170.
5. Думброва Н.Е., Молчанюк Н. И. Ультраструктурные изменения элементов хориоретинального комплекса глаз крыс после действия метилового спирта // Офтальм. журн. - 2009. - № 5. - С. 54 - 57.
6. Думброва Н.Е., Молчанюк Н.И. Ультраструктурные изменения элементов зрительного нерва крыс в динамике после действия метанола // Офтальм. журн. - 2010. - № 2. - С. 64 - 66.
7. Думброва Н. Е., Молчанюк Н.И. Ультраструктурные изменения нервных структур ганглиозного слоя сетчатки крыс в динамике после действия метанола // Офтальм. журн. - 2010. - № 3. - С. 43 - 45.
8. Пауков В.С., Ерохин Ю.А. Патологическая анатомия пьянства и алкоголизма // Архив патологии. - 2004. - № 4. - С. 3 - 9.
9. Серов В. В. Существует ли алкогольный хронический гепатит? // Архив патологии. - 2004. - № 4. - С. 9 - 136.

10. Шульпина Н. Б., Рожнов В.Е., Галиаскарова Ф.Р. Алкогольная интоксикация и орган зрения // Вестник офтальмологии. - 1987. - № 1. - С. 62 - 65.

11. Шорманов С.В. Структурные изменения головного мозга больных хроническим алкоголизмом // Архив патологии. - 2006. - № 1. - С. 19 - 22.

12. Baumbach GL, Cancilla PA, Martin-Amat G, Tephly TR at all. Methyl alcohol poisoning. IV. Alterations of the morphological findings of the retina and optic nerve // Arch. Ophthalmol. - 1977. - № 10. - P. 1859 - 1865.

13. Kavet R, Nauss K. The toxicity of inhaled methanol vapors // Crit. Rev. Toxicol. 1990. - 21. - № 1. - С. 21-50.

14. Murray TG, Burton TC, Rajani C, Lewandowski MF, Burke JM, Eells JT. Methanol poisoning. A rodent model with structural and functional evidence for retinal involvement // Arch Ophthalmol. - 1991. - 109. № 7. - P. 1012-1016.

15. Rajamani R., Muthuvel A., Senthilvelan M, Sheeladevi R. Oxidative stress induced by methotrexate alone and in the presence of methanol in discrete regions of the rodent brain, retina and optic nerve. // Toxicol. Lett. - 2006. - 12. - № 5. - P. 12 - 15.

References:

1. Akimov PA, Orbidans AG, GA Terekhin, Terekhina NA Influence of acute alcohol intoxication on the glycogen content in the liver and skeletal muscle // Pathological Physiology and Experimental Therapy. - 2010. - № 2. - С. 15-17.
2. Babanin AA, Zakharova NA, Semenova TV, Nesterov EN, Kaliberdenko VK Morphological assessment of free radical processes during endotoxin-induced liver injury // Morphology. - 2009. - 3. - № 2. - P. 5-11.
3. Bitensky VS The role of alcohol and drug abuse in the demographic crisis in Ukraine // Journal of Medical Sciences of Ukraine. - 2007. - 13. - № 3. - S. 543 - 550.
4. Gaydash AA, Babenko OA, Bashirov RS The ultrastructure of the liver under the influence of small doses of fluoride // Bulletin anthrax medicine. - 2011. - № 3. - S. 168-170.
5. Dumbrova NE, Molchanyuk N.I. Ultrastructural change elements chorioretinal complex eyes of rats after exposure to methyl alcohol // Ophthalmia. Zh. - 2009. - № 5. - S. 54 - 57.
6. Dumbrova NE, NI Molchanyuk The ultrastructural changes in elements of the optic nerve of rats after exposure to methanol dynamics // Ophthalm. Zh. - 2010. - № 2. - S. 64 - 66.
7. Dumbrova NE, NI Molchanyuk Ultrastructural changes of neural structures ganglionic layer of the retina of rats after exposure to methanol dynamics // Ophthalm. Zh. - 2010. - № 3. - S. 43 - 45.
8. Spider VS Erokhin YA Pathological anatomy of drunkenness and alcoholism // Archives of Pathology. - 2004. - № 4. - P. 3 - 9.
9. Serov VV Is there an alcoholic chronic hepatitis? // Archives of Pathology. - 2004. - № 4. - С. 9 - 136.
10. Shulpina N B, Rožnov VE, Galiaskarova FR, Alcohol intoxication and eye sight // Bulletin of ophthalmology. - 1987. - № 1. - S. 62 - 65.
11. Shormanov SV Structural changes in the brain of patients with chronic alcoholism // Archives of Pathology. - 2006. - № 1. - S. 19 - 22.

12. Baumbach GL, Cancilla PA, Martin-Amat G, Tephly TR at all. Methyl alcohol poisoning. IV. Alterations of the morphological findings of the retina and optic nerve //Arch. Ophthalmol. – 1977. - № 10. – P.1859 – 1865.
13. Kavet R, Nauss K. The toxicity of inhaled methanol vapors //Crit. Rev. Toxicol. 1990. – 21. - №1. – С.21-50.
14. Murray TG, Burton TC, Rajani C, Lewandowski MF, Burke JM, Eells JT. Methanol poisoning. A rodent model

with structural and functional evidence for retinal involvement.// Arch Ophthalmol. – 1991. – 109. № 7. – P. 1012-1016.

15. Rajamani R., Muthuvel A., Senthilvelan M, Sheeladevi R. Oxidative stress induced by methotrexate alone and in the presence of methanol in discrete regions of the rodent brain, retina and optic nerve. //Toxicol. Lett. - 2006. – 12. – № 5. – P. 12 -15.

ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОЧЕРЕВНОГО ВВЕДЕННЯ ПІДВИЩЕНОЇ ДОЗИ МЕТАНОЛУ

Н. І. Молчанюк

У щурів лінії Вістар електронно-мікроскопічно досліджувались гепатоцити (ГП) в динаміці, через 25 і 40 хвилин, 1, 3, 7 і 14 діб, після одноразового внутрішньочеревного введення метанолу з розрахунку 2,5 г/кг маси тіла тварини. Показано, що через 25 - 40 хвилин в ГП відзначається вогнищева дезорганізація ультраструктур в цитоплазмі клітин. Через 1 добу виявляється патологія мітохондрій, що проявляється ознаками деструкції крист або їх повної відсутності, відзначається рихлість мітохондріальних мембран, а також наблюдалась зменшення кількості гранул глікогену. Через 3 доби в частині ГП відзначається різного ступеня дезорганізація і деструкція ультраструктур, спостерігаються ознаки внутрішньоядерного і цитоплазматичного набряку з деструкцією цитоплазматичних органел. В мітохондріях відмічається внутрішньомітохондріальний набряк з руйнуванням крист і утворенням вакуолей. У цитоплазмі виражено звуження каналців зернистої ендоплазматичної сітки (ЗЕС) з дегрануляцією мембран, практично повна відсутність гранул глікогену. Плазмолема клітин рихла і фрагментована. До 7 доби в частині ГП виражений поліморфізм альтеративних змін в цитоплазмі: від внутрішньоцитоплазматичних вогнищ або тотального набряку цитоплазми, гомогенізації мітохондрій і деструкції елементів ЗЕС. до клітин із збереженою ультраструктурою і клітин з ознаками компенсаційно-відновних процесів. Навколо органел дифузно лежать цільні дрібні поодинокі або зливаються в групи осміофільні гранули глікогену. На 14 добу відзначаються ГП як з нормальною ультраструктурою, так і з ознаками деструктивних змін. Метанол, в першу чергу, викликає зміни ультраструктури мітохондрій, що свідчить про ранні порушення енергетичних процесів в клітинах печінки, а також зміни кількості та структурних особливостей гранул глікогену, що вказують на вплив цієї токсичної речовини на вуглеводний обмін в печінці. Представлені в статті дані є початковим етапом дослідження впливу метанолу різні тканини організму щурів. Можливо більш розширене і поглиблене вивчення впливу цієї токсичного чинника на живий організм експериментальних тварин дасть можливість представити структурні механізми дії метанолу на різні органи і системи людини.

Ключові слова: гепатоцити, метанол, ультраструктура.

ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF RAT HEPATOCYTES IN THE DYNAMICS AFTER INTRAPERITONEAL INJECTION OF HIGH DOSE OF METHANOL

N. I. Molchanyuk

Wistar rats were studied electron-microscopically hepatocytes (SE) of the liver in the dynamics, after 25 and 40 minutes, 1, 3, 7 and 14 days after a single intraperitoneal injection of methanol of 2.5 g / kg body weight of the animal. It is shown that in 25 - 40 minutes in the GP notes focal disorganization of ultrastructures in the cell cytoplasm. After 1 day revealed the pathology of mitochondria cristae show signs of degradation or complete absence, there is looseness mitochondrial membrane and is determined by reducing the amount of glycogen granules. After 3 days in the SE part of the notes of varying degrees of disruption and destruction of the ultrastructure, there are signs of intranuclear and cytoplasmic swelling with destruction of cytoplasmic organelles. Themarked swelling of mitochondria intermitochondrialnchristie and the destruction of the formation of vacuoles. In the cytoplasm, ZES pronounced narrowing of tubular membranes with degranulation, the almost complete absence of glycogen granules. Plasmolemma cells loose and fragmented. By 7 days in terms of GP pronounced polymorphism alterative changes in the cytoplasm from intracytoplasmic edema lesions or total cytoplasmic homogenization mitochondria and destruction of elements of granular endoplasmic reticulum to the cell intact and ultrastructure of cells with signs of compensatory and regenerative processes. Around the organelles are diffusely dense single or merging small groupsosmiophil glycogen granules. On the 14th day marked as a GP with normal ultrastructure, and with signs of destructive changes. Methanol, in the first place causes changes in the ultrastructure of the mitochondria, indicating that early Abuse energy processes in the liver cells, as well as changes in the number and structural characteristics of glycogen granules, indicating that the toxic effect of a substance on carbohydrate metabolism in the liver. Data presented in the article are the initial stage of investigation of the influence of methanol on the tissues of rat. Perhaps a more advanced and in-depth study of the impact of this toxic factor on the living organism experimental animalswill allow to introduce the structural mechanisms of action of methanol on various human organs and systems.

Key words: hepatocytes, methanol, ultrastructure.

Одержано редколегією 18.06.2015

МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ОЗНАКИ КСЕРОМОРФНОСТІ *TRITICUM AESTIVUM* L.

Т. З. МОСКАЛЕЦЬ¹, В. К. РИБАЛЬЧЕНКО²

¹ Білоцерківський національний аграрний університет,

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
e-mail: shunyascience@ukr.net

В статті наведені результати багаторічних досліджень з визначення морфо-фізіологічних та молекулярно-генетичних ознак ксероморфності сортів та ліній *Triticum aestivum* L. Дослідження посухостійкості рослин на ювенільному етапі розвитку за проростанням зернівок на розчинах сахарози різного осмотичного тиску та проявом морфологічних ознак в польових умовах, а також генами посухостійкості DREB 1 дозволило виявити високий рівень поліморфізму вихідних зразків пшениці м'якої озимої. Такі генотипи як: Дворянка, Смоглянка, Зоряна Носівська, Л 41-95, Л 34-95, КС 21 мають високу посухостійкість і є перспективними для вирощування в зоні Центрального Лісостепу України періодично нестійкого зволоження, що характеризується частими посушливими осінніми та весняно-літніми періодами.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., ксероморфність, гени посухостійкості DREB 1, морфо-фізіологічні ознаки.

Вступ. Одним із первинних способів вирішення продовольчої і екологічної проблем щодо підвищення продуктивності та стійкості культурних видів рослин до несприятливих абіотичних й біотичних чинників є застосування морфо-фізіологічних і молекулярно-генетичних методів, які розкривають сутність генотипів перед їх широкомасштабною апробацією. Дослідження процесу толерантності рослин є одним із фундаментальних завдань в екології, фізіології рослин, селекції і генетики. Різне погіршення стану навколишнього природного середовища в результаті антропогенного впливу, глобального потепління і аридизації клімату висуває проблему адаптації та стійкості культурних рослин як одну з центральних фундаментальної та практичної екології (Johnson et al., 2010; Morgan, 2011). Посухостійкість – складна інтегрована ознака, що контролюється не за окремими властивостями рослини, а цілісною системою організму і проявляється в його здатності витримувати значне зневоднення та перегрівання, зберігаючи за цих умов нормальний ріст, розвиток та відтворення. Вона визначається, в основному, спадковими властивостями рослин, що виникли в процесі філогенезу, проте може формуватися і в процесі онтогенезу під впливом умов навколишнього природного середовища (Tardieu, 2003). Проблема одержання посухостійких сортів пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.) актуальна як для України, так і всього світу. Сорт пшениці, що дає стабільний врожай за

несприятливих та вкрай несприятливих умов, є більш цінним, ніж сорт, що має високий врожай тільки у сприятливих за погодними умовами роки. Вимоги до стабільності формування урожаю набули особливої актуальності у зв'язку з тим, що сучасний клімат України характеризується потеплінням, яке супроводжується зменшенням кількості опадів (Чугаєв та ін., 2003). За таких умов змін клімату багато культурних видів рослин не встигатимуть адаптуватися, через що виявлення високо пластичних генотипів з широкими адаптивними можливостями *Triticum aestivum* L. є актуальним.

В підвищенні адаптивного потенціалу пшениці важливе значення має дослідження культурного виду на доклітинному (молекулярному, генетичному), клітинному, ауто-, дем- та синекологічному рівнях, два з яких дозволяють визначити межі екологічної толерантності в стресових умовах, зокрема, за дефіциту ґрунтової та атмосферної вологи, високих температур та інших чинників. Протистояти екстремальним умовам рослин дозволяє висока їх екологічна пластичність, наявність протекторних властивостей фізіолого-біохімічного та морфологічного характеру. Зневоднення та перегрівання призводять до порушень субмікроскопічної структури протоплазми: змінюються її колоїдно-хімічні властивості, ступінь дисперсності та обміну речовин – відбувається глибокий гідроліз білків, полісахаридів, порушується фосфорилування цукрів, а отже, і енергетичний обмін. В результаті припиняється ріст, знижується

продуктивність, іноді рослина гине (Morran, 2011; Tardieu, 2003). Здатність живих організмів пристосовуватись до дії несприятливих чинників залежить від швидкості адаптивних реакцій в процесі метаболізму, які визначають функціональну активність клітин і тканин. Дослідженнями Н.М. Сісакяна (Сісакян, 2010) виявлено, що втрата навіть 20 % води листям молодих проростків *Triticum aestivum* L. викликає зміщення ферментативної дії в бік гідролізу. Захисно-пристосувальні механізми, що забезпечують рослині можливість протистояти зневодненню або переносити водний дефіцит і високі температури, можуть діяти на різних рівнях їх організації: молекулярному, клітинному, організменому, популяційному. Механізми стійкості до водного дефіциту зазвичай ділять на: механізми уникнення стресу, тобто забезпечення нормальної оводненості рослинних тканин, і механізми толерантності, тобто прояв тих пристосувань, які дозволяють переносити стрес (наприклад, гальмування процесів росту рослини, активація інтенсивності дихання, осмотична регуляція цукрів, амінокислот, зокрема, вільного проліну, скручування листя тощо) (Johnson et. al., 2010).

Деякими вченими (Johnson et al., 2010; Morran, 2011; Варавкіна, Таран, 2014; Mondini et. al., 2015; Thudi et. al., 2014) індикаційними ознаками ксероморфності прийнято вважати нагромадження низькомолекулярних гідрофільних білків і моносахаридів, які забезпечують водоутримуючу здатність цитоплазми клітин, ранній енергійний ріст коренів, їх довжину, збереження зеленого забарвлення листя (Johnson et. al., 2010; Дроздов и др., 1988). Наявність остюків, скручування прапорцевого листка, яке спостерігається, коли листя рослин вже закінчило ріст також може вказувати на водний статус рослини і, відповідно, на глибину проникнення кореневої системи (Москалець та ін., 2014), як і ксероморфна структура клітин: підвищена в'язкість та еластичність цитоплазми, високий осмотичний тиск клітинного соку; інтенсивна транспірація, кількість та розміри продихів, а також кутикулярний восковий наліт, який обумовлює відбивання променів світла в інфрачервоному діапазоні спектра (Morran, 2011; Дроздов и др., 1988). Генотипічними маркерами посухо- і солетолерантності є: вміст водорозчинних цукрів у проростках *Triticum aestivum* L., довжина колеоптиля, що детермінується алелями *GA* генів *Rht*, наявність генів *Dreb 1*, *Dreb 2* (Morran, 2011; Nakashima et. al., 2000).

Пошук способів можливого підвищення адаптивного потенціалу посухостійкості рослин є важливим у доборі популяцій за генетичними, морфо-фізіологічними, біологічними ознаками щодо дії стресу з обов'язковим врахуванням продуктивності у просторі і часі, через що метою досліджень було вивчити генотипи *Triticum aestivum* L. за комплексом морфо-фізіологічних, біологічних і молекулярно-генетичних ознак посухостійкості в умовах лісостепового екоотопу.

Матеріали і методи досліджень. Об'єктами досліджень були районовані сорти *Triticum aestivum* L.: Смуглянка, Погулянка та сорти і лінії власної селекції: Зоряна Носівська, Ювівата 60, Даушка, Л 41-95, Л 59, Л 34-95, КС 1, КС 5, КС 7, КС 14, КС 16, КС 17, КС 21, гексаплоїдного рівня різновиду *Eritrospermum*. Дослідження проводили впродовж 2007–2015 рр. в лабораторних та польових умовах стаціонарного досліду ННДЦ Білоцерківського НАУ, розміщеного в зоні Центрального Лісостепу України періодично нестійкого зволоження. Кліматичні та погодні умови регіону характеризуються помірною континентальністю і за основними елементами погоди відповідають підзоні нестійкого зволоження. У дослідженнях застосовували загальноприйнятю для даного регіону технологію вирощування *Triticum aestivum* L. Сівбу проводили в оптимальні для зони строки – 15-25 вересня. Спосіб сівби – рядковий, норма висіву – 5,0 млн схожих насінин/га.

Роки проведення досліджень різнилися за гідротермічним режимом (2007, 2011-2013, 2015 рр. відмічались дефіцитами опадів та підвищенням температур вище середньобогаторічної норми впродовж кушення-виходу в трубку, порівняно з сприятливими достатньо вологими весняними періодами 2008-2010, 2014 рр.), що дозволило всебічно оцінити адаптивність досліджуваних сортів і ліній озимої пшениці до кліматичних умов лісостепового екоотопу (Москалець та ін., 2014).

Стійкість рослин до дефіциту вологи визначали за здатністю насіння проростати в осмотичних розчинах сахарози в діапазоні від 14 до 24 атм (Дроздов и др., 1988). Диференціацію генотипів в межах однієї групи під час аналізу схожості насіння на розчинах осмотика вивчали за депресією росту рослин (довжиною та кількістю зародкових коренів і пагонів проростків) у порівнянні з контролем. Насіння пророщували у чашках Петрі в трьохкратній повторності за температури 20° С впродовж 7 діб за відсутності світла. За здатністю проростати на розчинах сахарози усі зразки поділялись на «високостійкі» (I група) – схожість > 81–100 %;

«стійкі» (II група) – схожість 61–80 %; «середньостійкі» (III група) – схожість 41–60 %; «нестійкі» (IV група) схожість 21–40 %; «дуже нестійкі» (V група) схожість < 21 %. Молекулярно-генетичні дослідження посухостійкості проводили в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України за допомогою уніплексних і мультиплексних полімеразних ланцюгових реакцій (ПЛР), з використанням специфічних праймерів, зокрема, гену *Dreb 1*, праймерів: P21F, P21R, P25F, PR25, P18F, P18R (Nakashima et al., 2000). Статистичну обробку даних проводили за Доспеховою (Доспехова, 1985).

Результати та їх обговорення. Екологічну стійкість генотипів *Triticum aestivum* L. до

різного термічного режиму проводили на всіх етапах росту і розвитку рослин, з використанням критеріїв оцінки посухостійкості за біологічними особливостями культурного виду, а також характером прояву генотипів на дію несприятливого чинника, оскільки механізми стійкості детерміновані не тільки генетично, але і екологічно. Різні генотипи пшениці неоднаково реагують на посуху. Вивчення морфологічних параметрів рослин пшениці дало можливість виявити певні ознаки ксероморфності (табл. 1), а подальше вирощування цих форм дозволило співставити їх з іншими критеріями та виявити кореляційні зв'язки.

Таблиця 1.
Оцінка ксероморфності генотипів *Triticum aestivum* L. за морфологічними показниками ($M \pm m$)

Table 1.
The assessment of genotype xeromorphity of *Triticum aestivum* L. based on morphological parameters ($M \pm m$)

Назва генотипу	Ознаки посухостійкості				
	восковий наліт листя	сизе забарвлення	блискуче глянцеве забарвлення листя	еректоїдність листя верхнього ярусу, величина кута, град.	довжина зародкових корінців, мм
Подолянка	–	–	+	50±2,6	41±2,1
Смуглянка	–	–	–	55±3,8	44±2,7
Носшпа 100	+	+	–	60±2,0	43±3,2
Зоряна Носівська	–	–	+	50±4,2	62±4,4
Ювівата 60	–	–	–	60±1,6	45±2,8
КС 1	–	–	–	80±1,3	49±5,1
КС 5	–	–	+	80±2,0	59±3,8
КС 14	+	+	–	70±2,5	45±4,5
КС 16	–	–	–	60±3,0	39±3,7
КС 17	–	–	+	65±2,1	38±3,2
КС 21	–	–	–	70±4,9	33±4,9
Л 41-95	+	+	–	60±3,6	43±2,4
Л 59	–	–	–	75±4,2	59±3,6
Л 34-95	–	–	–	75±3,3	38±2,8
Даушка	–	–	–	70±4,1	47±3,0

Особливість розподілу опадів в центральному Лісостепу України характеризується тим, що в осінній період дефіцит вологи в ґрунті нерідко не дозволяє одержати повноцінні сходи, тому вивчення посухостійкості у фазу проростання зернівки має не тільки теоретичне, але й практичне значення. Проростання і ріст насіння в осмотичних розчинах сахарози імітує нестачу вологи і дає можливість виявити загальний рівень фізіолого-біохімічних процесів в пророслому насінні в умовах стресу, що й визначає стійкість дорослих рослин. Дослідження посухостійкості *Triticum aestivum* L. на ювенільному етапі розвитку за проростанням зернівок на розчинах сахарози з різним осмотичним тиском дозволили виявити високий рівень поліморфізму вихідних зразків.

Встановлено, що в розчині з осмотичним тиском 14 атм проростало в середньому 84 %, 16 атм – 75 %, 18 атм – 52 %, 20 атм – 26 %, 22 атм – 12 %, 24 атм – 5 % насіння. Високу посухостійкість у цій фазі за осмотичного тиску розчинів сахарози 14-18 атм) мають: Зоряна Носівська, Ювівата 60, Л 41, КС 14, КС 16, Л 59, КС 21, КС 5, КС 7, Л 34-95. Найнижчу здатність проростати на розчинах сахарози мають Даушка, КС 1, КС 17, всі інші формували групу «середньостійких» (табл. 2). Не менш важливою для можливих безопадних критичних періодів Центрального Лісостепу є здатність зернівок довго зберігатись у пророслому стані в умовах сухого ґрунту.

Низький вміст вологи в ґрунті восени забезпечує нерідко тільки проростання зернівок.

Таблиця 2.

Оцінка сортів та ліній *Triticum aestivum* L. за схожістю, залежно від концентрації осмолітику, % пророслого насіння ($M \pm m$)

Table 2.

Evaluation of varieties and lines of *Triticum aestivum* L. based on germination, depending on the osmolite concentration, % of sprouted seeds ($M \pm m$)

п/п	Назва генотипу	Розчин сахарози, атм					
		14	16	18	20	22	24
1	Подольянка	92±3,4	88±2,6	44±3,0	16±2,2	14±2,0	8±1,0
2	Смуглянка	82±2,8	78±2,2	52±2,2	22±2,8	16±2,8	12±1,8
3	Носшпа 100	80±4,4	76±2,4	38±2,8	30±2,4	8±1,4	-
4	Зоряна Носівська	94±3,0	84±2,8	64±2,6	42±2,6	16±2,2	8±1,0
5	Ювівата 60	77±2,6	67±2,2	44±2,2	24±2,8	8±2,8	-
6	КС 1	70±2,4	64±2,8	56±2,8	26±2,2	18±1,8	-
7	КС 5	90±2,8	64±3,2	50±2,0	30±2,4	8±2,8	6±1,0
8	КС 14	82±2,0	60±2,8	52±1,8	22±2,6	16±1,4	2±1,0
9	КС 16	84±2,4	58±2,6	32±2,8	18±2,2	4±1,0	-
10	КС 17	74±2,8	76±2,0	52±2,2	40±2,6	10±2,4	12±1,2
11	КС 21	89±2,6	86±2,8	44±2,4	18±3,4	16±1,2	4±1,0
12	Л 41-95	92±3,4	88±3,4	60±2,0	22±2,8	16±1,6	10±2,2
13	Л 59	84±3,0	80±2,8	78±2,8	32±3,2	2±1,4	-
14	Л 34-95	89±2,8	84±2,8	58±2,4	16±1,8	16±2,8	8±1,0
15	Даушка	77±3,0	66±4,4	56±2,6	40±2,8	10±1,4	4±1,0

В наших модельних дослідах прокльонуті зернівки через 2-3 доби досягали рівня вихідної їх вологості і навіть після 9-12 денного періоду зберігання в сухому стані мали схожість на рівні 76-55%. Центральний Лісостеп України зони періодично нестійкого зволоження характеризується частими посушливими осінніми та весняно-літніми періодами. В умовах обезводнення ґрунту велике значення відіграють зародкові корені, розвиток яких визначає закладання та ріст вузлових корінців, а також і рослини в цілому.

В сухі роки продуктивність *Triticum aestivum* L. має сильну позитивну кореляцію ($r=0,82 \pm 0,06$) з кількістю зародкових коренів, у вологі роки цей зв'язок дещо слабший ($r=0,64 \pm 0,11$). Тому як ксеноморфну ознаку рослин можна використовувати кількість зародкових корінців, оскільки здатність рослин формувати потужну кореневу систему відіграє важливу роль у забезпеченні рослин вологою та поживними речовинами. Максимальну кількість зародкових коренів формують: Подольянка, Даушка, Смуглянка, КС 1, КС 16, довжина яких – 4,9 – 5,2 см.

Враховуючи те, що посухостійкі форми, як правило, є низьковрожайними, в результаті поєднання цих двох протирічних властивостей в рослині дозволяє виділити цінні генотипи *Triticum aestivum* L. для селекційного процесу. Це, зокрема, Зоряна Носівська, константні лінії: Л 41-95, Л 34-95, КС 21 – характеризуються задовільним наливам зерна в посушливі роки, що є важливою ознакою продуктивності та посухостійкості. Зерно зазначених генотипів є добре виповненим і вирівняним з червонуватим

відтінком зерна, борозенчастим округлої форми. Ювівата 60, КС 1, КС 7 формують довгі колеоптилі (6,5-7,8 см) з тенденцією утворення великих за розміром первинних листочків і швидкого темпу проростання, що сприяє прискореному розвитку надземної та підземної частин рослин.

В результаті проведених нами досліджень встановлено, що морфологічними та фізіологічними ознаками ксероморфності сортів та ліній *Triticum aestivum* L., що сформувалися філогенетично та в процесі індивідуального росту і розвитку рослин є: розмір зернівок і довжина колеоптиля (коефіцієнти кореляції $r=0,69-0,74$), площа листя на початку вегетації і вага біомаси до фази цвітіння, інтенсивність і тривалість процесу фотосинтезу (забезпечує краший налив зерна під час дефіциту вологи ґрунту і повітряної посухи в період після цвітіння). Розмір та кількість продихів на одиницю площі теж є провідними в регулюванні водного статусу рослин пшениці (коефіцієнт кореляції останніх з показником високої та середньої посухостійкості є більшим $r=0,73$), нагромадження абсцизової кислоти (коефіцієнт кореляції якого з урожайністю культури становить $r=0,8 \pm 0,62$). Інтегрованими індикаторами посухостійкості виступають і анатомічні ознаки листя, такі як: восковий наліт, опушеність, скручування, сизе забарвлення – ознаки зниження фотоінгібуванн. Висока життєздатність під час куціння і тривале зелене забарвлення надземної частин рослин, наявність остюків, еректоїдність листя верхнього ярусу, червоне забарвлення зерна підтверджують потенціал ксероморфності *Triticum aestivum* L.

Так, дослідження проростання зернівок на розчинах сахарози з різним осмотичним тиском дозволили виявити високий рівень сортового поліморфізму. За одержаними результатами генотипи ранжували за загальним балом стійкості на групи. Підвищення осмотичного тиску в діапазоні 16–24 атм. викликало падіння активності проростання у групи високостійких генотипів (КС 5, КС 17, КС 21, Л 41-95, Зоряна Носівська, Л 59-95) усього на 5 %, в групі стійких (КС 1, КС 7, Поліська 90 х К 6477/91, КС 14) – 16 %, середньостійких (Л 4696/96, Ювівата 60) – до 30 % і в групі чутливих (Даушка, КС 16) – понад 48 %. Варто відмітити, що рослини лісостепового еко типу з групи високостійких проростають більшою кількістю зародкових корінців і утворюють добре розвинутий колеоптиль, формують вузлову кореневу систему раніше, ніж генотипи полісько-лісостепоного та поліського еко типів. Молекулярно-генетичні дослідження генотипів *Triticum aestivum* L., проведених за допомогою уніплексних і мультиплексних полімеразних ланцюгових реакцій, дозволили ідентифікувати їх за генами посухостійкості, ключову роль в активації яких, як і синтезі стресових білків, під впливом стрес-

чинників (зокрема, посухи), відіграють продукти генів *Dreb 1s* (*dehydration responsive element binding factors 1*). В дослідженні використовувалися геном-специфічні праймери генів *Triticum aestivum* L., локалізованих на третій хромосомі. Результати ампліфикацій з наборами праймерів наведені на рисунках 1-5.

В результаті наших досліджень встановлено, що в усіх зразках наявні гени посухостійкості *Dreb*, локалізовані в хромосомі 3В, про що свідчить наявність амплікону 717 п.н. Для пар праймерів P25F/P25R (3А) та P22F/P25R (3D) (рис. 2, 5) встановлені очікувані амплікони, розміром 596 п.н. для всіх сортів і ліній *Triticum aestivum* L., що свідчить про відсутність поліморфізму ДНК, який проявляють ці праймери. Проте для КС 1, КС 17, Даушки (див. рис. 1, 4) не виявлено цих ампліконів для пар праймерів P21F/P21R (3А) та P20F/P20R (3D), що свідчить про поліморфізм генів *Dreb* у даних геномах і відмінність цих зразків за ознаками стійкості до посухи, засолення, низьких температур тощо. Амплікон 789 п.н. є нехарактерним для даних геномів, тому що він виявляється в зразку *Ae. cylindrica*.

Таблиця 3.

Диференціація зразків пшениці м'якої озимої за посухостійкістю на ювенільному етапі розвитку, пророщених на розчині сахарози 14 атм ($M \pm m$)

№ п/п	Назва генотипу	Кількість зародкових коренів, шт.	Середня довжина зародкових коренів, см	Максимальна довжина зародкових коренів, см	Середня довжина колеоптиля, см
1	Подольанка	5,0±1,1	5,6±0,5	8,0±1,5	4,5±1,5
2	Смуглянка	5,2±0,6	4,7±0,2	6,9±0,4	4,1±0,8
3	Носшпа 100	4,4±0,8	3,3±0,4	5,6±0,5	5,8±0,4
4	Зоряна Носівська	4,6±1,0	2,8±1,0	6,0±0,3	7,1±0,6
5	Ювівата 60	4,3±0,4	3,7±0,5	6,2±1,0	6,0±0,7
6	КС 1	5,0±0,4	4,1±0,6	6,7±1,2	4,9±0,4
7	КС 5	4,0±2,0	5,0±0,4	5,9±0,8	4,6±0,4
8	КС 14	4,2±2,1	3,8±1,8	7,4±2,0	5,4±0,6
9	КС 16	5,2±0,5	2,9±1,2	6,6±0,4	4,7±1,0
10	КС 17	4,0±0,8	3,1±1,4	7,1±0,6	5,1±1,2
11	КС 21	3,7±1,2	4,8±1,5	6,9±0,5	4,9±1,0
12	Л 41	4,6±0,5	3,6±0,6	5,7±0,5	5,6±1,4
13	Л 59	4,4±0,6	4,2±0,8	5,3±0,5	6,5±0,5
14	Л 34-95	4,5±1,0	5,3±0,4	6,4±1,0	4,1±2,4
15	Даушка	5,0±0,8	3,4±0,3	6,7±1,2	5,7±1,8

Table 3.

Differentiation of soft winter wheat samples by drought in the juvenile stage of development, germinated in a solution of sucrose 14 atm ($M \pm m$)

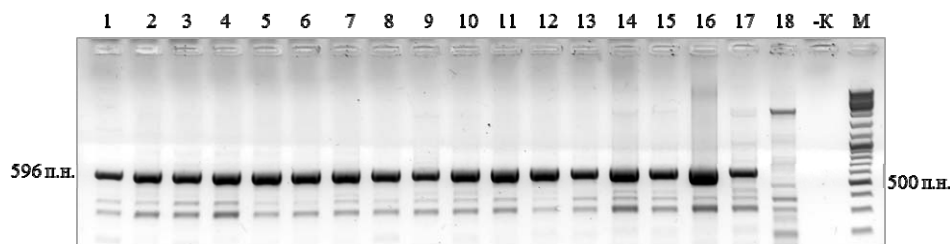


Рис. 1. Электрофореграма результатів ампліфікації з використанням алель-специфічних праймерів P25F/P25R (3A) сортів та ліній *Triticum aestivum* L.

Примітка: 1 – КС 1; 2 – Ювівата 60; 3 – КС 5; 4 – Л 41-95 – КС 14; 6 – КС 17; 7 – КС 16; 8 – Л 59; 9 – Зоряна Носівська; 10 – КС 21; 11 – Даушка; 12 – КС 7; 13 – Л 34-95; 14 – Дворянка; 15 – Тризо; 16 – Куяльник; 17 – Смуглянка; 18 – *Aegilops cylindrica*; -К – негативний контроль (без ДНК); М – маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA Ladder Mix

Fig. 1. Electroforegram of amplification results using allele-specific primer P25F / P25R (3A) of varieties and lines of *Triticum aestivum* L.

Note: 1- KC 1; 2 - Yuvivata 60; 3 - KC 5; 4 - L 41-95 - COP 14; 6 - KC 17; 7 - KC 16; 8 - l 59; 9 - Zoryana Nosivska; 10 - CS 21; 11 - Daushka; 12 - KC 7; - 13 L 34-95; 14 - Dvoryanka; 15 - Trizo; 16 - Kuyalnyk; 17 - Smuglyanka; 18 - *Aegilops cylindrica*; -K - negative control (without DNA); M - molecular weight marker GeneRuler™ DNA Ladder Mix

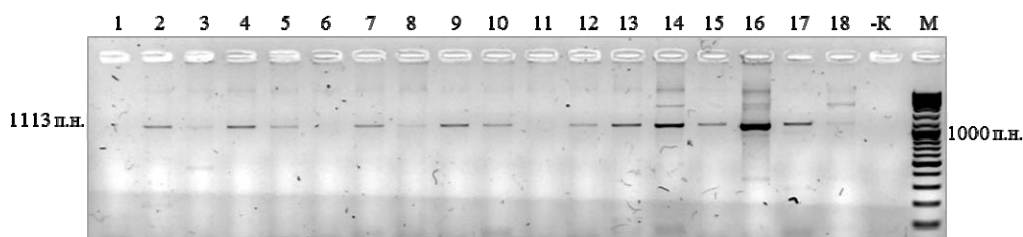


Рис. 2. Электрофореграма результатів ампліфікації з використанням алель-специфічних праймерів P21F/P21R (3A) сортів та ліній *Triticum aestivum* L.

Примітка: 1 – КС 1; 2 – Ювівата 60; 3 – КС 5; 4 – Л 41-95 – КС 14; 6 – КС 17; 7 – КС 16; 8 – Л 59; 9 – Зоряна Носівська; 10 – КС 21; 11 – Даушка; 12 – КС 7; 13 – Л 34-95; 14 – Дворянка; 15 – Тризо; 16 – Куяльник; 17 – Смуглянка; 18 – *Aegilops cylindrica*; -К – негативний контроль (без ДНК); М – маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA Ladder Mix

Fig. 2. Electroforegram of amplification results using allele-specific primer P21F / P21R (3A) varieties and lines *Triticum aestivum* L

Note: 1- KC 1; 2 - Yuvivata 60; 3 - KC 5; 4 - L 41-95 - COP 14; 6 - KC 17; 7 - KC 16; 8 - l 59; 9 - Zoryana Nosivska; 10 - CS 21; 11 - Daushka; 12 - KC 7; - 13 L 34-95; 14 - Dvoryanka; 15 - Trizo; 16 - Kuyalnyk; 17 - Smuglyanka; 18 - *Aegilops cylindrica*; -K - negative control (without DNA); M - molecular weight marker GeneRuler™ DNA Ladder Mix

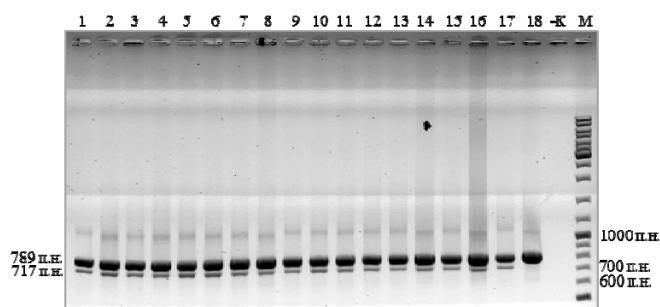


Рис. 3. Электрофореграма результатів ампліфікації з використанням алель-специфічних праймерів P18F/P18R (3B) сортів та ліній *Triticum aestivum* L.

Примітка: 1 – КС 1; 2 – Ювівата 60; 3 – КС 5; 4 – Л 41-95 – КС 14; 6 – КС 17; 7 – КС 16; 8 – Л 59; 9 – Зоряна Носівська; 10 – КС 21; 11 – Даушка; 12 – КС 7; 13 – Л 34-95; 14 – Дворянка; 15 – Тризо; 16 – Куяльник; 17 – Смуглянка; 18 – *Aegilops cylindrica*; -К – негативний контроль (без ДНК); М – маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA Ladder Mix

Fig. 3. Electroforegram of amplification results using allele-specific primer P18F/P18R (3B) varieties and lines *Triticum aestivum* L

Note: 1- KC 1; 2 - Yuvivata 60; 3 - KC 5; 4 - L 41-95 - COP 14; 6 - KC 17; 7 - KC 16; 8 - l 59; 9 - Zoryana Nosivska; 10 - CS 21; 11 - Daushka; 12 - KC 7; - 13 L 34-95; 14 - Dvoryanka; 15 - Trizo; 16 - Kuyalnyk; 17 - Smuglyanka; 18 - *Aegilops cylindrica*; -K - negative control (without DNA); M - molecular weight marker GeneRuler™ DNA Ladder Mix

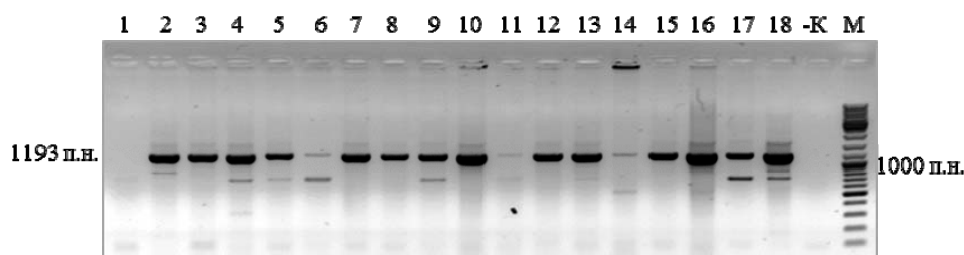


Рис. 4. Електрофореграма результатів ампліфікації з використанням алель-специфічних праймерів P20F/P20R (3D) сортів та ліній *Triticum aestivum* L.

Примітка: 1 – КС 1; 2 – Ювівата 60; 3 – КС 5; 4 – Л 41-95 – КС 14; 6 – КС 17; 7 – КС 16; 8 –Л 59; 9 – Зоряна Носівська; 10 – КС 21; 11 – Даушка; 12 – КС 7; 13 –Л 34-95; 14 – Дворянка; 15 – Трізо; 16 – Куяльник; 17 – Смуглянка; 18 – *Aegilops cylindrica*; -К – негативний контроль (без ДНК); М – маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA Ladder Mix

Fig. 4. Electroforegram of amplification results using allele-specific primer P20F/P20R (3D) varieties and lines *Triticum aestivum* L

Note: 1- KC 1; 2 - Yuvivata 60; 3 - KC 5; 4 - L 41-95 - COP 14; 6 - KC 17; 7 - KC 16; 8 -l 59; 9 - Zoryana Nosivska; 10 - CS 21; 11 - Daushka; 12 - KC 7; - 13 L 34-95; 14 - Dvoryanka; 15 - Trizo; 16 - Kuyalnyk; 17 - Smuglyanka; 18 - *Aegilops cylindrica*; -K - negative control (without DNA); M - molecular weight marker GeneRuler™ DNA Ladder Mix

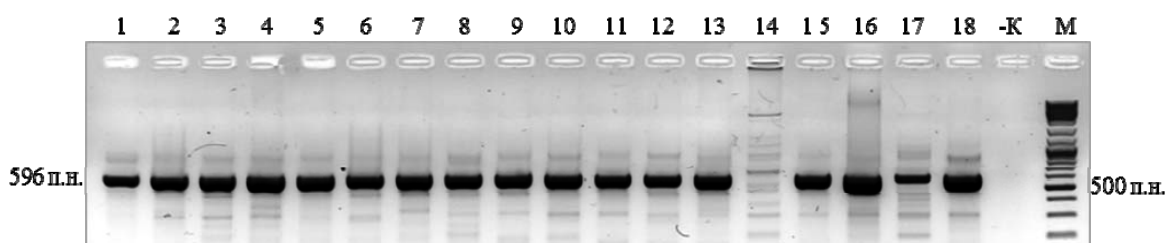


Рис. 5. Електрофореграма результатів ампліфікації з використанням алель-специфічних праймерів P22F/P25R (3D) сортів та ліній *Triticum aestivum* L.

Примітка: 1 – КС 1; 2 – Ювівата 60; 3 – КС 5; 4 – Л 41-95 – КС 14; 6 – КС 17; 7 – КС 16; 8 –Л 59; 9 – Зоряна Носівська; 10 – КС 21; 11 – Даушка; 12 – КС 7; 13 –Л 34-95; 14 – Дворянка; 15 – Трізо; 16 – Куяльник; 17 – Смуглянка; 18 – *Aegilops cylindrica*; -К – негативний контроль (без ДНК); М – маркер молекулярної маси GeneRuler™ DNA Ladder Mix

Fig. 5. Electroforegram of amplification results using allele-specific primer P22F/P25R (3D) varieties and lines *Triticum aestivum* L

Note: 1- KC 1; 2 - Yuvivata 60; 3 - KC 5; 4 - L 41-95 - COP 14; 6 - KC 17; 7 - KC 16; 8 -l 59; 9 - Zoryana Nosivska; 10 - CS 21; 11 - Daushka; 12 - KC 7; - 13 L 34-95; 14 - Dvoryanka; 15 - Trizo; 16 - Kuyalnyk; 17 - Smuglyanka; 18 - *Aegilops cylindrica*; -K - negative control (without DNA); M - molecular weight marker GeneRuler™ DNA Ladder Mix

Таким чином, аналіз одержаних нами результатів підтверджує, що наявні у стійких до водного дефіциту сорти та лінії *Triticum aestivum* L. мають наявні гени посухостійкості *Dreb*, володіють високою і середньою здатністю проростати на розчинах осмолітика за тиску 14-20 атм та характеризуються низкою морфобіологічних показників (сизий восковий наліт надземної фітомаси, щупле зерно, еректоїдність листя верхнього ярусу, тривала фотосинтетична здатність тощо).

Висновки. Таким чином, результати багаторічних досліджень з визначення адаптованих до стресових умов генотипів *Triticum aestivum* L. з використанням морфологічних, фізіологічних, молекулярно-генетичних методів діагностики дають змогу об'єктивно ідентифікувати генетичний матеріал на стійкість до умов недостатнього зволоження. Зокрема, дослідження

посухостійкості рослин на ювенільному етапі розвитку за проростанням зернівок на розчинах сахарози різного осмотичного тиску та проявом морфологічних ознак в польових умовах, а також генами посухостійкості *Dreb 1* дозволило виявити високий рівень поліморфізму вихідних зразків *Triticum aestivum* L. Такі генотипи як: Дворянка, Смуглянка, Зоряна Носівська, Л 41-95, Л 34-95, КС 21 мають високу посухостійкість і є перспективними для вирощування в зоні Центрального Лісостепу України періодично нестійкого зволоження, що характеризується частими посушливими осінніми та весняно-літніми періодами.

Список літератури:

1. B. Wei, R. Jing, C. Wang, J. Chen, X. Mao, X. Chang, J. Ji. *Dreb1* genes in wheat (*Triticum aestivum* L.): development of functional markers and gene mapping based on SNPs // Mol Breeding (2009) 23:13–22.

2. Johnson A. B., Denko N., Barton M. C. Hypoxia 1. Колесніченко О.В. та ін. Морфологічні та анатомічні особливості будови пагонів *Castanea sativa* Mill. в умовах ґрунтової посухи // Агроекологічний журнал. – 2010. – №4. – 84.
3. Mondini L., Nachit M., Pagnotta M. Allelic variants in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) DREB genes conferring tolerance to abiotic stresses // Mol Genet Genomics. 2015. Vol. 290(2). P. 531.
4. Morran S. Improvement of stress tolerance of wheat and barley by modulation of expression of DREB/CBF factors // Plant Biotechnology Journal. – 2011. – Vol. 9. – P. 230.
5. Nakashima K., Shinwari., Sakuma Y. et al. Organization and expression of two Arabidopsis DREB 2 genes encoding DRE binding proteins involved in dehydration gene expression // Plant Mol. Biol. 2000. Vol. 42. P. 657–665.
6. Tardieu F. Virtual plants: modelling as a tool for the genomics of tolerance to water deficit // Trends Plant Sci. – 2003. – Vol. 8 – P. 9–14.
7. Thudi M, Upadhyaya HD, Rathore A, Gaur PM, Krishnamurthy L, Roorkiwal M, et al. Genetic Dissection of Drought and Heat Tolerance in Chickpea through Genome-Wide and Candidate Gene-Based Association Mapping Approaches. 2014. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0096758>.
8. Варавкіна В., Таран Н. Інтенсивність ростових процесів проростків озимої пшениці (*Triticum aestivum*) різної селекції за умов високого осмотичного тиску // ВКНУ імені Тараса Шевченка. Серія Проблеми регуляції фізіологічних функцій та біологія. – К.: КНАУ ім. Т. Г. Шевченка, 2014. – №4. – С. 423–428.
9. Доспехова Б.А. Методика полевого опыта / за ред. Б. А. Доспехова. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
10. Дроздов С.Н. и др. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям. – ВИР, 1988. – 226 с.
11. Ионова Е.В., Некрасов Е.И. Физиологические методы оценки засухоустойчивости сортов и линий озимой пшеницы // Зерновое хозяйство России. – 2013. – № 5. – С. 12–21.
12. Москалец Т.З., Москалец В.В., Ключевич М.М. Синекологічні аспекти формування високопродуктивних фітоценозів зернових і зернобобових ультур: монографія. – Херсон: Гринь Д.С., 2014. – 514 с.
13. Практикум по росту и устойчивости растений / Полевой В.В., Чиркова Т.В., Лутова Л.А. и др. – С.-Петербург, 2001. – 212 с.
14. Сісакян Н. М. <http://fizrast.ru/fotosintez/intensivnost/voda.html>.
15. Чугаєв С. В. та ін. Оцінка сортів пшениці м'якої озимої на посухостійкість у східній частині Лісостепу України // Вісник ЦНЗ АПВ Харківської області. 2013. – Вип. 14. – С. 154.

MORPHO-PHYSIOLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC FEATURES OF TRITICUM AESTIVUM L. XEROMORPHITY

T. Z. Moskalets, V. K. Rybalchenko

*The article presents the results of years of research to determine the morpho-physiological and molecular genetic features of xeromorphic cultivars and lines *Triticum aestivum* L. Research drought resistance of plants to the juvenile stage of germination caryopsides for sucrose solutions at different osmotic pressure and manifestation of morphological characters in the field, and genes drought DREB 1 resistance revealed a high level of polymorphism initial samples of wheat soft winter. Such genotypes as noblewoman, Dvorianka, Zoriana Nosivska, Л 41, Л 34-95, КС 21 have high drought tolerance and is looking to grow in the area of the central Forest-steppe of Ukraine periodically unstable wetting, characterized by frequent arid autumn and spring and summer.*

*Key words: *Triticum aestivum* L., genes of drought DREB 1, morpho-physiological characteristics.*

Одержано редколегією 05.05.2015

ПРО НЕОБХІДНІСТЬ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ НА НИЗЬКОПРОДУКТИВНИХ ЗЕМЛЯХ

Н. О. СМОЛЯР, М. Г. ЧОРНИЙ, В. А. СОЛОМАХА

ІНЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка
e-mail: smolar@inbox.ru

У контексті збалансованого розвитку розглядаються деякі проблеми низькопродуктивних земель (агроландшафтів із деградованим біорізноманіттям, неужитків, антропогенних та порушених антропогенною діяльністю об'єктів та ін.) як осередків відтворення й збереження біорізноманіття: Прогнозується збільшення їх площ за рахунок деградованих у результаті експлуатації сільськогосподарських угідь, а неужитків – шляхом приростання промисловими територіями. Вказується на необхідність формування наукової концепції природоохоронного та економічного використання низькопродуктивних земель шляхом залучення їх до структури екомережі України. Методологія базується на ідеї розширення та вдосконалення національної екомережі й за рахунок економічно низькопродуктивних земель шляхом запровадження на них екологічного менеджменту. Основними інструментами забезпечення збереження й відтворення біорізноманіття на низькопродуктивних землях є застосування нових підходів щодо їх відтворення, заповідання, зонування об'єктів природно-заповідного фонду вищих категорій, встановлення різномірної охорони тощо. Основними завданнями концепції збереження низькопродуктивних земель є: збільшення площі природно-заповідного фонду України, поліпшення перспектив збереження багатьох зникаючих видів, ценозів та біотопів (як на низькопродуктивних землях, так і на суміжних територіях), забезпечення на низькопродуктивних землях режиму сталого використання на основі екологічного менеджменту, покращення екологічної ситуації та відновлення біосферних функцій екосистем. Низькопродуктивні землі розглядаються у перспективі як сполучні ланки між ядрами і ключовими територіями екомережі. Розробка та впровадження концепції екологічного менеджменту збереження, охорони та раціонального використання біорізноманіття низькопродуктивних земель у різних регіонах України дозволить забезпечити збереження та відтворення природного біорізноманіття, збільшити площу природно-заповідного фонду України, ефективно використовувати відтворені низькопродуктивні угіддя, сприятиме розбудові національної екомережі України та забезпеченню сталого розвитку регіонів.

Ключові слова: біорізноманіття, низькопродуктивні землі, загрози біорізноманіттю, збереження біорізноманіття, екологічний менеджмент.

Вступ. У сучасних умовах світова громадськість почала усвідомлювати небезпеку подальшої втрати біорізноманіття й необхідність вжиття дієвих заходів заради його збереження, що засвідчило прийняття Конвенції про біорізноманіття Конференцією ООН з довкілля та розвитку (Ріо-де-Жанейро, 1992), яка набула чинності у грудні 1993 р. Україна брала активну участь у конференції і підписала зазначену Конвенцію, а 1994 року Верховна Рада України ратифікувала цей важливий міжнародний документ. Таким чином, Україна поклала на себе серйозні зобов'язання щодо збереження біорізноманіття, яке складає цінність не тільки національну, а й всеєвропейську й світову (Гардашук, 2003).

Це вимагає від України виконання важливих зобов'язань щодо розв'язання національних і регіональних екологічних проблем у

відповідності до міжнародних принципів та вимог, зокрема і в контексті збереження біорізноманіття та забезпечення сталого розвитку (Оцінка ..., 2003). Все це розглядається із позицій гарантування екологічної безпеки, яку можна забезпечити враховуючи, так звані, загрози, причини їх виникнення та можливі шляхи усунення.

Оцінка стану збереженості біорізноманіття дає можливість застосування екологічного (природоохоронного) менеджменту з метою найефективнішого використання ресурсів будь-якого регіону та забезпечення науково обґрунтованої охорони. Застосування екологічного менеджменту повинно базуватися на оцінці екологічних ризиків або загроз біорізноманіттю, під чим розуміють природне чи техногенне явище з прогнозованими, але не контрольованими небажаними подіями, що

можуть у певний момент часу в межах даної території завдати шкоди здоров'ю людей, спричинити матеріальні збитки, зруйнувати довкілля (Качинский, 1989).

Одним із принципів екологічного менеджменту є попередження екологічних ризиків та негативних ситуацій.

Для оцінки факторів загроз біорізноманіттю в міжнародній практиці застосовують поняття ризику і виділяють серед багатьох і такі ризики як: ризик (загрозу) для флори й фауни, включаючи зростаючий ланцюг живлення, ризик для екосистеми в цілому, включаючи всю біорізноманітність, ризик для показника використання даної ділянки місцевості, обмежуючий його екологічну цінність (Костюшин, 2013). Під загрозою для біорізноманіття розуміють інтегральний ефект дії комплексу негативних чинників, що є реальним явищем, яке відбувається у природних умовах у різних проявах, модифікаціях (Костюшин, 2013).

Одним із проявів екологічних загроз в Україні, як антропогенного, так і природного походження, є проблема подальшого використання низькопродуктивних земель, частина яких, маючи значну природоохоронну цінність біотопів та біорізноманіття, за певних умов можуть бути відновлені без значних затрат. Більшість цих земель використовуються неефективно, іноді збитково, частина земель потерпає від хижацької, в тому числі незаконної, експлуатації без надходження податків до бюджету, втрачаючи свої природоохоронні та господарські цінності. Використання таких земель безповоротно поглинає бюджетні кошти та приватні капіталовкладення через екологічну неграмотність господарників та відсутність системного науково обгрунтованого екологічного підходу (наприклад, штучне заліснення степових ділянок, яке, після загибелі насаджень, проводиться знову і знову, або підтримання в осушеному стані боліт шляхом руйнації бобрових загат тощо). Тоді як комплексне, екологічно обгрунтоване їх використання дозволить, крім оптимізації екологічної ситуації, відтворити природне біорізноманіття та продуктивність екосистем, також недорого, гарантовано і довготривало отримувати значну кількість матеріальних та духовних благ, працевлаштувати населення, сприяти його професійно-екологічному вихованню, а також підвищувати рівень життя в контексті сталого розвитку.

Ця проблема називалася десятиліттями, а починаючи з 90-х років минулого століття набула значного масштабу, коли площа

низькопродуктивних земель катастрофічно зросла. Нині відбуваються процеси стихійного освоєння або прогресуючого занепаду цих земель. Збереження і відновлення їх дозволить додатково отримувати особливо високоякісні продукти харчування з відносно низькою собівартістю (плоди, ягоди, гриби, м'ясо мисливських тварин та худоби, молоко, мед тощо), лікарську сировину, будівельні і технічні матеріали (деревину, очерет, лозу тощо), альтернативне паливо, рекреаційні та інші нематеріальні продукти. Прихованими, але спрямованими у майбутнє вигодами стануть покращення навколишнього середовища, оздоровлення, підвищення екологічної свідомості та рівня культури населення.

Обговорення результатів. Метою даної роботи є формування наукової концепції комплексного екологічного та економічного використання низькопродуктивних земель шляхом залучення їх до структури екомережі України.

Досягнення вказаної мети потребує вирішення двох важливих завдань:

- розробка наукового обгрунтування доцільності збереження й охорони низькопродуктивних земель як осередків біорізноманіття до рівня, достатнього для збереження їх різноманіття, близького до притаманного їм природного стану;

- формування для цієї категорії земель територіально єдиної системи, побудованої відповідно до забезпечення можливості природних шляхів міграції та поширення видів рослин і тварин, яка б гарантувала збереження природних екосистем, видів рослинного і тваринного світу та їх популяцій.

До низькопродуктивних земель відносимо агроландшапти з деградованим біорізноманіттям, неужитки (яри, степові балки, болотисті місцевості та ін.), антропогенні та порушені антропогенною діяльністю об'єкти (промислові майданчики, військові полігони, відпрацьовані кар'єри тощо).

Агроландшапти відіграють значну роль у національній та регіональних екомережах як одні із основних їх структурних елементів, оскільки сільськогосподарські землі в Україні складають близько 70% її території. Але, на жаль, на цих територіях не відображена частка низькопродуктивних земель як найбільш наближених до природних, і які є об'єктами як антропогенної трансформації, так і осередками збереження біорізноманіття (існуючими чи перспективними за умови їх відтворення).

Агроландшапти представлені і у складі біоцентрів та ключових територій екомереж

(біосферних заповідників, національних природних та регіональних ландшафтних парків, заказників), і у межах визначених екокоридорів (насамперед, це пасовища, сінокоси, перелogi), і репрезентовані як буферні зони. Із екологічної точки зору вони розглядаються не тільки як об'єкти організації господарської діяльності, а й осередки збереження біорізноманіття, у тому числі й природного. Деякі з представників біорізноманіття на їх території адаптуються до умов провадження сільськогосподарської діяльності, а деякі потребують відповідних умов і змін у сільськогосподарській практиці (Костюшин, 2013), зокрема й шляхом розробки та впровадження екологічно доцільного менеджменту як інструменту забезпечення екологічної безпеки.

На думку Є.В. Костюшина та В.А. Костюшина (Костюшин, 2013) головними загрозами біорізноманіттю в агроландшафтах є: знищення або зменшення площі біотопів і погіршення їх якості; знищення тварин хімічними сполуками при веденні екстенсивного сільського господарства; загибель та розлякування диких тварин під час обробітку сільськогосподарських угідь, збору врожаю; зниження якості земель через ерозію, засолення, втрату родючості ґрунтами, накопичення токсичних речовин у ґрунтах та ін. Автори наводять і основні стратегічні напрями діяльності спрямовані на збереження біорізноманіття в агроландшафтах: 1) безпосередньо спрямовані (природозаповідання; розбудова екомереж; розробка та впровадження планів дій із охорони окремих видів); 2) опосередковано спрямовані (використання альтернативних систем землеробства; лісомеліорація; контурно-меліоративне землеробство; басейновий підхід до збереження водних ресурсів; ведення збалансованого сільського господарства).

Стан збереження біорізноманіття оцінюється за загальноприйнятими показниками репрезентативності та унікальності. Основною формою збереження біорізноманіття на сьогодні в Україні є природозаповідання, а показником, що відображає його кількісні показники, є відсоток заповідності.

Міжнародна спільнота розглядає нині відсоток заповідання території будь-якої країни як критерій її цивілізованості. Так, у світі середній відсоток охоронюваних природних територій нині складає 10 %, в країнах ЄС – від 12 до 25 %, тоді як в Україні він не сягає і 6 % (5,9 % на 01.01.2014 р.). І це при тому, що імплементація угоди із Європейським Союзом

вимагає вже у найближчі роки доведення показника заповідності у державі до 10%.

Таким чином, в Україні виникла парадоксальна ситуація: з одного боку низький відсоток заповідності, а з іншого – наявність значної площі неужитків (ярів, балок, заболочених і засолених земель, пісків та виходів скель, лісових галявин), кар'єрів, закинутих промислових майданчиків і населених пунктів, звалищ, перелогів, деградованих луків, малопродуктивних пасовищ і лісових культур, згарищ та вітровалів, низьковрожайних орних земель, військових полігонів тощо, які не використовуються або майже не використовуються.

Із великою вірогідністю можна стверджувати, що категорія низькопродуктивних земель буде ще тривалий час поповнюватися за рахунок деградованих в результаті експлуатації сільськогосподарських угідь, а площа неужитків приростатиме промисловими територіями.

Разом із тим, деякі автори аргументовано стверджують, що саме неужитки в останнє століття стали ледве не останніми рефугіумами, де збереглися степові та болотні комплекси із високим рівнем біорізноманіття, хоча їхня мала площа і фрагментованість вже не дозволяє забезпечити відновлення природних ценозів на прилеглих територіях (Евстигнеев, 2009).

Отже, однією із передумов для збільшення площі земель із природними ландшафтами, що склалися у процесі реформування економічних відносин у землекористуванні, є вилучення низькопродуктивних земель сільськогосподарського та лісгосподарського призначення, насамперед деградованих, унаслідок економічної збитковості їх використання за призначенням або надання їм відповідного статусу в контексті сталого розвитку з метою збереження чи відтворення на них біорізноманіття, а також їх раціонального використання землевласниками та землекористувачами. Контроль за цим процесом слід покласти на органи екологічного контролю на місцях.

Тобто, методологія базується на ідеї розширення та вдосконалення національної екомережі, у тому числі й за рахунок економічно низькопродуктивних сільськогосподарських і лісових угідь, природних неужитків шляхом запровадження на них екологічного менеджменту на основі результатів їх інвентаризації та оцінки. У перспективі їх можна розглядати як сполучні ланки між ядрами і ключовими територіями екомережі.

Спільними рисами таких територій є:

- глибока антропогенна трансформованість у минулому;
- низька економічна продуктивність на даний час;
- висока чутливість до подальших антропогенних навантажень;
- локальність кожної окремої ділянки при значній загальній площі в межах України;
- відносно високий рівень біорізноманіття та здатність до тривалого самозбереження за умови мінімізації дії зовнішніх факторів (передусім, розорювання, штучного заліснення, перевипасання, осушувальної меліорації тощо).

Основними завданнями, на вирішення яких спрямована концепція збереження низькопродуктивних земель, є:

- збільшення площі природно-заповідного фонду України (чого вимагає, зокрема, імплементація асоціації з Європейським Союзом) для забезпечення нормального функціонування екомережі шляхом зобов'язання користувачів та органів влади переводити екологічно цінні, але економічно низькопродуктивні території до природно-заповідного фонду;
- поліпшення перспектив збереження багатьох зникаючих видів, ценозів та біотопів (як на низькопродуктивних землях, так і на суміжних територіях);
- забезпечення на низькопродуктивних землях режиму використання, сприятливого як з екологічної, так і з економічної точок зору шляхом впровадження екологічного менеджменту, що надасть змогу зберегти існуюче і відтворити зникле біорізноманіття та отримати додаткові економічні вигоди;
- покращення екологічної ситуації та відновлення біосферних функцій екосистем (поглинання вуглекислоти і створення додаткової продукції органічної речовини, покращення водного режиму та клімату, призупинення ерозії);
- забезпечення сталого розвитку територій (запровадження органічного землеробства, оздоровлення населення, розвиток екологічного туризму, зайнятість місцевого населення та підвищення їх доходів, підвищення рівня екологічної культури представників територіальних громад, позитивний вплив на загальний рівень культури та професійного рівня в екологічному аспекті).

Розроблена науковцями загальнонаціональна екомережа України (як і регіональні екомережі) залишається майже нереалізованою через значну кількість розривів між її ядрами і слабку

наповненість екокоридорів природно-заповідними територіями, реально здатними підтримувати біорізноманіття. У багатьох адміністративних районах зі значною площею природних та напівприродних екосистем відсутні будь-які об'єкти природно-заповідного фонду. Існують вітчизняні розробки з ренатуралізації деградованих територій, із вивчення економічної цінності природних екосистем та методів її підвищення.

Окремо слід детально зупинитися на необхідності розробки спеціальних менеджмент-планів для таких територій.

Численні багаторічні дослідження суцесійних процесів і біорізноманіття на заповідних територіях вищих категорій охорони (природні заповідники, біосферні заповідники, національні природні парки) виявили, що в умовах України далеко не завжди «абсолютне» заповідання сприяє збереженню і відтворенню біорізноманіття.

Україна належить до, так званих, «давньоосвоєних» територій, де природні екосистеми зазнавали наростаючого антропогенного пресу вже починаючи з епохи пізнього палеоліту. Тому, практично всі природні і значну частину біосферних заповідників, не говорячи вже про національні природні парки України, лише умовно можна назвати природними еталонами, бо їхні території у більшій чи в меншій мірі перед заповіданням трансформовані діяльністю людини. Після проголошення цих територій заповідними і зняття з них прямого антропогенного пресу були спровоковані кардинальні зміни в існуючих екосистемах, які підсилювалися незахищеністю від оточуючих антрополандшафтів, недостатньою для саморегуляції площею, а часто недостатністю, а то й відсутністю едифікаторних елементів.

Прибравши у різні історичні часи спочатку крупних рослиноїдних тварин (мамонтів, бізонів, тарпанів, антилоп), потім крупних землерійів (зокрема, байбаків), які активно впливали на формування ландшафтів, людина не тільки спровокувала деградацію природних екосистем, зменшення біорізноманіття, а й започаткувала нові, невідомі раніше в природі типи суцесій, і створила масу напіврегульованих або штучних систем. За невеликим виключенням саме такі екосистеми стали основою для створення природних заповідників в Україні.

Перелічені фактори створили в багатьох об'єктах природно-заповідного фонду парадоксальну ситуацію, коли окремі види, а то і комплекси видів, зникли і зникають на охоронюваних територіях, але нормально

почуваються на суміжних ділянках із помірним антропогенним навантаженням. При цьому суцесійні процеси ведуть до подальшого спрощення і збіднення охоронюваних екосистем, що суперечить базовим принципам заповідання (Чорний, 2009).

Таким чином, на нашу думку, «абсолютне заповідання» (як одна із форм екологічного менеджменту) може бути застосоване тільки на значних за площею заповідних територіях, де збереглися природні або максимально наближені до природних самовідновні і саморегульовані екосистеми, здатні тривалий час автономно підтримувати наявне біорізноманіття.

Але на переважну більшість низькопродуктивних земель і неужитків принципи і методологія «абсолютної» заповідності не може бути поширена в силу вищенаведених причин. Більше того, деякі об'єкти, наприклад, древні захисні земляні вали, взагалі мають рукотворне походження, але нині вони є резерватами, де збереглися останці лучно-степових рослинних угруповань.

Значні за площею яружно-балкові системи, маючи хороші властивості захисту і укриття, є місцем високої концентрації мисливських видів тварин, нерегульована чисельність яких несе локальну загрозу не тільки перевипасання, а й посилення ерозійних процесів.

Тому одним із інструментів забезпечення збереження й відтворення біорізноманіття на низькопродуктивних землях є застосування нових підходів до зонування об'єктів природно-заповідного фонду вищих категорій охорони (Чорний, 2013), а також встановлення різнорівневої охорони, що передбачає науковий природоохоронний менеджмент із метою накопичення та впорядкування інформації щодо різних компонентів біорізноманітності. Це надасть змогу відтворити на відповідних картах розподіл компонентів біорізноманіття і провести об'єднання виявлених і оцінених територій у систему відповідних ландшафтно-територіальних одиниць, які можна в подальшому розглядати як об'єкти природно-заповідного фонду. Основною вимогою за такого підходу повинна бути наявність міграційних шляхів для біорізноманіття, а також певних природних ядер збереження біорізноманіття (лісові масиви, яружно-балкові системи, водно-болотні угіддя, лучно-болотні комплекси та ін.). За відсутності таких у певних ландшафтно-територіальних комплексах, доцільно їх відтворювати, або аналогово «вмонтовувати», наприклад, створювати агролуки, агроstep, штучні лісові насадження за типом природних,

особливі міграційні території (вздовж автошляхів, залізниць та ін.).

За кордоном практика ренатуралізації ландшафтів (прерій, лук, лісів, маршів), в тому числі за участю відтворених популяцій диких ратичних або примітивних порід худоби набула значного поширення, що забезпечує й економічну вигоду.

Висновки. Основними ідеями концепції збереження низькопродуктивних земель є:

1. Інтеграція України у європейську спільноту потребує швидкого і значного розширення екомережі країни.
2. Україна належить до «староосвоєних» територій, що робить проблемним пошук перспективних для заповідання місцевостей із високими показниками біорізноманіття й природності.
3. Одним із варіантів збільшення площі земель із природними ландшафтами, що склалися у процесі реформування економічних відносин у землекористуванні, є природоохоронне використання низькопродуктивних земель, насамперед, деградованих, унаслідок економічної збитковості їх використання або зміна їх цільового призначення унаслідок уведення до природно-заповідного фонду. Тобто, методологія базується на ідеї розширення та вдосконалення національної екомережі за рахунок економічно низькопродуктивних земель шляхом їх інвентаризації та оцінки.
4. Класичні підходи до заповідання, що базуються на ідеї «абсолютного» заповідання не скрізь і не завжди дозволяють природно-заповідним територіям виконувати одну із найважливіших функцій – підтримання та відтворення біорізноманіття.
5. Збереження видового, екосистемного та ландшафтного різноманіття потребує застосування екологічного менеджменту, що полягає в обґрунтуванні та запровадженні заходів і механізмів ефективного збереження й використання біорізноманіття конкретних територій.
6. Гармонізація екомережі шляхом створення різнорівневих за категоріями охорони (від абсолютно заповідних до екореконструйованих об'єктів природно-заповідного фонду (ПЗФ), застосування нових підходів до зонування об'єктів ПЗФ вищих категорій охорони тощо.
7. Широке впровадження ренатуралізаційних заходів як щодо екосистем (методи агроstepу, агролук, полідомінантні лісонасадження), так і щодо видів (репатріація зникаючих рослин, а також зниклих тваринних «едифікаторів» – зубрів, примітивних порід ВРХ та коней тощо).

8. Переведення справи охорони та відтворення природи на економічно доцільний рівень (у частині екологічного менеджменту низькопродуктивних земель), що дозволить кардинально поліпшити стан біорізноманіття, екосистем та в цілому навколишнього середовища.

9. Раціональне використання ренатуралізованих низькопродуктивних земель із відтвореним біорізноманіттям дозволить підвищити їх рентабельність і забезпечити сталий розвиток регіонів.

10. Врахування економічної складової та можливості отримання прибутку дозволяє забезпечити широку суспільну підтримку і гарантувати сталий розвиток.

Першочерговими завданнями у цьому відношенні є виявлення й картування низькопродуктивних та цінних (фактично або потенційно) за рівнем біорізноманіття та природністю екосистем земель, які нині не входять до природно-заповідного фонду, сучасне використання яких екстенсивне, економічно неефективне або зовсім не проводиться.

Це потребує розробки шляхів і методик науково обгрунтованого екологічного менеджменту та комплексного господарського використання таких земель із імперативом, по-перше – збереження та підвищення біорізноманіття, ступеня природності і продуктивності екосистем, по-друге – збільшення їх економічної віддачі.

Доцільною є також підготовка змін до законів, підзаконних та нормативних актів, які б дозволяли зобов'язати (або економічно стимулювати) органи місцевої влади здійснювати включення цих земель до природно-заповідного фонду, а їх користувачів або власників – використовувати лише в межах згаданого імперативу (для чого кожна ділянка має бути паспортизована з визначенням режиму використання).

Для безпосереднього впровадження економічно вигідного екологічного менеджменту на конкретних територіях необхідно визначити процедуру його розробки (вимоги до кваліфікації експертів екологічних комісій, які розроблятимуть менеджмент-плани, джерела їх фінансування тощо).

Реалізація концепції збереження низькопродуктивних земель і відтворення їх біорізноманіття спрямована на розробку оптимальних і економічно вигідних (найдешевших) технологій ренатуралізації земель, а також системи методів їх економічно вигідного використання, яке б сприяло

відновленню біорізноманіття та продуктивності екосистем.

Цьому передують інвентаризація та екологічна оцінка категорій земель сільськогосподарського та лісгосподарського та іншого призначення із низьким економічним, але високим біотичним і природоохоронним потенціалом у контексті розбудови екомережі України та забезпеченні збалансованого розвитку регіонів. До того ж, така оцінка потребує застосування вдосконалених методик виявлення низькопродуктивних земель за допомогою супутникових знімків та використанням векторних карт (ГІС-технологій) (Качинський, 1989) і ландшафтно-екологічного зонування з метою оцінки їх природоохоронної якості.

Розробка та впровадження концепції екологічного менеджменту збереження, охорони та раціонального використання біорізноманіття низькопродуктивних земель у різних регіонах України дозволить забезпечити збереження та відтворення природного біорізноманіття, збільшити площу природно-заповідного фонду України, ефективно використовувати відтворені низькопродуктивні угіддя, сприятиме розбудові національної екомережі України та забезпеченню сталого розвитку регіонів.

Теоретичні та методичні підходи до розв'язання даної наукової проблеми, яка має практичне спрямування, відповідають стандартам, які апробуються в європейських країнах і в деяких регіонах України, насамперед, на заповідних територіях. Творчий пошук також передбачає вироблення оригінальних методик.

Список літератури:

1. Гардашук Т. Світовий досвід підтримки традиційних екологічних знань та збереження біорізноманіття // Збереження біорізноманіття: традиції та сучасність / відп. редактор Т. Гардашук, Товариство «Зелена Україна». – Київ: Хімджест, 2003. – С.5-24.
2. Евстигнеев О.И. Неруссо-Деснянское Полесье: история природопользования. – Брянськ, 2009. – 139 с.
3. Качинський А. Математичне моделювання геохімічних полів із залежними спостереженнями // Доп. АН УРСР. Сер.Б, Геолог., хім та біол. науки. – 1989. – №5. – С. 10-12.
4. Костюшин Є.В. Розвиток збалансованого сільського господарства та основні шляхи збереження біорізноманіття в агроландшафтах // Екологічні науки. – 2013. – №1. – С.136-144.
5. Оцінка і напрямки зменшення загроз біорізноманіттю України / Дудкін О.В., Сна А.В., Коржнев М.М., Крижанівський В.І., Лавров В.В., Мовчан Я.І., Соломеїна З.Г., Чумаченко С.М., Шевера М.В., Щербак В.І., Яковлев Є.О. – К.: Хімджест, 2003. – 400 с.

6. Чорний М.Г. Особливості наукової діяльності на природно-заповідних територіях України: – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2009. – 98 с.
7. Чорний М.Г. Проблеми функціонування заповідних екосистем як базових елементів охорони біорізноманіття // Заповідники Крима. Біорізноманіття і охорона природи в Азово-Чорноморському регіоні: Матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції. – Симферополь, 2013. – С. 191-196.
- //. Dop. AN URSR. Ser.B. Geolog., chim. ta biol. nauki. – 1989. – №5. – S. 10-12.
4. Kostushin E.V. Rozvitok zbalansovanogo silskogo gospodarstva ta osnovni shlakhi zberezhennia bioriznomanitta v agrolandshaftakh // Ekologichni nauki. – 2013. – №1. – S. 136-144.
5. Otsinka i napriamki zmenshenia zagroz bioriznomanittu Ukraini / Dudkin O.V., Yena A.V., Korzhnev M.M., Krishanivskii V.I., Lavrov V.V., Movchan Y.I., Solomeina Z.G., Chumachenko S.M., Shevera M.V., Shcherbak V.I., Yakovlev E.O. – Kiiv: Chimdzhest, 2003. – 400 s.

References:

1. Gardashuk T. Svitoviy dosvid traditsiynikh ekologichnikh znan ta zberezhennia boriznomanitta // Zberezhennz bioriznomanitta traditsii ta suchasnist / vidp. red. T.Gardashuk, T-vo «Zelena ukraina». – Kiiv: Chimdzhest, 2003. – S. 5-24.
2. Evstigneyev O.I. Nerusso-Desnanskoye Polesye: istoriya prirodopolzovaniya. – Bransk, 2009. – 139 s.
3. Kachinskyi A. Matematichne modeluvania geokhimichnikh poliv iz zalezhnimi sposterezheniam //. Dop. AN URSR. Ser.B. Geolog., chim. ta biol. nauki. – 1989. – №5. – S. 10-12.
4. Kostushin E.V. Rozvitok zbalansovanogo silskogo gospodarstva ta osnovni shlakhi zberezhennia bioriznomanitta v agrolandshaftakh // Ekologichni nauki. – 2013. – №1. – S. 136-144.
5. Otsinka i napriamki zmenshenia zagroz bioriznomanittu Ukraini / Dudkin O.V., Yena A.V., Korzhnev M.M., Krishanivskii V.I., Lavrov V.V., Movchan Y.I., Solomeina Z.G., Chumachenko S.M., Shevera M.V., Shcherbak V.I., Yakovlev E.O. – Kiiv: Chimdzhest, 2003. – 400 s.
6. Chorny M.G. Osoblivosti naukovoii diyalnosti na prirodno-zapovidnikh teritoriyakh Ukrainii. – Kiiv: Vidavnichno-poligrafichnii zentr «Kiiivskii universitet», 2009. – 98 s.
7. Chorny M.G. Problemi funktsionuvanna zapovidnikh ekosistem yak bazovikh elementiv okhoroni bioriznomanitta. Zapovedniki Krima. Bioraznoobraziye i okhrana prirodi v Azovo-Chernomorskom regione: Materiali VI mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. – Simferopol, 2013. – S. 191-196.

ON THE NECESSITY OF BIODIVERSITY CONSERVATION AT LOW PRODUCTION LANDS

N. Smoliar, M. Chorny, V. Solomakha

The problems of the low production lands (agricultural landscapes with degraded biodiversity, badlands, anthropogenic and disturbed by human objects etc.), as centres of reproduction and conservation of biodiversity, are considered in the context of sustainable development. The expansion of theirs squares by degraded agricultural lands and badlands by the adding of industrial territories is expected. It is pointed on necessity to create scientific concept of conservation and economical use of low production lands by their including to the ecological network of Ukraine. The methodology is based on the idea of expansion and improving of national ecological network and using ecological management at economically low productivity lands. The main ways of providing of conservation and reproduction of biodiversity at low production lands are the using of new approaches according their renovation, conservation, zoning of high level objects of nature reserve fund, providing multilevel protection etc. The main tasks of concept of conservation of low production lands are: expansion of nature reserve fund, improvement of conservation prospects of many endangered species, coenosises and biotopes (at low production lands and adjoining territories), providing sustainable using of low production lands based on ecological management, improvement of the ecological situation and renewal of biosphere functions of the ecosystems. The low production lands are considered as bands between cores and principal territories of the ecological network. The development and embedding of ecological management concept of conservation and rational use of low production lands biodiversity in different regions of Ukraine allow us to provide conservation and reproduction of natural biodiversity, expansion of nature reserve fund square, effectively use of low production renewal lands, promote the development of national ecological network of Ukraine and provide sustainable development of the regions.

Key words: biodiversity, low production lands, threats of biodiversity, biodiversity conservation, ecological management.

Одержано редколегією 19.02.2015

ІСТОРІЯ ДОСЛІДЖЕНЬ РОСЛИННОГО СВІТУ РЕГІОНАЛЬНОГО ЛАНДШАФТНОГО ПАРКУ «ГАДЯЦЬКИЙ» (ПОЛТАВСЬКА ОБЛАСТЬ)

О. Р. ХАННАНОВА

Полтавський національний педагогічний університет імені В. Г. Короленка,
вул. Остроградського, 2, м. Полтава, 36000
e-mail: smolar@inbox.ru

У статті наведено результати опрацювання гербарних колекцій та аналізу літературних відомостей щодо дослідження фіторізноманітності природно-заповідної території, яка охороняється у статусі регіонального ландшафтного парку «Гадяцький». Умовно виділено чотири етапи ботанічних досліджень регіону. На першому (середина XVIII – початок XX ст.) відбувається накопичення флористичних даних та певні спроби опису і класифікації рослинного покриву окремих місцевостей. Другий період (середина XX ст. – до 80-років XX ст.) характеризується фрагментарними дослідженнями окремих типів рослинності, накопиченням фітоценотичних матеріалів та розробкою класифікації рослинності регіону на домінантній основі. Третій період (кінець XX ст. – початок XXI ст.) – пов'язаний у цілому з комплексними дослідженнями рослинного світу регіону з метою аналізу флори та забезпечення збереження фіторізноманітності в природно-заповідній та регіональній екологічній мережах. Саме у цей період активно здійснюється оптимізація природно-заповідної мережі Полтавської області. Створено ряд природно-заповідних об'єктів, які пізніше увійшли до складу парку. На території дослідження здійснювалося спеціалізоване вивчення ліхено- та бріофлори. У цілому, впродовж вказаних етапів фіторізноманітність регіону досліджувалась фрагментарно у контексті окремих місцевостей, наявності рідкісних видів. Четвертий період (кінець 2011 р. до цього часу) включає створення парку на основі високих показників наукової цінності (унікальності та репрезентативності), вагомого народно-господарського значення та значного рекреаційного потенціалу території. Цей етап характеризується детальним комплексним вивченням фіторізноманітності парку із метою встановлення повного складу, структури флори та проведення її аналізів, характеристики синтаксономічного складу рослинності, здійснення созологічної оцінки рослинного світу регіону та ін. На кожному етапі зазначено роль вітчизняних учених у вивченні рослинного світу регіону. Визначено основні напрями ботанічних досліджень у регіоні – флористичний (накопичення відомостей про видовий флористичний склад вищих судинних рослин регіону), ценотичний (пов'язаний із проведенням фрагментарних досліджень, за результатами яких зведено відомості про деякі типи рослинності регіону), ресурсознавчий (вивчення поширення та визначення ресурсного потенціалу лікарських рослин у регіоні), демекологічний (пов'язаний із проведенням популяційних досліджень рідкісних видів рослин – деяких стенових та лісових ефемероїдів), созологічний (вивчення біолого-екологічних особливостей рідкісних рослин, підтвердження відомих та виявлення нових місцезнаходжень із метою оптимізації природно-заповідної мережі району, розбудови регіональної екологічної мережі. Визначено пріоритетні напрями у проведенні подальших досліджень фіторізноманітності регіонального ландшафтного парку «Гадяцький».

Ключові слова: рослинний світ, фіторізноманітність, природно-заповідний фонд, созологічні дослідження, регіональний ландшафтний парк «Гадяцький».

Вступ. У структурі природно-заповідного фонду Полтавської області в останні 20 років з'явилися рекреаційні природно-заповідні території, зокрема регіональні ландшафтні парки, що є цінними осередками збереження біорізноманітності в цілому, у тому числі й рослинного світу. На Полтавщині такими є регіональні ландшафтні парки «Диканський», «Кременчуцькі плавні», «Нижньоворсклянський», «Кагамлицький». У 2011 році природно-заповідний фонд області поповнився регіональним ландшафтним парком (далі – РЛП) «Гадяцький», який створений у Гадяцькому районі на площі 12803,3 га.

Парк характеризується високими показниками репрезентативності та унікальності

рослинного світу. У визначених межах парку долина р. Псел представлена всіма характерними елементами – заплавою, корінним берегом, терасами, в тому числі боровою з типовими та унікальними природними комплексами та об'єктами. Рослинний світ парку у цілому відображає характер північного Лісостепу.

Фіторізноманітність парку нами вивчається у флористичному, геоботанічному та фітосозологічному відношенні. Рослинний світ територій, які включені до меж парку та суміжні з ним, вивчались у різні роки в контексті дослідження фіторізноманітності полтавського регіону, Лівобережного Придніпров'я та України в цілому.

Результати та їх обговорення. В історії ботанічного вивчення регіону умовно виділено чотири етапи: перший (середина XVIII – початок XX ст.); другий період (середина XX ст. до 80-років XX ст.); третій період – (кінець XX ст. – початок XXI ст.; до 2011 р.), четвертий період (сучасний) – (кінець 2011 р. до цього часу). У цілому вони співпадають із історією ботанічних досліджень на території Лівобережного Придніпров'я (Байрак, Стецюк, 2008) та Полтавщини.

Початковою ланкою флористичних досліджень у регіоні на першому етапі були академічні експедиції в середині XVIII ст., проведені за ініціативи Російської Академії наук. Серед учасників слід відмітити видатних учених П.С. Палласа та В.Ф. Зуєва, якими надано інформацію для багатьох флористичних зведень. Значний флористичний матеріал щодо Полтавської області отримано за результатами експедицій 1849-1895 рр. (Траутфетгер, 1853; Монтрезор, 1886; Рогович, 1869; Шмальгаузен, 1895). Наведено місцезнаходження значної кількості рідкісних рослин Полтавщини, складено списки дикорослих видів, створено бібліографічні зведення із вивчення природи Полтавської губернії. Аналізує стан поширення лікарських рослин на території Полтавської губернії О.М. Августинович, зокрема, для досліджуваної території вказує 111 видів дикорослих лікарських рослин (Августинович, 1852). Наступний потік інформації пов'язаний із результатами досліджень експедиції, організованої Лісовим департаментом для природничо-історичного дослідження Полтавської губернії, учасниками якої були В.В. Докучаєв, А.М. Краснов, Е.В. Опоков (Краснов, 1891; Опоков, 1905). Зокрема, флористичну різноманітність Гадяцького уз'їзду за дорученням А.М. Краснова досліджував Н.О. Левицький (Краснов, 1891). Експедиція займалася вивченням багатьох питань: походження, типізації ґрунтів та виявлення взаємозв'язків типів ґрунту і рослинного покриву на них; вивчення флори Полтавщини; характеристика основних типів рослинності та ін.

Другий період в історії досліджень (початок XX ст. до 80-років XX ст.) визначається діяльністю полтавських вчених А.М. Краснова, С.О. Іллічевського, М.Ф. Ніколаєва, Ф.К. Курінного, а також Ю.Д. Клеопова, Г.І. Білика та ін. Фрагментарно флористико-геоботанічні дослідження території проводилися при розробці геоботанічного районування України та підготовці монографії «Рослинність УРСР». Ґрунтовний матеріал щодо рослинного покриву Лівобережного Лісостепу отримано за результатами досліджень О.П. Мринського

(Мринський, 1971). Рослинність соснових насаджень Гадяцького району, що знаходиться в межах Лівобережного Лісостепу, вивчав В.К. М'якушко (1972). Лучну рослинність заплави р. Псел у 1958-1979 рр. досліджує Д.Я. Афанасьєв. Автор вважає, що «всі сучасні заплавні луки р. Псла є вторинними, синантропними утворами, які виникли на місці лісів» (Афанасьєв, 1987). Д.Я. Афанасьєв вказує на необхідність охорони заплавних лук р. Псел, де внаслідок нераціонального використання лучних угідь та під впливом еколого-едафічних змін відбувається ксерофітизація, деградація, зрідження лучних травостоїв та засолення лучних місцезростань.

Вагоме значення мають результати досліджень Д.С. Івашина, Р.В. Ганжі, О.А. Стасілюнас, Т.П. Голови, М.Д. Литвинової. Вони вказують на наявність ряду «борових видів, виявлених у великих лісах по р. Пслу (між с. Бобрик і с. Вельбівка)», що входять на сьогодні до складу парку. Зокрема, дослідниками виявлено «значні зарості *Juniperus communis* L., які займають десятки гектарів у суборах на другій терасі р. Псла в Гадяцькому районі» (Івашин та ін., 1985). Також вони вказують на території Гадяцького району місцезнаходження *Calluna vulgaris* (L.) Hull., що на сьогодні є рідкісною рослиною для Полтавської області. Роботи соціологічного спрямування Д.С. Івашина, Р.В. Ганжі, О.А. Стасілюнас, Т.П. Голови, М.Д. Литвинової лягли в основу створення ряду природно-заповідних об'єктів Полтавської області в цілому та Гадяцького району, зокрема, для збереження типових та унікальних природних комплексів і об'єктів. За їх обґрунтуваннями були створені на території Гадяцького району одні з перших природно-заповідних об'єктів. Це – заповідні урочища «Гадяцький бір» (25 га), «Гадяцький бір» (48 га) та «Масюкове». Вони й на сьогодні є еталонними осередками збереженої природи на Полтавщині (Івашин та ін., 1990).

Третій етап ботанічних досліджень у регіоні починається із 80-х років XX ст. В цей час на даній території здійснюються ліхенологічні (О.М. Байрак) (Байрак, 1987) та бріологічні (С.В. Гапон) дослідження (Гапон, 1993).

Вагомий матеріал щодо дослідження рослинного покриву Полтавщини у 90-х рр. XX ст. отриманий за результатами здійснення експедицій із метою оптимізації природно-заповідної мережі Полтавської області групою у складі О.І. Прядко (м. Київ), О.М. Байрак, Н.О. Стецюк, О.Ю. Недоруба, І.А. Коротченко (Полтавський державний педінститут). Вони здійснювалися під керівництвом Т.Л. Андрієнко,

відомого вченого України, доктора біологічних наук, професора, завідувача Міжвідомчою комплексною лабораторією наукових основ заповідної справи НАН України та Мінекоприроди України. Учасниками експедиції було досліджено рослинний світ існуючих природно-заповідних територій та розроблено наукові обґрунтування доцільності створення для перспективних. За їх результатами створено ряд природно-заповідних об'єктів у Гадяцькому районі: ботанічні заказники «Великий ліс», «Терновий кущ», «Саранчина долина», «Жуківщина», «Гадяцький бір», «Дубина», «Зозулинцеві луки», «Книшівська гора», «Русиново-дубина», ландшафтні заказники «Пісоцько-Конькове» та «Весело-Мирське», гідрологічний заказник «Болото Моховате», заповідні урочища «Гнилуша», «Гадяцький бір», «Лагузин яр», «Сосновий гай», «Забрід», «Безвіднянське», «Гай-Займи», «Шпакове», «Яри-Загатки», «Голотовщина», «Перевалкове», «Діброво-Кобрієве» та ботанічні пам'ятки природи – вікові дерева дуба звичайного (у м. Гадяч, с. Краснознаменка, на території Краснолуцького лісництва (кв. 26), садиба Краснолуцького лісництва (кв. 18, вид 19), а також «Березовий гайок» (Вельбівське лісництво, кв. 88, вид 4). Більшість із них пізніше (у 2011 р.) увійшли до складу РЛП «Гадяцький».

Зібраний у ході проведених досліджень матеріал про фіторізноманітність Гадяцького району використано О.М. Байрак для укладання конспекту флори судинних рослин Лівобережного Придніпров'я (Байрак, 1997). У ряді інших робіт О.М. Байрак (Байрак, 1997, 1999, 2002) флористичні відомості із Гадяцького району наводяться в контексті аналізу стану флори та рослинності Лівобережного Придніпров'я, дослідження особливостей ценофлор, уточнення флористичного районування.

Відомості про місцезнаходження, чисельність, еколого-біологічні особливості рідкісних видів Гадяцького району враховано при укладанні списків рідкісних та зникаючих рослин Полтавської області, який затверджено в 1995 р. рішенням обласної ради народних депутатів. Інформацію про поширення та охорону цих видів рослин та тих, що занесені до Червоної книги України, наведено в колективній монографії «Заповідна краса Полтавщини» (Андрієнко та ін., 1996). Дещо пізніше інформацію про біологічні, екологічні, ценотичні особливості та стан охорони деяких рідкісних видів рослин у природно-заповідній мережі Гадяцького району висвітлено у виданні «Збережи, де стоїш, де живеш. По сторінках Червоної книги Полтавщини. Рослинний світ» (1998).

Результати флористичного, систематичного, еколого-ценотичного, географічного аналізів ліхенофлори, бріофлори та ґрунтової альгофлори Лівобережного Лісостепу, у тому числі й Гадяцького району, наведено у монографії Байрак О.М., Гапон С.В., Леванець А.А. «Безсудинні рослини Лівобережного Лісостепу України (ґрунтові водорості, лишайники, мохоподібні)». Авторами відмічено загальні особливості сучасного стану флори безсудинних рослин регіону, розглянуті питання охорони лишайників, мохоподібних, ґрунтових водоростей, складено їх ановані списки з наведенням еколого-ценотичних, хорологічних, созологічних характеристик (Байрак та ін., 1998).

Інформацію про біологічні, екологічні, ценотичні особливості весняних ефемероїдів Полтавської області із зазначенням місцезнаходжень їх на території Гадяцького району наведено у монографії О.М. Байрак, В.М. Самородова, Н.О. Стецюк та ін. «В гаю заграли проліски. Розповіді про весняні рослини Полтавщини» (2001).

Накопичений на початку ХХІ ст. з території Гадяцького району вагомий матеріал щодо біорізноманітності, зокрема, раритетної компоненти, створена природно-заповідна мережа району із 47 об'єктів, більшість яких щільно розміщені в долинах річок Псла та Хоролу, обумовили можливість створення регіонального ландшафтного парку. Вперше інформація про цей поліфункціональний об'єкт як перспективний наводиться у монографії О.М. Байрак, М.І. Проскурні, Н.О. Стецюк, М.В. Слюсара, Є.Ф. Томіна, О.М. Гостудима «Еталони природи Полтавщини» ще на етапі розробки його концепції (Байрак та ін., 2003).

У 2005 році затверджується новий перелік регіонально рідкісних рослин Полтавської області 16 сесією обласної Ради від 23.03.2005 р., які разом із видами, занесеними до Червоної книги України, схарактеризовано О.М. Байрак та Н.О. Стецюк у «Атласі рідкісних і зникаючих рослин Полтавщини» (Байрак, Стецюк, 2005) із зазначенням відомостей про статус охорони, ареал, еколого-ценотичну приуроченість, життєву форму, чисельність популяції, антропогенний вплив; подається карта поширення раритетних видів. Із території Гадяцького району в цьому списку наводиться 83 рідкісних види.

У 2006 році для забезпечення розбудови регіональної екологічної мережі з ініціативи наукової групи викладачів природничого факультету Полтавського національного педагогічного університету імені В.Г. Короленка (у складі О.М. Байрак, Н.О. Стецюк, С.В. Гапон,

М.В. Слюсара, І.С. Беседіної) підготовлено наукове обґрунтування доцільності створення на території Гадяцького району регіонального ландшафтного парку, який би об'єднав ряд існуючих природно-заповідних територій і вирішив проблему збереження біорізноманітності суміжних, не менш цінних природних та антропогенно-природних екосистем району. Попередньо проведено комплексні соціологічні дослідження біорізноманітності даної території і визначені показники наукової, рекреаційної, народно-господарської та інших цінностей (Стецюк та ін., 2008).

Інформацію про фіторізноманітність Гадяцького району враховано при укладанні О.М. Байрак та Н.О. Стецюк «Конспекту флори Полтавщини. Вищі судинні рослини» (Байрак, Стецюк, 2008). Лише у Гадяцькому районі відомі місцезнаходження таких представників *Diphasiastrum complanatum* (L.) Holub (соснові ліси Вельбівського та Лютенського лісництв), *Huperzia selago* (L.) Bernh. ex Schrank et Mart (сосновий ліс на боровій терасі р. Псел, Вельбівське лісництво), *Asplenium trichomanes* L. (у нетиповому місцезростанні: на стінці штучної канами-розмежувача в сосновому лісі, Вельбівське лісництво).

Особливості поширення та стан популяцій деяких рідкісних степових ефемероїдів на територіях, які ввійшли до складу парку, вивчалися Т.В. Криворучко (2003, 2004, 2008; Байрак, Криворучко, 2004; Криворучко, 2005), лісові ефемероїди досліджувалися І.А. Грицай (2006, 2007, 2008). Зокрема, вивчено вікову структуру та здійснено еколого-ценотичну характеристику популяцій *Scilla siberica* Haw. В околицях с. Харківці Гадяцького району виявлено *S. siberica* ф. *alba* Akkinf. із блакитними пиляками, хоча у типових білокрітківих форм пиляки білі. Науково цінним є місцезнаходження особин *S. siberica* з фіолетовою оцвіткою, що виявлено у лісах та лісових масивах околиць м. Гадяч. Грицай І.А. припускає, що це різновид *S. siberica* var. *phoeniceum* (Грицай, 2007).

Останні 15 років фітосоціологічні дослідження на ділянках із природним та напівприродним рослинним покривом Гадяцького району здійснює Н.О. Смоляр. Автором виділені осередки фіторізноманітності із зазначенням особливостей екотопів та характеристикою основних флористичних ядер (Стецюк, 2008). Декілька праць (Стецюк, 2009; Смоляр, Ханнанова, 2012) присвячено бореальній фіторізноманітності Лівобережного Придніпров'я, в яких чітко виділяється характеристика Гадяцького бореального

флористичного ядра як одного із чотирьох таких ядер на території Полтавської області.

Біологічні та екологічні особливості лучних фітоценозів на заплаві р. Псел вивчає Л.Д. Орлова (Орлова та ін., 1998; Орлова, Коваль, 2007). Зокрема, на території Гадяцького району здійснено обстеження заплавної (окол. с. Вельбівка, с. Веприк, с. Рашівка) та суходільних (окол. с. Долинка, с. Глибока Долина) лук. За результатами дослідження складено характеристику едафотопів даних лучних біогеоценозів, що входять до Псільського профілю регіону (Орлова, 2011). Л.Д. Орлова вивчає флористичний склад, досліджує біоморфологічні особливості, динаміку хімічного складу та продуктивності лучних фітоценозів, здійснює їх екоморфологічний аналіз, у аспекті вивчення лучних фітоценозів Лівобережного Лісостепу України.

Мохоподібні на території Гадяцького району досліджувалися С.В. Гапон (2006, 2007). Дослідження проводилися в двох напрямках: бріофлористичному та бріоценотичному. Як свідчать результати флористичних досліджень (Стецюк та ін., 2008), бріофлора проєктованого парку є досить багатонародною і складає 33,3% від усієї бріофлори Лівобережного Лісостепу України. Вона характеризується як неморально-бореальна з перевагою бореальних елементів.

Із 2009 року рослинний покрив лісів Гадяцького району вивчає Д.А. Давидов (Давидов, 2013), а з 2010 року адвентивну фракцію флори досліджуваної території – Т.С. Двірна (Двірна, 2012) в контексті вивчення Полтавсько-Роменського геоботанічного округу.

Таким чином накопичена інформація про високі показники біорізноманітності досліджуваної території, відповідність їх критеріям наукової цінності (репрезентативності та унікальності), необхідність реалізації концепцій оптимізації природно-заповідної та розбудови регіональної екомережі Полтавщини дозволили створити у 2011 р. РЛП «Гадяцький» відповідно до Рішення VII сесії Полтавської обласної ради від 07.12.2011 «Про організацію, оголошення та створення, зміну меж, категорії територій та об'єктів природно-заповідного фонду Полтавської області».

Зі створенням парку починається четвертий етап досліджень (сучасний). У публікаціях, присвячених рослинному світу РЛП «Гадяцький» на етапі його проєктування, характеризується флора у загальному, більше уваги надається соціологічним аспектам (Ханнанова, Стецюк, 2008; Ханнанова, 2008). До того ж, ландшафтну структуру території парку вивчає В.В. Мовчан. Автор виділяє п'ять типів

ландшафтних місцевостей, що включають 12 видів ландшафтних урочищ (Мовчан, 2013). В.В. Мовчан наголошує на необхідності оптимізації ландшафтної структури РЛП «Гадяцький» для реалізації принципу функціональної взаємозв'язаності та закономірностей розвитку географічної оболонки, зокрема цілісності.

На сучасному етапі нами здійснюється комплексне вивчення фіторізноманітності парку (Стецюк, Ханнанова, 2011, 2012) з метою встановлення закономірностей будови, функціонування і динаміки її окремих елементів, виявлення зв'язків з іншими регіонами, наукового обґрунтування шляхів раціонального використання й охорони гено- та фітоценофону, що в свою чергу має велике природоохоронне значення. Зібрані нами гербарні зразки представників флори Гадяцького району, зокрема, рідкісних, зберігаються на кафедрі екології та охорони довкілля Полтавського національного педагогічного університету імені В.Г. Короленка, у фондах Полтавського краєзнавчого музею та в Гербарії Інституту ботаніки НАН України (KW).

Висновки. В історії ботанічного вивчення регіону умовно виділяємо чотири етапи: перший (середина XVIII – початок XX ст.) характеризується накопиченням флористичних даних та першими спробами опису і класифікації рослинного покриву окремих місцевостей; другий період (середина XIX ст. до 80-років XX ст.) характеризується фрагментарними дослідженнями окремих типів рослинності, накопиченням фітоценотичних матеріалів та розробкою класифікації рослинності регіону на домінуючій основі; третій період – (кінець XX ст. – початок XXI ст.; до 2011 р.) – пов'язаний у цілому з комплексними дослідженнями рослинного світу регіону з метою аналізу флори та забезпечення збереження фіторізноманітності в природно-заповідній та регіональній екологічній мережах, четвертий період – (сучасний) зорієнтований на детальне комплексне вивчення фіторізноманітності парку із метою встановлення повного складу, структури флори та проведення її аналізів, характеристику синтаксономічного складу рослинності, здійснення екологічної оцінки рослинного світу регіону та ін.

Наявна проаналізована інформація щодо фіторізноманітності парку є важливим підґрунтям для подальших ботаніко-екологічних досліджень як у межах парку так і на суміжних територіях, пріоритетними напрямками яких є: проведення інвентаризації флори, що дозволило б повною мірою встановити флористичне багатство природних комплексів долини річки Псел у межах

досліджуваної території; з'ясування динаміки рослинного покриву; розробка класифікації рослинності та надання оцінки її раритетного ценофону; картування місцезнаходжень рідкісних і зникаючих видів та угруповань на території парку. На сучасному етапі нами здійснюються моніторингові та популяційні дослідження, насамперед рідкісних рослин та бореальних, які знаходяться у парку на південній межі свого суцільного поширення. Отримані флористичні відомості використовуються для ведення кадастру біорізноманітності полтавського регіону, розробки механізмів збереження та охорони рідкісних рослин, розбудови регіональної екомережі.

Список літератури:

1. Августинович О. М. О дикорастущих врачебных растениях Полтавской губернии. – К., 1852. – 98 с.
2. Андрієнко Т. Л., Байрак О.М., Залудяк М.І. та ін. Заповідна краса Полтавщини. – Полтава : Астрєя, 1996. – 188 с.
3. Афанасьєв Д.Я. Походження та шляхи формування і розвитку заплавної лук середньої та нижньої р. Псла // Український ботанічний журнал. – К., 1987. – Т. 43. – №1. – С. 19-25.
4. Байрак О.М. Екологічна характеристика ценофлор Лівобережного Придніпров'я // Український ботанічний журнал. – 1999. – Т. 56, № 4. – С. 393-402.
5. Байрак О. М. Конспект флори Лівобережного Придніпров'я. Судинні рослини. – Полтава : Верстка, 1997. – 164 с.
6. Байрак О.М. Синтаксономія соснових лісів Лівобережного Придніпров'я та участь в них епігейних лишайників // Укр. фітоцен. збірник. – 1997. – Сер. А., вип. №1. – С. 85-92.
7. Байрак О.М. Флористичне районування Лівобережного Придніпров'я // Український ботанічний журнал. – 2002. – Т. 59, № 4. – С. 391-399.
8. Байрак Е. Н. Лишайники Левобережной Лесостепи Украины : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.05 «Ботаніка». – К., 1987. – 20с.
9. Байрак О.М., Гапон С.В., Леванець А.А. Безсудинні рослини Лівобережного Лісостепу України (грунтові водорості, лишайники, мохоподібні). – Полтава: Верстка, 1998. – 160 с.
10. Байрак О.М., Проскурня М.І., Стецюк Н.О. та ін. Еталони природи Полтавщини. Розповіді про заповідні території. Науково-популярне видання. – Полтава : Верстка, 2003. – 212 с.
11. Байрак О.М., Стецюк Н.О. Атлас рідкісних і зникаючих рослин Полтавщини. – Полтава : Верстка, 2005. – 248 с.
12. Байрак О.М., Криворучко Т.В. Еколого-ценотичні особливості рідкісних ефемероїдів Полтавщини // Збірник наук. праць Полтавського державного педагогічного університету імені В.Г. Короленка. Серія «Екологія. Біологічні науки». – Полтава, 2004. – С. 174-180.

13. Байрак О.М., стецюк Н.О. Конспект флори Полтавщини. Вищі судинні рослини: Монографія – Полтава : Верстка, 2008. – 196 с.
14. Гапон С.В. Мохоподібні Лівобережного Лісостепу України : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.05 «Ботаніка» – К., 1993. – 23с.
15. Грицай І.А. Морфологічна мінливість популяцій *Scilla sibirica* Haw. на території Полтавської області // Матеріали Міжнародн. Ліннеївських читань присвячених 330-літтю з дня народження основоположника наукової ботаніки Карла Ліннея. – Луганськ, 11-15 червня, 2007. – С. 33-35.
16. Давидов Д.А. Лісова рослинність Роменсько-Полтавського геоботанічного округу (Україна): синтаксономія, антропогенні зміни та охорона : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.05 «Ботаніка» – К., 2013. – 20 с.
17. Двірна Т.С. Адвентивна фракція флори Роменсько-Полтавського геоботанічного округу // Актуальні проблеми ботаніки та екології: Матеріали міжнародної конференції молодих учених (Ужгород, 19-23 вересня 2012 р.). – Ужгород : Вид-во ФОП Бреза А.Е., 2012. – С. 81-82.
18. Івашин Д.С., Ганжа Р.В., Стасілюнас О.А., Голова Т.П., Литвинова М.Д. Рідкісні рослини південно-східної частини Лівобережного Лісостепу України // Український ботанічний журнал. – К., 1985. – Т. 42. – №1. – С.73-75.
19. Івашин Д.С., Самородов В.М., Буйдін В.В. та ін. Щоб росли горищвіти : розповіді про рідкісні рослини та тварини Полтавщини. – Полтава, 1990. – 70 с.
20. Краснов А. Н. Матеріали для флори Полтавской губернии // Труды общества Испытателей природы Харьковского университета. – Харьков, 1891. – 116 с.
21. Криворучко Т.В. Особливості поширення, вікові спектри та морфологічні показники ценопопуляцій *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. деяких заповідних територій у межах Полтавської області // Збірник наукових праць Полтавського державного педагогічного університету імені В.Г. Короленка. Серія «Екологія. Біологічні науки». – Вип. 4 (43). – Полтава, 2005. – С. 45-52.
22. Мовчан В.В. Регіональний ландшафтний парк «Гадяцький»: структура та шляхи оптимізації // Наукові записки Сумського державного педагогічного університету ім. А.С.Макаренка. Географічні науки. – Вип. 4. – Суми : СумДПУ імені А.С.Макаренка, 2013. – С. 57-63.
23. Монтрезор В. В. Обзорение растений, входящих в состав флоры губерний Киевского учебного округа: Киевской, Подольской, Волынской, Черниговской и Полтавской // Записки Киевского общества естествоиспытателей – К., 1886 – 1887. – Вип. 1, 2.
24. Мринский О. П. Ботанико-географический очерк Левобережной Лесостепи Украины : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. биол. наук – К., 1971. – 33 с.
25. Оппоковъ Е. Ръчные долины Полтавской губернии. Очеркъ изследованій въ Полтавской губернии. Экспедиція по орошенію на югъ Россіи и западной Экспедиція по осушенію болотъ. Часть 2. Частное описание рчныхъ долинъ Полтавской губернии, с указаниемъ главнѣйшихъ необходимыхъ въ нихъ меліорацій – СПб. : Т-во Художественной печати, 1905. – 475 с.
26. Орлова Л.Д., Могильник Ж.В., Троцький М.Я. Дослідження кормової цінності луків околиць с. Вельбівки Гадяцького району // П'яті Каришинські читання: міжвуз. наук.-метод. конф. з проблем природничих наук – Полтава, 1998. – С.91-93.
27. Орлова Л.Д., Коваль О.В. Червонокнижні види рослин околиць м. Гадяч // Проблеми відтворення та охорони біорізноманіття: матеріали Всеукр. студ. наук.-практ. конф. – Полтава, 2007. – С. 147-149.
28. Орлова Л.Д. Біоекологічні особливості лучних фітоценозів Лівобережного Лісостепу України (продуктивність та раціональне використання): Монографія. – Полтава : ПНПУ імені В.Г. Короленка, 2011. – 278 с.
29. Рогович А. С. Обзорение семенных и высших споровых растений, входящих в состав флоры губерний Киевского учебного округа: Волынской, Подольской, Киевской, Черниговской и Полтавской – К., 1869. – 296 с.
30. Стецюк Н.О., Гапон С.В., Беседіна І.С., Слюсар М.В. Загальні показники біорізноманітності проєктованого регіонального ландшафтного парку «Гадяцький» // Біорізноманіття: теорія, практика та методичні аспекти вивчення в загальноосвітній та вищій школі : М-ли Міжнародної наук.-практ. конференції. – Полтава: ПДПУ, 2008. – С. 256-261.
31. Стецюк Н.О. Еколого-ценотична та флористична характеристика осередків раритетної фіторізноманітності Гадяцького району (Полтавська область) // Збірник наукових праць Полтавського державного педагогічного університету імені В.Г. Короленка. Серія «Екологія. Біологічні науки». – Випуск 5 (63). – Полтава, 2008. – С. 118-126.
32. Стецюк Н.О. Збереження бореальних фітосистем у регіональній екологічній мережі (Полтавська область) // Збірник наукових праць Полтавського державного педагогічного університету імені В.Г. Короленка. Серія «Екологія. Біологічні науки». – Вип. 1. – Полтава, 2009. – С. 73-78.
33. Стецюк Н.А., Ханнанова О.Р. Флоросоциологическая характеристика проектированного регионального ландшафтного парка «Гадяцкий» (Украина, Полтавская область) // Структурно-функциональная организация и динамика растительного Покрова: М-лы Всероссийской науч.-практ. конф. с международным участием. – Самара, 2011. – С. 56-59.
34. Смоляр Н.О., Ханнанова О.Р. Раритетний флорофонд вищих спорових судинних рослин регіонального ландшафтного парку «Гадяцький» (Полтавська область) // Рослинний світ у Червоній книзі України: впровадження глобальної стратегії збереження рослин: м-ли II Міжнародної наукової конференції. – Київ: ПАЛИВОДА А. В., 2012. – С.304-308.
35. Траутфеттер Е. Р. Обзорение естественных семейств, входящих в состав флоры губерний Киевского учебного округа. Ботаника. Часть систематическая. – 1853. – 37 с.

36. Ханнанова О.Р., Стецюк Н.О. Обґрунтування доцільності створення РЛП «Гадяцький» в Полтавській області // Освіта, наука, релігія на захисті довкілля : М-ли Всеукраїнської студентської наук.-практ. конференції. – Київ : Всеукраїнська екологічна ліга, 2008. – С. 56-59.
37. Ханнанова О.Р. Перспективи створення регіонального ландшафтного парку «Гадяцький» (Полтавська область) // Екологічна безпека держави: Матер. Всеукр. наук. конф. студентів та аспірантів. – К., 2008. – С. 225-226.
38. Шмальгаузен И.Ф. Флора Средней и Южной России, Крыма и Северного Кавказа: Руководство для определения семенных и высших споровых растений – К., 1895-1897. – Т. 1-2.

References:

1. Avhustynovych O. M. O dykorastushchikh vrachebnykh rastenniakh Poltavskoi gubernii. – K., 1852. – 98 s.
2. Andriienko T. L., Bairak O.M., Zaludiak M.I. Zapovidna краса Poltavshchyny. – Poltava : Astreia, 1996. – 188 s.
3. Afanasiev D.Ya. Pokhodzhennya ta shlyakhy formuvannia i rozvytku zaplavnykh luk serednoyi ta nyzhnoyi techiyi r. Psla // Ukrayinskyi botanichnyi zhurnal. – K., 1987. – Т. 43. – №1. – С. 19-25.
4. Bairak O.M. Ekolohichna kharakterystyka tsenoflor Livoberezhnogo Prydniprovia // Ukrayinskyi botanichnyi zhurnal. – 1999. – Т. 56, № 4. – С. 393-402.
5. Bairak O. M. Konspekt flory Livoberezhnogo Prydniprovia. Sudynni roslyny. – Poltava : Verstka, 1997. – 164 s.
6. Bairak O.M. Syntaksonomiia sosnovykh lisiv Livoberezhnogo Prydniprovia ta uchast v nykh epiheinykh lyshainykyv // Ukr. fitotsen. zbirnyk. – 1997. – Ser. A., vyp. №1. – С. 85-92.
7. Bairak O. M. Florstychnye raionuvannia Livoberezhnogo Prydniprovia // Ukrayinskyi botanichnyi zhurnal. – 2002. – Т. 59, № 4. – С. 391-399.
8. Bairak E. N. Lyshainyky Levoberezhnoi Lesostepy Ukrainy : avtoref. dys. na zdobuttia nauk. stupenia kand. biol. nauk : spets. 03.00.05 «Botanika». – K., 1987. – 20 s.
9. Bairak O.M., Hapon S.V., Levanets A.A. Besudynni roslyny Livoberezhnogo Lisostepu Ukrainy (hruntovi vodorosti, lyshainyky, mokhopodibni). – Poltava : Verstka, 1998. – 160 s.
10. Bairak O.M., Proskurnia M.I., Stetsiuk N.O. Etalony pryrody Poltavshchyny. Rozpovidi pro zapovidni terytorii. Naukovo-populiarne vydannia. – Poltava : Verstka, 2003. – 212 s.
11. Bairak O.M., Stetsiuk N.O. Atlas ridkisnykh i znykaiuchykh roslyn Poltavshchyny. – Poltava : Verstka, 2005. – 248 s.
12. Bairak O.M., Kryvoruchko T.V. Ekoloho-tsenotychni osoblyvosti ridkisnykh efemeroidiv Poltavshchyny // Zbirnyk nauk. prats Poltavskoho derzhavnogo pedahohichnogo universytetu imeni V.H. Korolenka. Serii «Ekolohiia. Biolohichni nauky». – Poltava, 2004. – S. 174-180.
13. Bairak O.M., Stetsiuk N.O. Konspekt flory Poltavshchyny. Vyshchi sudynni roslyny: Monohrafiia – Poltava : Verstka, 2008. – 196 s.

14. Hapon S.V. Mokhopodibni Livoberezhnogo Lisostepu Ukrainy : avtoref. dys. na zdobuttia nauk. stupenia kand. biol. nauk : spets. 03.00.05 «Botanika» – K., 1993. – 23s.
15. Hrytsai I.A. Morfolohichna minlyvist populiatсии Scilla siberica Haw. na terytorii Poltavskoi oblasti // Materialy mizhnarodn. Linneivskykh chytan prysviachenykh 330-littiu z dnia narodzhennia osnovopolozhnyka naukovoï botaniky Karla Linneia. – Luhansk, 2007. – S. 33-35.
16. Davydov D.A. Lisova roslynnist Romensko-Poltavskoho heobotanichnogo okruhu (Ukraina): syntaksonomiia, antropohenni zminy ta okhorona : avtoref. dys. na zdobuttia nauk. stupenia kand. biol. nauk : spets. 03.00.05 «Botanika» – K., 2013. – 20 s.
17. Dvirna T.S. Adventyvna fraktsiia flory Romensko-Poltavskoho heobotanichnogo okruhu // Aktualni problemy botaniky ta ekolohii: Materialy mizhnarod. konf. molodykh uchenykh. – Uzhhorod : Vyd-vo FOP Breza A.E., 2012. – S. 81-82.
18. Ivashyn D.S., Hanzha R.V., Stasiliunas O.A., Holova T.P., Lytvynova M.D. Ridkisini roslyny pivdenno-skhidnoi chastyny Livoberezhnogo Lisostepu Ukrainy // Ukrayinskyi botanichnyi zhurnal. – K., 1985. – Т. 42. – №1. – S.73-75.
19. Ivashyn D.S., Samorodov V.M., Buidin V.V. Shchob rosly horytsvity : rozpovidi pro ridkisini roslyny ta tvaryny Poltavshchyny. – Poltava, 1990. – 70 s.
20. Krasnov A. N. Materialy dlia flory Poltavskoi gubernii // Trudy obshchestva Ispitatelei pryrody Kharkovskoho unyversyteta. – Kharkov, 1891. – 116 s.
21. Kryvoruchko T. V. Osoblyvosti poshyrennia, vikovi spektry ta morfolohichni pokaznyky tsenopopuliatсии Bulbocodium versicolor (Ker-Gawl.) Spreng. deiaknykh zapovidnykh terytorii u mezhakh Poltavskoi oblasti // Zbirnyk naukovykh prats Poltavskoho derzhavnogo pedahohichnogo universytetu imeni V.H. Korolenka. Serii «Ekolohiia. Biolohichni nauky». – Vyp. 4 (43). – Poltava, 2005. – S. 45-52.
22. Movchan V.V. Rehionalnyi landshaftnyi park «Hadiatskyi»: struktura ta shliakhy optymizatsii // Naukovi zapysky Sumskoho derzhavnogo pedahohichnogo universytetu im. A.S. Makarenka. Heohrafichni nauky. – Vyp. 4. – Sumy : SumDPU imeni A.S. Makarenka, 2013. – S. 57-63.
23. Montrezor V. V. Obozrenie rastenii, vkhodiashchykh v sostav flory gubernyi Kyeveskoho uchebnogo okruha: Kyeveskoi, Podolskoi, Volynskoi, Chernyhovskoi i Poltavskoi // Zapysky Kyeveskoho obshchestva estestvoispitelei. – K., 1886 – 1887. – Vyp. 1, 2.
24. Mrynskyi O. P. Botanyko-heohrafycheskyi ocherk Levoberezhnoi Lesostepy Ukrainy : avtoref. dys. na soiskanie uchen. stepeny kand. biol. nauk – K., 1971. – 33 s.
25. Oppokov E. Rchnyie doliny Poltavskoi gubernii. Ocherk izsledovaniï v Poltavskoi gubernii. Ekspeditsii po orosheniiu nay uh Rossii i zapadnoi. Ekspeditsii po osusheniiu bolot. Chast 2. Chastnoe opisanie rchnykh dolin Poltavskoi gubernii, s ukazaniem glavnishikh neobkhdimnykh v nikh melioratsii. – SPb. : T-vo Khudozhestvennoi pečati, 1905. – 475 s.
26. Orlova L.D., Mohylnyk Zh.V., Trotskyi M.Ya. Doslidzhennia kormovoi tsinnosti lukiv okolyts s. Velbivky Hadiatskoho raionu // Piati Karyshynski

- chytannia: mizhvuz. nauk.-metod. konf. z problem pryrodnych nauk – Poltava, 1998. – S.91-93.
27. Orlova L.D., Koval O.V. Chervonoknyzhni vydy roslyn okolyts m. Hadiach // Problemy vidtvorennia ta okhorony bioriznomanittia: materialy Vseukr. stud. nauk.-prakt. konf. – Poltava, 2007. – S. 147-149.
28. Orlova L.D. Bioekolohichni osoblyvosti luchnykh fitotsenoziv Livoberezhnogo Lisostepu Ukrainy (produktivnist ta ratsionalne vykorystannia): Monohrafiia. – Poltava : PNU imeni V.H. Korolenka, 2011. – 278 s.
29. Rohovych A. S. Obozrenie semennykh i vysshnykh sporovykh rastenii, vkhodiashchykh v sostav flory hubernii Kyevskoho uchebnogo okruha: Volynskoi, Podolskoi, Kyevskoi, Chernyovskoi i Poltavskoi – K., 1869. – 296 s.
30. Stetsiuk N.O., Hapon S.V., Besedina I.S., Sliusar M.V. Zahalni pokaznyky bioriznomanitnosti proektovanoho rehionalnogo landshaftnogo parku «Hadiatskyi» // Bioriznomanittia: teoriia, praktyka ta metodychni aspekty vyvchennia v zahalnoosvitnii ta vyshchii shkoli : M-ly Mizhnarodnoi nauk.-prakt. konferentsii. – Poltava: PDU, 2008. – S. 256-261.
31. Stetsiuk N.O. Ekoloho-tsenotychna ta florystychna kharakterystyka osередkiv rarytetnoi fitoriznomanitnosti Hadiatskoho raionu (Poltavska oblast) // Zbirnyk naukovykh prats Poltavskoho derzhavnogo pedahohichnogo universytetu imeni V.H. Korolenka. Serii «Ekolohiia. Biolohichni nauky». – Vypusk 5 (63). – Poltava, 2008. – С. 118-126.
32. Stetsiuk N.O. Zberezhennia borealnykh fitosystem u rehionalnii ekolohichnii merezhi (Poltavska oblast) // Zbirnyk naukovykh prats Poltavskoho derzhavnogo pedahohichnogo universytetu imeni V.H. Korolenka. Serii «Ekolohiia. Biolohichni nauky». – Vyp. 1. – Poltava, 2009. – S. 73-78.
33. Stetsiuk N.A., Khannanova O.R. Florosozolohycheskaia kharakterystyka proektyrovannoho rehyonalnogo landshaftnogo parku «Hadiatskyi» (Ukraina, Poltavskaia oblast) // Strukturno-funktsyonalnaia orhanyzatsiia i dinamika rastitelnoho Pokrova: M-ly Vserossiiskoi nauch.-prakt. konf. s mezhdunarodnym uchastiem. – Samara, 2011. – S. 56-59.
34. Smoliar N.O., Khannanova O.R. Rarytetnyi florofond vyshchykh sporovykh sudynnykh roslyn rehionalnogo landshaftnogo parku «Hadiatskyi» (Poltavska oblast) // Roslynni svit u Chervonii knyzi Ukrainy: vprovadzheniia hlobalnoi stratehii zberezhennia roslyn: m-ly II Mizhnarodnoi naukovoi konferentsii. – Kyiv: PALYVODA A.V., 2012. – S.304-308.
35. Trautfetter E. R. Obozrenie estestvennykh semeistv, vkhodiashchikh v sostav flory hubernii Kyevskoho uchenoho okruha. Botanika. Chast sistematycheskaia. – 1853. – 37 s.
36. Khannanova O.R., Stetsiuk N.O. Obgruntuvannia dotsilnosti stvorennia RLP «Hadiatskyi» v Poltavskii oblasti // Osvita, nauka, relihiia na zakhysti dovkillia : M-ly Vseukrainskoi studentskoi nauk.-prakt. konferentsii. – Kyiv : Vseukrainska ekolohichna liha, 2008. – S. 56-59.
37. Khannanova O.R. Perspektyvy stvorennia rehionalnogo landshaftnogo parku «Hadiatskyi» (Poltavska oblast) // Ekolohichna bezpeka derzhavy: Mater. Vseukr. nauk. konf. studentiv ta aspirantiv. – K., 2008. – S. 225-226.
38. Shmalhauzen Y. F. Flora Srednei i Yuzhnoi Rossii, Kryma i Severnogo Kavkaza: Rukovodstvo dlia opredeleniia semennykh y vysshnykh sporovykh rasteniy – K., 1895-1897. – T. 1-2.

HISTORY OF RESEARCHING PLANTAGE OF REGIONAL LANDSCAPE PARK «GADYACHSKY» (POLTAVA REGION)

O. R. Khannanova

The article contains results the of processing herbarium collections and analysis of published data on research of phytodiversity of nature reserve, protected in status of the regional landscape park «Gadyachsky». Conditionally, there are four stages of botanical area research. In the first stage (middle of the XVIII – early XX century) there is an accumulation of floristic data and some attempts of description and classification of specific locations vegetation. The second period (mid XX century – to the 80 th of XX century) is characterized by fragmented researches on certain types of vegetation, phytocoenotic material accumulation and the classification of the region vegetation on the basis of the dominant. The third period (the end of XX century – beginning of XXI century) generally connected with complex researches on the plant world of the region in order of flora to analysis and securing the phytodiversity in the nature reserve and regional ecological networks. During this very period the optimization of natural reserves network of Poltava region is actively carried out. A number natural protected objects are created which became part of the park later. The specialized studying of lihen- and bryoflora was carried out on the researches territory. In general, during the mentioned stages the phytodiversity of the region was studied fragmentary in the context of specific localities and the presence of rare species. The fourth period (end of 2011 until now) includes the creation of the park based on high indicators of scientific value (uniqueness and representativeness) a meaningful national economic importance and significant recreational potential of the area. This stage is characterized by a detailed complex study of the park phytodiversity to establish full composition, structure of flora, its characteristics of Syntaxonomical plants structure the implementation of the sozological assessment of the regionplant world etc. At each stage, the role of local scientists in studying the plant world of the region is indicated. The main directions of botanical research in the region are determined, they are floral (accumulation of information about species floristic composition of higher vascular plants of the region), coenotic (associated with conducting of the fragmentary research , due to results of which there are some details on the types of vegetation of the region), resource knowing (study of distribution and resource potential importance of medicinal plants in the region), demonological (associated with conducting of population research of rare plant species – some steppe and forest ephemeroids), sozological (the study of biological and ecological characteristics of rare plants, confirmation of known and identify new locations in order to optimize the natural protected area network, development of regional ecological network). The priority directions of further researches on «Gadyachsky» regional park phytodiversity are defined.

Key words: flora, phytodiversity, Nature Reserve Fund, sozological research, regional landscape park «Gadyachsky».

Одержано редколегією 19.02.2015

РОЛЬ ПРИРОДНО-ЗАПОВІДНОГО ФОНДУ ПОКУТСЬКОЇ ЧАСТИНИ ПРУТ-ДНІСТРОВСЬКОГО МЕЖИРІЧЧЯ У ЗБЕРЕЖЕННІ РОСЛИН З ЧЕРВОНОЇ КНИГИ УКРАЇНИ

В. В. БУДЖАК, І. І. ЧОРНЕЙ, А. І. ТОКАРЮК

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
Інститут біології, хімії та біоресурсів, кафедра ботаніки, лісового і садово-паркового господарства
вул. Федьковича, 11, Чернівці, 58022
e-mail: budzhakv@gmail.com*

*Прут-Дністровське межиріччя представляє собою природну одиницю з чітко вираженими природними межами, де сприятливі кліматичні та орографічні фактори стали причиною його сильної але нерівномірної антропогенної трансформації. На сьогоднішній день природний рослинний покрив Прут-Дністровського межиріччя внаслідок сильного розчленування та нерівномірного розподілу по території досліджень носить острівний характер за винятком Хотинської височини та крутих берегів р. Дністер. Крім цього, наявність на території Прут-Дністровського межиріччя особливого карстового рельєфу, сприяє формуванню локальних ізольованих угруповань та популяцій, які можна розглядати як осередки збереження та «консервації» фіторізноманіття. Територія Покуття (східна частина Івано-Франківської області, що включає територію Городенківського, Коломийського, Снятинського та Косівського районів) входить до складу Прут-Дністровського межиріччя, займаючи майже третину його площі. На території покутської частини Прут-Дністровського межиріччя налічується 112 об'єктів ПЗФ, що складає майже 46% від кількості об'єктів ПЗФ Прут-Дністровського межиріччя та охоплює понад 56% площі заповідних територій. Площа 80% цих територій не перевищує 5 га. У складі флори регіону досліджень зростає 56 видів, занесених до третього видання Червоної книги України. Раритетний компонент флори покутської частини Прут-Дністровського межиріччя представлений 21 родиною. Найчисельнішою серед раритетних видів є родина *Orchidaceae*, на яку припадає 32% раритетного фіторізноманіття Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя. У регіоні досліджень на території природно-заповідного фонду охороняється 37 раритетних видів, що складає 66 % червонокнижних видів Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя. Встановлено, що 19 видів з родин Молочайні, Капустяні, Осокові, Цибулеві та Плаунові зростають поза межами об'єктів ПЗФ і на даний час не забезпечені належною охороною. Із 112 об'єктів ПЗФ регіону досліджень лише на території 36 виявлені раритетні види флори. Переважна частина цих об'єктів забезпечує збереження від 1 до 5 раритетних видів, що зумовлено їх невеликою площею.*

Ключові слова: Прут-Дністровське межиріччя, Покуття, природно-заповідний фонд, раритетний компонент флори, охорона

Вступ. З посиленням антропогенного впливу на природні екосистеми вивчення сучасного стану рослинного покриву з метою збереження фіторізноманіття є актуальним завданням ботанічної науки. Згідно з цим, інвентаризація флори та класифікація рослинності – дві важливі передумови менеджменту фітосистем будь-якої територіальної одиниці. Вивчення комплексної диференціації рослинного покриву стає все більш актуальним, оскільки дозволяє глибоко і всебічно дослідити його сучасний стан, з'ясувати динаміку розвитку, визначити екологічні, топологічні та антропогенні фактори, які впливають на формування рослинності, що є основою для розробки питань охорони цінних видів та угруповань і збереження фіторізноманітності.

Прут-Дністровське межиріччя представляє собою природну одиницю з чітко вираженими природними межами, де сприятливі кліматичні

та орографічні фактори стали причиною його сильної але нерівномірної антропогенної трансформації. На сьогоднішній день природний рослинний покрив Прут-Дністровського межиріччя внаслідок сильного розчленування та нерівномірного розподілу по території досліджень носить острівний характер за винятком Хотинської височини та крутих берегів р. Дністер. Крім цього, наявність на території Прут-Дністровського межиріччя особливого карстового рельєфу, сприяє формуванню локальних ізольованих угруповань та популяцій, які можна розглядати як осередки збереження та «консервації» фіторізноманіття.

На сьогоднішній день вивченість флори та рослинності Прут-Дністровського межиріччя в межах України носить фрагментарний характер, що не дозволяє отримати цілісну характеристику його рослинного покриву, а також оцінити ступінь синантропізації флори та рослинності.

Прикордонне розташування регіону досліджень, наявність двох великих водних систем, дає підстави розглядати Прут-Дністровське межиріччя як важливий складовий компонент у формуванні та розвитку загальноєвропейської екомережі.

Мета роботи – з'ясувати роль природно-заповідного фонду Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя у збереженні раритетного фіторізноманіття регіону.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єкт дослідження – природно-заповідний фонд Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя, раритетний компонент флори. Предмет дослідження – структура ПЗФ регіону досліджень, його аутфітосозологічна репрезентативність.

При складанні переліку об'єктів ПЗФ Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя використані матеріали офіційного сайту Міністерства екології та природних ресурсів України (Мінприроди України) (<http://www.menr.gov.ua>; <http://www.menr.gov.ua/pzfond>), Департаменту екології та природних ресурсів Івано-Франківської ОДА (<http://www.if.gov.ua>) та відомості про природно-заповідні території та об'єкти Івано-Франківщини (Реєстр довідник ..., 1995; Природно-заповідні..., 2000; <http://nature.land.kiev.ua>; Екологічний паспорт ..., 2013).

Видовий склад раритетного компоненту флори об'єктів ПЗФ вивчали на основі аналізу літературних джерел (Артемчук, Якимчук, 1973; Богайчук, Куковиця, 1969; Горохова, Шеляг-Сосонко, 1967; Дідух та ін., 1982; Дідух, Коротченко, 2000; Дідух, Павлюк, 2008; Дубовик та ін., 1972; Екофлора України, 2000-2004; Заверуха, Андриенко, Протопопова, 1983; Загульський, 1991, 1994; Івашин, 1962; Каталог

..., 2002; Косець, 1941, 1947; Куковиця, 1973, 1984; Мельник, Парубок, 2004; Мілкіна, 1980; Мосякін, 1999; Определитель ..., 1999; Раритетний ..., 2004; Редкие и исчезающие ..., 1988; Решетюк, 2003; Собко, 1989, 1992, 1993; Стойко, Яценко, Кагало, 2004; Судинні рослини ..., 1999; Ткачик, 1983, 2000; Фіторізноманіття ..., 2012; Флора УРСР, 1936-1965; Червона книга України... , 2009; Чопик, 1978; Шеляг-Сосонко, Куковиця, 1971, 1980; Błocki, 1881, 1883, 1912; Herbich, 1831, 1860, 1861, 1866; Śleńdziński, 1875, 1876; Szafer, 1913, 1924; Trusz, 1888; Wołoszczak, 1887, 1889; Zapałowicz, 1908, 1906-1911; Zawadzki, 1835.), фондів гербаріїв Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича (CHER), Інституту ботаніки імені М. Г. Холодного (KW), Львівського національного університету імені І.Я.Франка (LW), Інституту екології Карпат (LWKS). Аналіз систематичної структури проводили згідно методичних вказівок Ю. А. Юрцева і Р. В. Кампіна (1982, 1987, 1991). Характеристику раритетного компоненту флори проводили з урахуванням методичних вказівок С. М. Стойко (2004).

Результати досліджень. Система природно-заповідного фонду України сьогодні представлена більше як 8100 територіями загальною площею близько 4 мільйонів га, а «показник заповідності» становить 6,15 %. Незважаючи на це, площа природно-заповідного фонду в Україні є недостатньою і залишається значно меншою, ніж у більшості країн Європи, де середній відсоток заповідності становить 15%. Територія Покуття (східна частина Івано-Франківської області, що знаходиться в межах Городенківського, Коломийського, Снятинського та Косівського районів) належить до складу Прут-Дністровського межиріччя, займаючи майже третину його площі (рис. 1.)

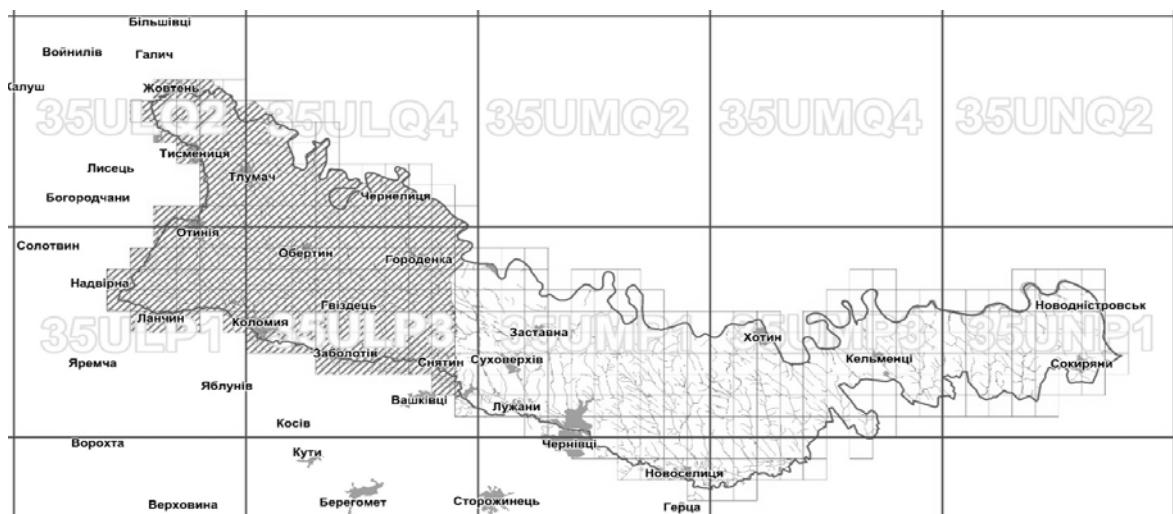


Рис. 1. Покутська частина території Прут-Дністровського межиріччя

Fig. 1. Pokutsk part of the Prut-Dniester area

Природно заповідний фонд Прут-Дністровського межиріччя налічує 246 об'єктів, що належать до 7 категорій, загальною площею 36512,1 га.

На території Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя налічується 112 об'єктів ПЗФ, один з яких ботанічна пам'ятка природи загальнодержавного значення «Урочище Масьок», решта – об'єкти природно-заповідного фонду місцевого значення.

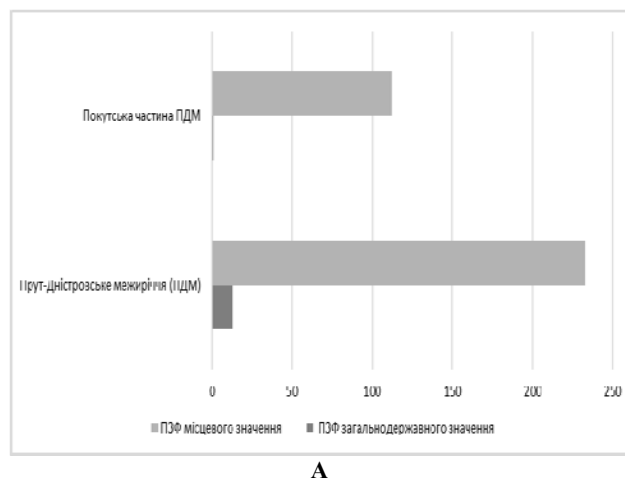


Рис. 2. Частка ПЗФ покутської частини у системі ПЗФ Прут-Дністровського межиріччя
А – за кількістю об'єктів; Б – за площею об'єктів

Загалом ПЗФ регіону досліджень складає майже 46% від кількості об'єктів ПЗФ Прут-Дністровського межиріччя та охоплює понад 56% площі заповідних територій (рис. 2).

На території Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя сконцентровано 22% (112 з 517 об'єктів) від загальної кількості об'єктів ПЗФ Івано-Франківської області, що складає понад 9% площі всіх охоронюваних територій Івано-Франківщини (табл. 1).

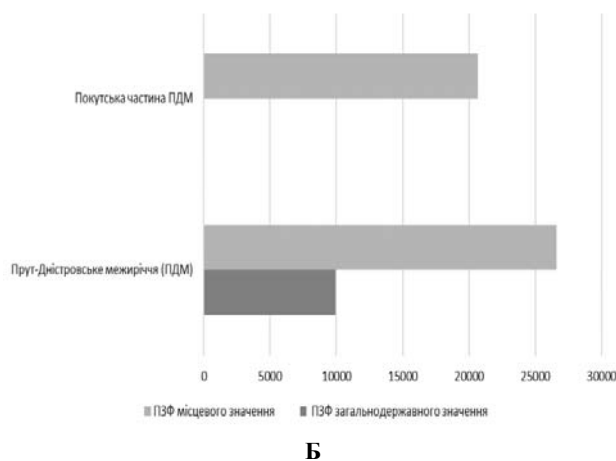


Fig. 2. The share of natural reserve fund Pokutsk region in the system of natural reserve fund Prut-Dniester watershed
A - the number of objects; B - objects in area

Таблиця 1.
Структура природно-заповідного фонду Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя

Table 1.
The structure of natural reserve fund of Pokutsk component of the Prut-Dniester watershed

Категорія	Регіон	Кількість	Площа, га
Території та об'єкти ПЗФ загальнодержавного значення			
пам'ятки природи ботанічні	Прут-Дністровське межиріччя	3	127.00
	Покутська частина	1	18.00
Території та об'єкти місцевого значення			
регіональних ландшафтних парків	Прут-Дністровське межиріччя	1	19656.00
	Покутська частина	1	19656.00
заказників ботанічних	Прут-Дністровське межиріччя	8	95.90
	Покутська частина	8	95.90
заказників гідрологічних	Прут-Дністровське межиріччя	10	670.40
	Покутська частина	1	275.00
заказників орнітологічних	Прут-Дністровське межиріччя	6	104.70
	Покутська частина	1	1.90
пам'яток природи комплексних	Прут-Дністровське межиріччя	3	15.10
	Покутська частина	1	6.10
пам'яток природи ботанічних	Прут-Дністровське межиріччя	28	113.34
	Покутська частина	18	91.38
пам'яток природи геологічних	Прут-Дністровське межиріччя	22	163.30
	Покутська частина	2	2.50
дендрологічних парків місцевого значення	Прут-Дністровське межиріччя	5	41.50
	Покутська частина	1	0.30
парків-пам'яток садово-паркового мистецтва місцевого значення	Прут-Дністровське межиріччя	18	138.90
	Покутська частина	3	43.50
заповідних урочищ	Прут-Дністровське межиріччя	84	859.70
	Покутська частина	75	510.60
Всього у покутській частині		112	20701,18

Як свідчить аналіз сучасного стану природно-заповідного фонду регіону досліджень, тут представлено 6 категорій об'єктів ПЗФ із 11 існуючих на сьогодні відповідно до закону «Про природно-заповідний фонд...» (1992).

Не зважаючи на великі загальні розміри, які займають об'єкти ПЗФ у Покутській частині, 80 з них мають площу, яка не перевищує 5 га (рис. 3). Практично 95% заповідних площ Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя припадає на регіональний ландшафтний парк «Дністровський», який знаходиться на території Городенківського та Тлумацького районів і займає 19,6 тис. га.

Розповсюдження рослин у певному регіоні обмежене географічними та екологічними параметрами, в межах яких види характеризуються різною чисельністю або тенденціями зміни параметрів їхніх популяцій. Біологічні властивості окремих видів у комплексі із зростаючим впливом антропогенного фактору призводять до того, що чисельність їхніх популяцій помітно скорочується, зменшується ареал, ці види повністю зникають з регіону.

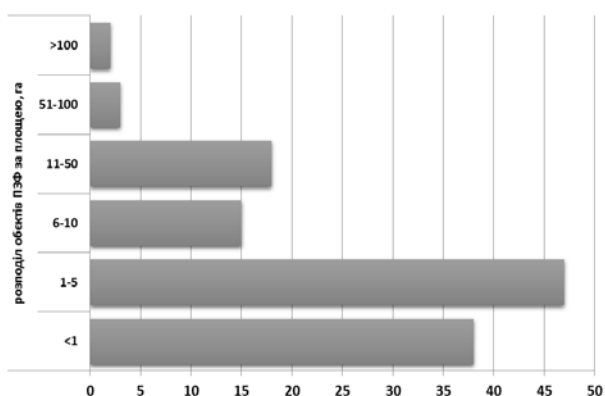


Рис.3. Розподіл ПЗФ покутської частини Прут-Дністровського межиріччя за площею

Fig.3. The distribution of natural reserve fund of Pokutsko component of the Prut-Dniester watershed by size

Встановлено, що у складі флори регіону досліджень зростає 56 видів, занесених до третього видання Червоної книги України (2009).

Раритетний компонент флори Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя представлений 21 родиною (табл. 2.). Найчисельнішою серед раритетних видів є родина *Orchidaceae*, на яку припадає 32% раритетного фіторізноманіття покутської частини Прут-Дністровського межиріччя

На основі аналізу літературних джерел, матеріалів гербарних колекцій ми спробували оцінити ступінь забезпеченості охороною раритетних видів у регіоні досліджень.

Встановлено, що 19 видів: *Lycopodium annotinum* L., *Allium ursinum* L., *Leucopium vernum* L., *Carex umbrosa* Host, *Fritillaria meleagris* L., *Iris sibirica* L., *Anacamptis coriophora* (L.) R.M. Bateman, Pridgeon et M.W. Chase s.l., *Epipactis atrorubens* (Hoffm. ex Bernh.) Besser, *Epipactis palustris* (L.) Crantz, *Epipactis purpurata* Smith, *Platanthera chlorantha* (Cust.) Rchb., *Festuca heterophylla* Lam., *Stipa lessingiana* Trin. et Rupr., *Echinops exaltatus* Schrad., *Schivereckia podolica* (Besser) Andr. ex DC., *Euphorbia volhynica* Besser ex Racib., *Aconitum lasiocarpum* (Rchb.) Gay, *Aconitum pseudanthora* Blocki ex Pacz., *Rosa czackiana* Besser зростають поза межами об'єктів ПЗФ і на даний час не забезпечені належною охороною (табл. 2.).

Із 21 родини, до складу яких належать раритетні види Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя відмічено 8 родин (*Amarylidaceae*, *Iridaceae*, *Liliaceae*, *Orchidaceae*, *Poaceae*, *Asteraceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae*) у складі яких частина видів охороняється на територіях об'єктів ПЗФ, а частина росте поза їх межами.

На сьогоднішній день у регіоні досліджень на територіях природно-заповідного фонду охороняється 37 раритетних видів, що складає 66 % червонокнижних видів покутської частини Прут-Дністровського межиріччя (табл. 2).

Із 112 об'єктів ПЗФ регіону досліджень лише на території 36 виявлені раритетні види флори (рис. 4.), у 29 об'єктів відсутня інформація про рослинний покрив, а решта належать до категорій геологічних, гідрологічних, або ж створенні для охорони окремих дерев, чи парків. Аналіз 36 об'єктів, на території яких виявлено раритетні види флори свідчить, що основна частина забезпечує збереження від 1 до 5 раритетних видів, що зумовлено їх невеликою площею (рис. 5).

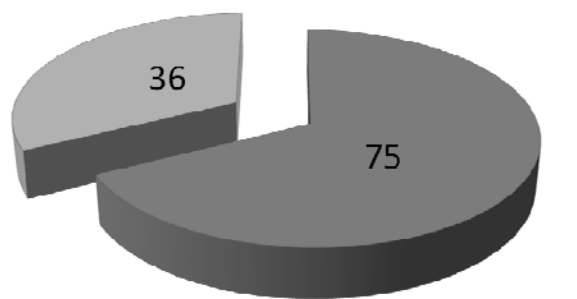


Рис. 4. Частка об'єктів ПЗФ що забезпечують охороною охороною раритетний компонент флори регіону досліджень

Fig. 4. The share of natural reserve fund to ensure the protection component of rare flora Region Studies

Лише на території великих за площею об'єктів ПЗФ можливе ефективне збереження значної кількості раритетних видів. Свідченням цього є РЛП «Дністровський», де охороняється

17 видів, що складає майже третину червонокнижних видів покутської частини Прут-Дністровського межиріччя.

Таблиця 2.

Систематична структура раритетного компоненту флори Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя та забезпеченість видів охороною

Table 2.

Systematic structure of rare flora Pokutsko component of the Prut-Dniester watershed protection and security types

Відділ/Клас	Родина	кількість видів	% від загальної кількості	охороняється видів на територіях ПЗФ	не охороняється видів на територіях ПЗФ
Lycopodiophyta	Lycopodiaceae	1	1.79		1
Magnoliophyta (Angiospermae), Liliopsida	Alliaceae	1	1.79		1
	Amaryllidaceae	2	3.57	1	1
	Colchicaceae	1	1.79	1	
	Cyperaceae	1	1.79		1
	Iridaceae	3	5.36	2	1
	Liliaceae	2	3.57	1	1
	Hyacinthaceae	1	1.79	1	
	Orchidaceae	18	32.14	13	5
	Poaceae (Gramineae)	4	7.14	2	2
Magnoliophyta (Angiospermae), Magnoliopsida	Asteraceae (Compositae)	2	3.57	1	1
	Brassicaceae (Cruciferae)	1	1.79		1
	Caryophyllaceae	1	1.79	1	
	Euphorbiaceae	1	1.79		1
	Fabaceae	2	3.57	2	
	Ranunculaceae	7	12.50	5	2
	Rosaceae	3	5.36	2	1
	Rutaceae	1	1.79	1	
	Solanaceae	2	3.57	2	
	Staphylaeaceae	1	1.79	1	
	Violaceae	1	1.79	1	
всього видів		56	100	37	19

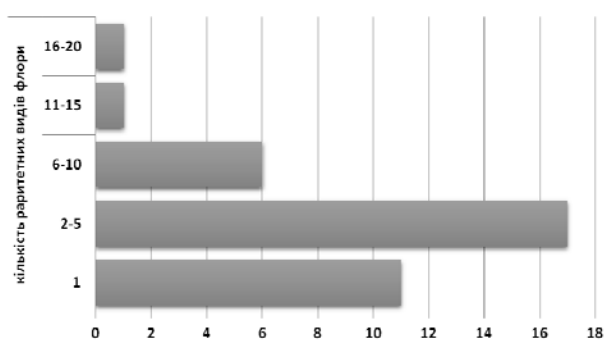


Рис. 5. Розподіл об'єктів ПЗФ за кількістю раритетних видів

Fig. 5. Distribution of natural reserve fund by the number of rare species

Важливу роль у охороні раритетного фіторізноманіття регіону досліджень відіграє також ботанічна пам'ятка природи загальнодержавного значення «Урочище Масьок», створена в 1975 році на площі 10 га, що

розташована неподалік від с. Острівець Городенківського району. У складі дослідженої флори тут виявлено 9 видів, які занесені до третього видання Червоної книги України: *Chamaecytisus podolicus* L., *Gypsophila thyratica* L., *Lilium martagon* L., *Pulsatilla grandis* Wender., *P. nigricans*, *Pulsatilla patens* (L.) Mill., *Stipa capillata* L., *S. pennata* L., *S. tirsia* Steven, що складає близько 4 % від загального числа видів регіону досліджень. Незважаючи на це деякі з них, особливо представники роду ковила, виступають домінантами чи співдомінантами рослинного покриву на окремих ділянках.

Також варто відзначити ботанічний заказник місцевого значення «Обертинська долина», та пам'ятку природи «Урочище Сивулька бита», де налічується понад 10 раритетних видів флори, серед яких особливо рідкісні – *Viola jooi* Janka, *Ligularia glauca* (L.) J.Hoffm та *Muscari botryoides* (L.) Mill.

Висновки. 1. На території Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя

налічується 112 об'єктів ПЗФ, що складає майже 46% від кількості об'єктів ПЗФ Прут-Дністровського межиріччя та охоплює понад 56% площі заповідних територій. Тут представлено 6 категорій об'єктів ПЗФ.

2. Не дивлячись на велику загальну площу (20701,18 га), яку займають об'єкти ПЗФ у Покутській частині, площа 80% цих територій не перевищує 5 га. Практично 95% заповідних площ Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя припадає на регіональний ландшафтний парк «Дністровський», який знаходиться на території Городенківського та Тлумацького районів і займає 19,6 тис. га.

3. У складі флори регіону досліджень росте 56 видів, занесених до третього видання Червоної книги України. Раритетний компонент флори покутської частини Прут-Дністровського межиріччя представлений 21 родиною. Найчисельнішою серед раритетних видів є родина *Orchidaceae*, на яку припадає 32% раритетного фіторізноманіття Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя.

4. У регіоні досліджень на територіях природно-заповідного фонду охороняється 37 раритетних видів, що складає 66 % червонокнижних видів Покутської частини Прут-Дністровського межиріччя. Встановлено, що 19 видів з родин Молочайні, Капустяні, Осокові, Цибулеві та Плаунові ростуть поза межами об'єктів ПЗФ і на даний час не забезпечені належною охороною. Із 112 об'єктів ПЗФ регіону досліджень лише на території 36 виявлені раритетні види флори. Переважна частина цих об'єктів забезпечує збереження від 1 до 5 раритетних видів, що зумовлено їх невеликою площею.

Список літератури:

1. Артемчук І.В., Якимчук М.К. Луки Покутського Передкарпаття та шляхи їх поліпшення // Укр. ботан. журн. – 1973. – 31, – № 5. – С. 605-609.
2. Богайчук Р.С., Куковиця Г.С. Степова рослинність Західного Поділля // Там же. – 1969. – 26, № 5. – С. 17-21.
3. Горохова З.Н., Шеляг-Сосонко Ю.Р. Ліси лівобережного Придністров'я центральної частини Поділля та шляхи підвищення їх продуктивності // Мат-ли наук. конф. по вивченню та використанню продуктивних сил Поділля. – Львів. – 1967. – Вип. 2. – С. 23-27.
4. Дідух Я.П., Єременко Л.П., Куковиця Г.С., Шеляг - Сосонко Ю.Р. Рослинність Лисої гори (Ів. - Франківська область) // Укр. ботан. журн. - 1982. - 39, № 5. - С. 88 - 92.
5. Дідух Я.П., Коротченко І.А. Класифікація степової рослинності Покуття // Укр. фітоцен. зб. – Київ, 2000. – Сер. А, вип. 1 (16). – С. 3-15.
6. Дідух Я.П., Павлюк В.С. Ландшафтно -

екологічні особливості розподілу рослинних угруповань у карстових воронках Прутсько - Дністровського Лісостепу // Укр. ботан. журн. - 2008. - 65, № 4. - С. 495 - 503.

7. Дубовик О.М., Крицька Л.І., Мороз І.І. Нові відомості про види роду молочай (*Euphorbia* L.) у флорі України // Укр. ботан. журн. - 1972. - 29, 6. - С. 80 - 88.
8. Екофлора України. Т. 2 / Я.П. Дідух, Р.І. Бурда, С.М. Зиман та ін. / Відпов. ред. Я.П. Дідух. - К.: Фітосоціоцентр, 2004. - 480 с.
9. Екофлора України. Т. 3 / М.М. Федорончук, Я.П. Дідух та ін. / Відпов. ред. Я.П. Дідух. - К.: Фітосоціоцентр, 2002. - 496 с.
10. Екофлора України. Т. 5 / А.П. Ільїнська, Я.П. Дідух, Р.І. Бурда, І.А. Коротченко / Від - пов. ред. Я.П. Дідух. - К.: Фітосоціоцентр, 2007. - 584 с.
11. Екофлора України. Т. 1 / Я.П. Дідух, П.Г. Плюта, В.В. Протопопова та ін. / Від - пов. ред. Я.П. Дідух. - К.: Фітосоціоцентр, 2000. - 284 с.
12. Екологічний паспорт Івано-Франківської області. – Івано-Франківськ, 2013. – 124 с.
13. Заверуха Б.В., Андриенко Т.Л., Протопопова В.В. Охраняемые растения Украины. - К.: Наук. думка, 1983. - 176 с.
14. Загульський М.М. Созологічна характеристика родини Орхідних західних регіонів України // Біотичні ресурси Розточчя і Зовнішніх Карпат та їх антропогенні зміни. - Вісн. Львів. ун - ту. - Сер. біол. - Львів: Світ, 1991. - Вип. 21. - С. 226.
15. Загульський М.М. Хорологія, структура популяцій та охорона орхідних (*Orchidaceae* Juss.) західних регіонів України: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. - К., 1994. - 26 с.
16. Івашин Д.С. До біології та екології *Adonis vernalis* L. // Укр. ботан. журн. - 1962. - 19, № 4. - С. 84 - 90.
17. Каталог раритетного біорізноманіття заповідників і національних природних парків України. / Під наук. ред. д.б.н. С.Ю. Поповича. – Київ: Фітосоціологічний центр, 2002. – 276 с.
18. Косець М.І. Букові ліси Західного Поділля // Ботан. журн. АН УРСР. – 1947. – 4, № 3/4. – С. 101-114.
19. Косець М.І. Систематика, географічне поширення і історія *Sorbus torminalis* (L.) Crantz на фоні загального розвитку роду *Sorbus* // Ботан. журн. АН УРСР. - 1941. - 2, № 1. - С. 3 - 50.
20. Куковиця Г.С. Растительность степей Западной Подолии и ее охрана: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – К., 1984. – 21 с.
21. Куковиця Г.С. Степова рослинність Дністровського каньйону на Поділлі та її флористичні особливості // Там же. – 1973. – 30, № 2. – С. 196-203.
22. Мельник В.І., Парубок М.І. Горлицвіт весняний (*Adonis vernalis* L.) в Україні. - К.: Фіто - соціоцентр, 2004. - 163 с.
23. Мілкіна Л.І. Ботанічні резервати і пам'ятки природи Івано-Франківської області // Охорона природи Українських Карпат та прилеглих територій. – К.: Наук. думка, 1980. – С. 142-193.

24. Мосякін С.Л. Рослини України у Світовому Червоному списку // Укр. ботан. журн. - 1999. - 56, № 1. - С. 79 - 88.
25. Определитель высших растений Украины / Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др. - К.: Фитосоцицентр, 1999. - 545 с.
26. Природно-заповідні території та об'єкти Івано-Франківщини / [під ред. Приходько М. М.]. - Івано-Франківськ : Таля, 2000. - 272 с.
27. Раритетний фітогенотип західних регіонів України (созологічна оцінка й наукові засади охорони) / С.М. Стойко, П.Т. Яценко, О.О. Кагало, Л.І. Мілкіна, Л.О. Тасенкевич, М.М. Загальський / За ред. С.М. Стойка, П.Т. Яценко, О.О. Кагало. - Львів: Ліга-Прес, 2004. - 232 с.
28. Реєстр довідник. Природно-заповідний фонд Івано-Франківської області. Івано - Франківськ 1995. - 70 с.
29. Редкие и исчезающие растения и животные Украины. Справочник. - К.: Наук. думка, 1988. - 256 с.
30. Решетюк О.В. Рід *Cypripedium* L. (*Orchidaceae* Juss.) в Україні (систематика, хорологія, фітоценологія та охорона його видів *ex situ* та *in situ*): дисертація канд. біол. наук: 03.00.05 / НАН України; Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка. - К., 2003.
31. Собко В.Г. Нові види та нові місцезнаходження рідкісних видів флори України // IX з'їзд Укр. ботан. тов - ва: Тези доп. / Відп. ред. К.М. Ситник. - К.: Наук. думка, 1992. - С. 44.
32. Собко В.Г. Орхідеї України. - К.: Наук. думка, 1989. - 192 с.
33. Собко В.Г. Стежинами Червоної книги України. - К.: Урожай, 1993. - 180 с.
34. Собко В.Г. Фітораритети України у світовому червоному списку. - К.: Фітосоціцентр, 2005 б. - 156 с.
35. Стойко С.М., Яценко П.Т., Кагало О.О. та ін. Раритетний фітогенотип західних регіонів України (созологічна оцінка й наукові засади охорони). - Львів: Ліга - Прес, 2004. - 232 с.
36. Судинні рослини флори Чернівецької області, які підлягають охороні. Атлас - довідник / Чорней Буджак В.В., Терме - на Б.К. - Чернівці: Рута, 1999. - 140 с.
37. Ткачик В.П. Нові знахідки флори Прикарпаття // Укр. ботан. журн. - 1983. - 40, № 3. - С. 22 - 26.
38. Ткачик В.П. Флора Прикарпаття. - Львів: НТШ, 2000. - 254 с.
39. Фіторізноманіття заповідників і національних природних парків України. Ч.2. Національні природні парки / Колектив авторів під ред. В.А. Онищенко і Т.Л. Андрієнко. - Київ: Фітосоціцентр, 2012. - 580 с.
40. Фіторізноманіття національних природних парків України / Т.Л. Андрієнко, Р.Я. Арап, Д.П. Воронцов, М.М. Загальський, І.Ю. Іванега, О.О. Кагало, В.П. Коломійчук, Л.Г. Люблінська, В.А. Онищенко, В.М. Остапко, С.М. Панченко, О.І. Прядко, Н.В. Скібіцька, Ю.Ю. Тюх, П.М. Устименко, І.І. Черней, Д.М. Якушенко. - К: Наук. світ, 2003. - 143 с.
41. Флора УРСР. Т. I / Під ред. О.В. Фоміна. - К.: Вид - во АН УРСР, 1936. - 200 с.
42. Флора УРСР. Т. II / Під ред. Є.І. Бордзіловського. - К.: Вид - во АН УРСР, 1940. - 590 с.
43. Флора УРСР. Т. III / Під ред. М.І. Котова та А.І. Барбарича. - К.: Вид - во АН УРСР, 1950. - 426 с.
44. Флора УРСР. Т. IV / Під ред. М.І. Котова. - К.: Вид - во АН УРСР, 1952. - 691 с.
45. Флора УРСР. Т. IX / Під ред. М.І. Котова. - К.: Вид - во АН УРСР, 1960. - 691 с.
46. Флора УРСР. Т. V / Під ред. М.І. Котова. - К.: Вид - во АН УРСР, 1953. - 528 с.
47. Флора УРСР. Т. VI / Під ред. Д.К. Зерова. - К. Вид - во АН УРСР, 1954. - 610 с.
48. Флора УРСР. Т. VII / Під ред. М.В. Клокова та О.Д. Вісюліної. - К.: Вид - во АН УРСР, 1955. - 658 с.
49. Флора УРСР. Т. VIII / Під ред. М.І. Котова та А.І. Барбарича. - К.: Вид - во АН УРСР, 1957. - 544 с.
50. Флора УРСР. Т. X / Під ред. М.І. Котова. - К. Вид - во АН УРСР, 1961. - 491 с.
51. Флора УРСР. Т. XI / Під ред. О.Д. Вісюліної. - К.: Вид - во АН УРСР, 1962. - 590 с.
52. Флора УРСР. Т. XII / Під ред. О.Д. Вісюліної. - К.: Вид - во АН УРСР, 1965. - 590 с.
53. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Я. П. Дідуха - К. : Глобалконсалтинг, 2009. - 900 с.
54. Чопик В.И. Редкие и исчезающие растения Украины. Справочник. - К.: Наук. думка, 1978. - 216 с.
55. Шеляг-Сосонко Ю.Р., Куковица Г.С. Геоботаническое районирование запада Украины // Ботан. журн. - 1971. - 56, № 10. - С. 1388-1395.
56. Шеляг-Сосонко Ю.Р., Куковица Г.С. Степные заказники и памятники природы // Охрана важнейших ботанических объектов Украины, Белоруссии, Молдавии. - К.: Наук. думка, 1980. - С. 221-232.
57. Юрцев Б.А. Флора как природная система // Бюл. МОИП. Отд. биол., 1982. Т. 87, вып. 4. С. 3-22.
58. Юрцев Б.А., Камелин Р.В. Очерк системы основных понятий флористики // Теоретические и методические проблемы сравнительной флористики: Материалы II раб. совещ. по сравнительной флористике (Неринга, 1983 г.). Л.: Наука, 1987. С. 242-266.
59. Юрцев Б.А., Камелин Р.В. Основные понятия и термины флористики. - Пермь, 1991. - 80 с.
60. Blocki B. Ein Beitrag zur Flora Galizien und der Bukowina // Ibid. - 1883. - 33. - S. 37-40, 116-119, 144-147, 175-176, 220-229, 257-259, 361- 364, 397-400.
61. Blocki B. Floristisches aus Galizien // Österr. bot. Zeitschr. - 1912. - 62. - S. 396-399.
62. Blocki B. Przyczynek do flory Galicyi // Ibid. - 1881. - 6. - S. 379- 385.
63. Herbich F. Additamentum ad floram Galiciae - Leopoli, 1831. - 48 p.
64. Herbich F. Beiträge zur Flora von Galizien // Ibid. - 1860 a. - 10. - S. 607-634.
65. Herbich F. Pflanzengeographische Bemerkungen über die Wälder Galiziens // Verh. Zool.-bot. Ges.

- Wien. – 1860 b. – 10. – S. 359-366.
66. Herbiech F. Przyczynek do geografji roślin w Galicji // Roczn. Towarz. nauk. Kraków. – 1866. – 33. – S. 70-129.
 67. Herbiech F. Über die Verbreitung der in Galizien und der Bukowina wildwachsenden Pflanzen // Ibid. – 1861. – 11. – S. 33-70.
 68. Mosyakin S.L. Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatur checklist. – Kiev: 1999. – 760 s.
 69. Śleńdziński A. Przyczynek do flory obwodu kołomyjskiego // Spraw. Kom. Fizyograf. – 1875. – 9. – S. 49-71.
 70. Śleńdziński A. Wykaz roślin zebranych w obwodzie kołomyjskim w roku 1876 // Spraw. Kom. Fizyograf. – 1876. – 10. – S. 91-112.
 71. Szafer W. O niektórych rzadszych roślinach nizu galicyskiego // Spraw. Komis. Fizyogr. – 1913 a. – 47/2. – S. 41-51.
 72. Szafer W., Kulczyński S., Pawłowski B. Rośliny polskie. – Warszawa: Książnica – Atlas, 1924. – 736 s.
 73. Trusz S. Przyczynek do flory Galicji // Spraw. Dyrekcji C.K. gimnasium w Złoczowie za rok szkolny 1888, Progr. gimn. – Złoczow, 1888. – S. 1-36.
 74. Wołoszczak E. Trzeci przyczynek do Flory Pokucia // Spraw. Kom. Fizyograf. – 1889. – 24. – 389 s.
 75. Wołoszczak E. Zur Flora von Galizien // Österr. Bot. Zeitschr. – 1887. – 37. – S. 278-280.
 76. Zapałowicz H. Krytyczny przegląd ąd roślinności Galicji – Kraków.: 1908 – 1911 – 860 s.
 77. Zapałowicz H. Krzytyczny przegląd ąd roślinności Galicji. Conspectus florum Galicie criticus // Rozpr. Wydz. mat.-przyrod. Pol. Acad. Umiej. ęt. – Kraków, 1906-1911. – T. 1-3. – 296 s.; 311 s; 246 s.
 78. Zapałowicz H. Conspectus florum Galicie criticus. Krytyczny przegląd roślinności Galicji. - Krakowie: Naklady Akademii Umiejetnosci. - 1911. - 3. - 252 s.
 79. Zapałowicz H. Krytyczny przegląd roślinności Galicji. - Krakow, 1906. - 1. - 296 p.
 80. Zawadzki A. Enumeratio plantarum Galicie et Bukovine oder die in Galizien und der Bukowina wildwachsenden Pflanzen mit genauer Angabe ihrer Standorte. – Breslau, 1835. – 200 s.
 81. <http://nature.land.kiev.ua/>
 82. <http://www.nature.org.ua/>
 83. <http://www.menr.gov.ua/>
 84. <http://www.if.gov.ua/>

THE ROLE OF NATURAL RESERVE FUND OF POKUTSKA PART OF PRUT-DNIESTER AREA IN THE PRESERVATION OF PLANTS FROM THE RED BOOK OF UKRAINE

V. V. Budzhak, I. I. Chorney, A. I. Tokaryuk

Prut-Dniester watershed is a natural unit with distinct natural boundaries where favorable climatic and orographic factors caused its strong but uneven human transformation. Today natural vegetation between rivers Prut-Dniester due to the strong dismemberment and uneven distribution of the territory is insular by its nature except for Khotyn hills and steep banks of the river Dniester. Moreover, the presence in the territory between Prut-Dniester special karst topography, promotes local groups and isolated populations that can be considered as centers of conservation and "conservation" phytodiversity. Pokuttya Territory (eastern part of Ivano-Frankivsk region, including the territory of Horodenka, Kolomyia, Snyatyn and Kosiv districts) is a part of the territory between the Prut-Dniester, occupying almost a third of its area. At the Pokuttska of the Prut-Dniester interfluvium there are 112 protected areas, representing nearly 46% of protected areas between the rivers Prut-Dniester and covers more than 56% of protected areas. Area of 80% of these areas does not exceed 5 ha. In the flora of the studied region 56 species are growing and listed in the third edition of the Red Book of Ukraine. Rare flora Pokuttska component of the Prut-Dniester interfluvium represented 21 family. The most numerous among the rare species is a family Orchidaceae, which accounts for 32% of the rarity phytodiversity Pokuttsko Prut-Dniester rivers. In the research in the natural reserve fund 37 rare protected species is 66% Red Book Pokuttska of the Prut-Dniester rivers. It is established that 19 species of the families Euphorbiaceae, Cabbage, sedge, onion and moss grow outside the protected areas and are not currently equipped with proper protection. Of the 112 protected areas in the region only in the research discovered 36 rare species of flora. Most of these facilities provides safety from 1 to 5 of rare species, due to their small area.

Keywords: Prut-Dniester interfluvium, Pokuttya Nature Reserve Fund, a component of rare flora protection.

Одержано редколегією 06.06.2015

БОЛОТА І ВОДОЙМИ ВЕРХІВ'Я Р. ТИСА (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ), ПЕРСПЕКТИВНІ ДЛЯ НАДАННЯ ЇМ СТАТУСУ РАМСАРСЬКИХ УГІДЬ

Л. М. ФЕЛЬБАБА-КЛУШИНА

Ужгородський національний університет, вул. Університетська, 14, Ужгород, 88000

e-mail: kunik35@yandex.ru

Верхів'я басейну р. Тиса в Українських Карпатах характеризується як найзволоженіший регіон України. Тому ще з післяльодовикового періоду й до початку минулого століття тут існували дуже сприятливі умови для виникнення боліт і водойм. На сьогодні більшість боліт осушено, а процесам формуванню боліт і природних водойм перешкоджає, зокрема, впровадження протипаводкових заходів. Рослинність оліготрофних боліт знаходиться у критичному стані також через зміни гідрологічного режиму території, потепління клімату і недотримання режиму повної заповідності. Тому ці природні об'єкти потребують пильної охорони. Загалом, пропонується надати статусу Рамсарських угідь сім'ю об'єктам: чотирьом оліготрофним болотам і одному мезотрофному болоту, розташованим у нижньому лісовому поясі на висотах 650-850 м над р. м. (Глуханя, Чорне Багно і Замшатка в Горганах; Багно і Синє озеро на Вулканічному хребті), заплавному комплексу Товар на низовині (110 м над р. м.) і високогірному озеру Герешаска на Свидовецькому хребті (1750 м. над р. м.). Встановлено, що на оліготрофних болотах спостерігається зникнення окремих оліготрофних видів мохів та судинних рослин, посилення ролі видів широкої екологічної амплітуди. Мезотрофне болото Синє озеро через падіння рівня ґрунтових заростає чагарниками. Подібні зміни відбуваються на заплавному комплексі Товар, який характеризується наявністю рідкісних рослинних угруповань водної рослинності, має важливе значення як оселище для водоплаваючих птахів, а також відіграє дуже важливу гідрологічну роль для ландшафтів низовини. Найменше виражені зміни у високогірному озері Герешаска. Однак, на високогірні озера теж негативно впливає потепління клімату і рекреація. Тому встановлення і дотримання режиму повної заповідності є необхідною перед умовою збереження названих об'єктів.

Ключові слова: верхів'я басейну р. Тиса, Закарпаття, болота, водойми, угруповання, динаміка, Рамсарські угіддя

Вступ. Верхів'я басейну р. Тиса в Українських Карпатах характеризується як найзволоженіший регіон України, з найгустішою гідромережею, найбільшою кількістю опадів на рік, з найбільшими запасами водних ресурсів у розрахунку на одного жителя. Водночас до кінця XIX ст. цей регіон належав до найзаболоченіших в Карпатах (Фельбаба-Клушина, 2010). Однак нині через антропогенні перетворення ландшафтів і руйнацію функціонального ядра рослинного покриву, що зумовили глибокі порушення гідрологічного режиму екосистеми басейну р. Тиса, рослинність боліт деградує і трансформується у рослинність інших типів (лучну, чагарникову, лісову). Найбільшої шкоди болотам і природним водоймам регіону завдали меліорація низовинно-передгірної частини Закарпаття і вирубування лісів в усіх лісових поясах. Так, наприклад, болотний комплекс Чорний мочар на Закарпатській низовині, який займав площу 16 тис. га, що становило близько 25 % усієї території Закарпатської низовини, до середини минулого століття був повністю меліорований і перетворений у сільськогосподарські угіддя. Це викликало падіння рівня ґрунтових вод й на оточуючих територіях, зміну мікроклімату на низовині і

суттєво порушило процес колообігу вологи у басейні р. Тиса. Флористичні знахідки представників роду *Sphagnum* у штучних насадженнях дібров, а також літературні відомості про місцезростання багатьох оліго- і мезотрофних видів рослин та наявність відповідних гербарних зразків у гербаріях України (LWS, LW, KW, UU) і Угорщини (BP), свідчать про наявність значної кількості болотних комплексів з рослинністю оліготрофного і мезотрофного типів, які на сьогодні повністю зникли із низовинно-передгірної частини Закарпаття. Метою публікації є представлення інформації про загальний стан рослинності тих боліт у верхів'ї р. Тиса, яким необхідно надати статус Рамсарських угідь.

Матеріали і методи. Дослідження проводилися впродовж 2000-2014 рр. Ними охоплені найбільші за площею оліготрофні болота і окремі водойми Закарпаття (рис.), що знаходяться у поясі букових У цій публікації ми надали перевагу домінуючій класифікації з метою порівняння сучасної структури рослинного покриву боліт з тією, що була характерна для них у другій половині минулого століття. Назви рослин наведені за Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist (Mosyakin, 1999).



Рис. Карта-схема розташування пропонованих та існуючих Рамсарських угідь.

Примітка: А – об'єкти, які вже мають статус Рамсарських угідь; Б-В – об'єкти, які вже пропонувалися як Рамсарські іншими дослідниками; Г – об'єкти, які пропонуються автором (1 – болото Глуханья; 2 – болото Замшатка; 3 – болото Багно; 4 – болото Чорне багно; 5 – болото Синє озеро; 6 – заплашний комплекс Товар)

Fig. The map of existing and proposed Ramsar sites.

Note: A-areas of Ramsar sites, Б-В - sites proposed by other scientist, Г - sites suggested by author (1 – Gluchanya bog, 2 - Samschatka bog, 3 – Bagno bog, 4 – Chorne Bagno bog, 5 – Syne like bog, 6 - Flood land complex Tovar

Результати досліджень та їх обговорення.

Незважаючи на глибокі зміни гідрологічного режиму досліджуваної території, рослинність гідрофільних екосистем на ній характеризується значною різноманітністю. На низовині представлені болота лише евтрофного типу, переважно трав'яні з високих осок та інших представників гідрофільного високотрав'я, чагарникові з *Salix cinerea* L. і рідко – лісові з *Alnus glutinosa* (L.) P. Gaertn (Фельбаба-Клушина, 2008).

У гірській частині регіону досліджень до нині представлені болота усіх типів за способом живлення (від евтрофних до оліготрофних), та за переважанням життєвих форм (трав'яні, трав'яно-мохові, сфагнові, чагарничково-сфагнові, лісові). Синтаксономічна

різноманітність за флористичною класифікацією становить близько 80% від різноманітності болотної, рослинності України. 46 % угруповань рівня асоціації потребують охорони і є складовими біотопів, що охороняються Директивою 92/43 ЕЕС у системі NATURA 2000. Сюди включені усі угруповання класу *Oxycocco-Sphagnetea*, якими представлена рослинність досліджуваних оліготрофних боліт. Крім того оліготрофні болота є реліктовими фітоценозами, належать до об'єктів вищої соціологічної цінності в Карпатах і включені до «Зеленої книги України» (2009). Тому вони становлять значну цінність для науки як музеї історії флори і рослинності Карпат й потребують надання їм міжнародного природоохоронного статусу і пильного дотримання режиму хорони. Разом з

тим, у верхів'ях водозборів гірських рік болотні екосистеми виконують потужну гідроакумлюючу та інші функції (Кресек, 2004), що в умовах зливого режиму рік важливо з точки зору зниження ризику виникнення повеней.

У верхів'ї басейну р. Тиса наприкінці ХХ ст. в рамках міжнародного проекту (Україна, Угорщина, Румунія, Словаччина) було запропоновано низку територій для надання їм статусу Рамсарських угідь. З території України було включено дві частини: перша – гірська – охоплювала території вздовж рік Чорної Тиси і Білої Тиси та власне Тиси в межах Рахівського і Тячівського районів площею 90 тис. га, а друга – рівнинна частина басейну в межах Ужгородського, Тячівського, Хустського, Виноградівського і Берегівського районів площею 36 тис. га (Kricsfalusy, 1999). Однак ця пропозиція не була реалізована до цього часу, хоча частина заплавлених комплексів на низовині була оголошена Регіональним ландшафтним парком «Притисянський».

У басейні р. Тиса Рамсарським угіддям оголошено озеро Синевир (Горгани), а комплекс високогірних озер на Свидовецькому хребті та озера на Чорногорі вже запропоновані до включення їх до переліку Рамсарських угідь співробітниками Карпатського біосферного заповідника. Нами визначені перспективні для включення до цього переліку усі найбільші оліготрофні болота Закарпаття (Чорне Багно (Свидовець), Замшатка і Глуханя (Горгани), Багно (Вулканічний хребет), а також високогірне озеро Герешаска (Свидовецький хребет), заплавлений комплекс «Товар» (Закарпатська низовина). Про доцільність надання вищезгаданого статусу болоту Багно з Вулканічних Карпат в літературі теж вже згадувалося (Ковальчук, 2006).

Наводимо коротку характеристику рослинного покриву досліджуваних об'єктів.

Болото Чорне багно знаходиться у басейні р. Чорна Тиса, що належить до флористичного району Свидовець, у нижньому лісовому поясі на висоті 800 м над р. м. (ок. с. Чорнотисово, Рахівський р-н). Його площа становить 8,9 га. Природоохоронний статус: Пам'ятка природи місцевого значення (Поп, 2011). Основні загрози: випалювання, випасання худоби, скидання сміття, захоплення частини території під сільськогосподарські угіддя.

Характеристика рослинного покриву. Рослинність болота оліготрофного типу, належить до групи рідколісних боліт (Брадїс, 1969). Тут переважають чагарничково-сфагнові

угруповання з поодинокими низькорослими ялинами. По периферії спостерігаються процеси сільватизації: у північно-східній та південно-західній частинах болотного масиву відмічена значна кількість особин *Populus tremula* L. із зімкненістю крон 0,2-0,3 і понад 5 м заввишки, *Betula obscura* A. Kotula (0,1), *Picea abies* (L.) H. Karst. (0,2-0,4), *Sorbus aucuparia* L. (+). У північно-східній частині відмічено невеличкі осередки з рідкісним для Українських Карпат чагарничком *Ledum palustre* L., який формує фрагменти монодомінантних угруповань. До цього часу інших місцезростань цього виду в Українських Карпатах не відмічалось. Центральна частина має купинястий мікорельєф і коричневий аспект травостою після пожежі. Тут тепер переважають чагарничково-сфагнові угруповання (*Empetrum nigrum-Sphagnum subnitens*, *Vaccinium uliginosum-Oxycoccus palustris-Sphagnum capillifolium*, *Andromeda polyfolia-Oxycoccus palustris-Sphagnum subnitens*) з переважанням у моховому ярусі одного з найрідкісніших представників бріофлори України і Українських Карпат – *Sphagnum subnitens* Russow et Warnst., включеного до «Червоної книги України» (2009), а також звичайного на гірських болотах Європи і, зокрема, Карпат – *Sphagnum capillifolium* (Ehrh.) Hedw. Дуже часто до сфагнового покриву домішкою виступає *Polytrichum strictum* Bridel, *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. Сучасний стан рослинного покриву болота у порівнянні з тим, що мав місце наприкінці 60-х років, згідно з даними Є. М. Брадїс та ін. (Брадїс, 1969), свідчить про те, що процеси сільватизації посилилися, особливо за рахунок дрібнолистяних порід, чого не спостерігалось раніше. У моховому покриві майже зник *Sphagnum fuscum* (Schimp.) Klinggr., а замінив його атлантичний вид – *S. subnitens*.

Болото Багно знаходиться у Вулканічних Карпатах теж у поясі букових лісів на висоті 840 м над р. м. (ок. с. Ільниця, Іршавський р-н). Його площа становить 15 га. Природоохоронний статус: Пам'ятка природи загальнодержавного значення. Входить до складу території НПП «Зачарованих край». Помилково згадується у літературі під назвою Чорне багно (Поп, 2011), однак для уникнення помилок і аналогій з однойменним попередньо охарактеризованим болотом на Свидовецькому масиві, необхідно дотримуватися назви Багно, під якою воно було вперше описано В.І. Комендаром та С.С. Фодором (Комендар, 1960).

Загрози: наявність меліоративних каналів, внаслідок чого відбуваються процеси луговиння і сільватизації.

Характеристика рослинного покриву.

Детальна характеристика рослинності болота була висвітлена автором раніше (Фельбаба-Клушина, 2008). Болотна рослинність фрагментована рослинністю торф'янистих лук з переважанням *Molinia caerulea* (L.) Moench. і представлена піхвопопухівково-сфагновими (*Eriophorum vaginatum-Sphagnum capillifolium*) (переважно північно-східна частина болота), чагарничково-сфагновими, а саме вересово-сфагновими (*Calluna vulgaris-Andromeda polypholia-Sphagnum capillifolium*) (центральна, південно-західна і північно-західна частини) та осоково-сфагновими (*Carex echinata-Sphagnum cuspidatum*) (переважно східна та північно-східна частини болота) угрупованнями. Серед чагарничків з найвищим проективним покриттям виступає *Calluna vulgaris* (L.) Hull. та *Andromeda polifolia* L., місцями переважає *Vaccinium myrtillus* L., значно менше *Empetrum nigrum* L. На південно-західному схилі болота ростуть поодинокі *Sorbus aucuparia*, *Betula obscura*. Серед бріофлори переважає *Sphagnum capillifolium* та *Polytrichum strictum*. Вздовж каналів спостерігаються зарості *Rhynchospora alba* (L.) Vahl та представників роду *Sphagnum*. На північній межі болота, оточений з одного боку потоком Багновий, який тече на північний схід, а з іншого - лісом, панують їжачоосоково-сфагнові, чорноосоково-гіпнові, здутоосоково-сфагнові угруповання з поодинокими особинами *Alnus incana* (L.) Moench, *Sorbus aucuparia*, *Salix cinerea* L., *Picea abies* (L.) H.Karst.

За останні десятиріччя на болоті прогресує процес луговіння за рахунок поширення *M. caerulea*. У моховому ярусі повністю зник *Sphagnum fuscum*, а переважає *S. capillifolium*.

Болото Синє озеро знаходиться у Вулканічних Карпатах теж у поясі букових лісів на висоті 605 м над р. м. (ок. с. Синяк, Мукачівський р-н). Його площа становить 3,0 га. Природоохоронний статус: Пам'ятка природи місцевого значення. Загрози: вирубування лісів на оточуючих територіях Вулканічного хребта, падіння рівня води через тривалі літні посухи, викликані зміною клімату

Характеристика рослинного покриву.

Болото виникло шляхом заростання озера, яке, у свою чергу, утворилося у кратері вулкана (Поп, 2011). Воно оточене буковим лісом, а по самій периферії – чагарниками – *Sorbus aucuparia*, *Frangula alnus* Mill., *Corylus avellana* L., *Rubus caesius* L. та дрібнолистяними видами дерев (*Populus tremula*, *Betula verucosa*). Це мезотрофне трав'яно-сфагнове болото з розрідженим ярусом *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.

проективним покриттям 20-30 %, 1,5-2,0 м заввишки і густим до 100 % проективного покриття моховим ярусом, у якому переважає *Sphagnum capillifolium*. Зрідка на найменш обводнених місцях виражений ярус низьких осок з *Carex echinata* Murray, *C. nigra* (L.) Reichard. У центральній частині озера наявні мочажини з поодинокими купинами, вкритими сфагновими мохами і низькорослими особинами очерету.

За спостереженнями на пробних площадках, починаючи з 2006 року, з периферії відбувається активне заростання болота чагарниками.

Болото Глуханя розташоване на лівій терасі р. Тербля у Горганах на висоті 630 м над р. м. (ок. с. Негровець, Міжгірський р-н). Площа становить 24 га. Природоохоронний статус: Заказник загальнодержавного значення. Входить до складу НПП «Синевир». Загрози: наявність меліоративних каналів, випасання худоби.

Характеристика рослинного покриву.

Болото розділене на дві частини меліоративним каналом: на північно-західну і південно-східну. По периферії болота переважає рослинність торф'янистих лук з переважанням і співдомінуванням таких видів, як *Molinia caerulea*, *Juncus effusus* L., *Nardus stricta* L., *Poa palustris* L. та ін. На місцях посиленого випасу худоби сформувалися монодомінантні угруповання з пригніченим *Carex nigra*. Ближче до апікальної частини болота, а найбільше у його північній частині, на теперішній час сформувалися здутоосоково-сфагнові угруповання (*Carex rostrata-Sphagnum capillifolium*), пухирчастоосокові (*Carex vesicaria* L.), пухівково-чорноосоково-сфагнові (*Eriophorum angustifolium-Carex nigra-Sphagnum capillifolium*), чисто сфагнові з *Sphagnum magellanicum* Brid., а також ринхоспорово-сфагнові (*Rhynchospora alba-Sphagnum capillifolium*), які за останні 7-9 років помітно розширили свої площі. Центральна частина болота представлена піхвопопухівково-сфагновими (*Eriophorum vaginatum-Andromeda polifolia-Sphagnum capillifolium*), водянково-сфагновими (*Empetrum nigrum-Sphagnum magellanicum*, *Empetrum nigrum-Sphagnum capillifolium*), андромедово-сфагновими (*Andromeda polifolia-Sphagnum capillifolium*), болотножуравлиново-сфагновими (*Oxycoccus palustris-Carex pauciflora-Sphagnum cuspidatum*) угрупованнями. Серед сфагнів переважає *Sphagnum capillifolium*, дещо рідше *Sphagnum magellanicum*, *S. rubellum* Wils. На болоті зустрічаються особливо рідкісні види рослин Українських Карпат, включені до «Червоної книги України» (2009): *Carex pauciflora* Lightf.,

Lycopodiella inundata (L.) Holub, *Scheuchzeria palustris* L.

За останні десятиріччя збільшилася площа мезотрофної рослинності за рахунок осоково-сфагнових та ринхоспорово-сфагнових угруповань. Майже зник *Sphagnum fuscum*, а у моховому ярусі домінують *Sphagnum capillifolium*, *Polytrichum strictum*

Болото Замшатка (Глуха млака) знаходиться у верхів'ї р. Чорна ріка – притоки р. Теремля у Горганах на висоті 830 м над р. м. (ок. с. Синевирська Поляна, Міжгірський р-н). Площа становить 8 га. Природоохоронний статус: входить до складу НПП «Синевир».

Характеристика рослинного покриву. Серед усіх інших боліт воно найбільш заліснене і належить до групи рідколісних боліт. По периферії зімкненість крон *Picea abies* становить 0,4-0,5, а висота стовбурів - 4-6 м. Найменш залісненою є центральна частина болота. На ній поодинокими ростуть *Picea abies*, *Sorbus aucuparia*, *Betula obscura*. Переважають чагарничково-пухвірково-сфагнові угруповання (*Empetrum nigrum-Eriophorum vaginatum-Sphagnum fuscum*). На купинах і пристовбурних частинах *Picea abies* домінує угруповання *Empetrum nigrum-Sphagnum fuscum*, *Oxycoccus palustris-Sphagnum fuscum*. На ділянках з зімкненістю крон ялини 0,4-0,5 спостерігається угруповання *Picea abies-Eriophorum vaginatum-Oxycoccus palustris-Polytrichum strictum-Sphagnum fuscum*, що є найпоширенішим. Місцями співдомінують лише *Oxycoccus palustris* Pers. і *Sphagnum magellanicum* з поодинокими особинами *Trientalis europaea* L.

За останні десятиріччя на цьому болоті, як і на інших, посилюються процеси сільватизації, проникнення лісових і лучних видів. Однак лише тут у моховому покриві домінантом залишається *Sphagnum fuscum*. Динаміка рослинності болота Замшатка найбільш близька до природньої.

Заплавний комплекс Товар. Знаходиться на Закарпатській низовині у пониззі р. Тиса на висоті 100 м над р. м. (ок. с. Дийдово, Берегівський р-н). Площа становить 145,0 га. Включає три урочища: Товар, Міц і Став. Природоохоронний статус: Заказник місцевого значення. Водно-болотне угіддя є найбільшим за площею на низовині і має велике значення для підтримання гідрологічного режиму усієї низовини та підтримання колообігу вологи у верхів'ї р. Тиса. Воно цінне і з точки зору охорони водоплавних птахів.

Загрози: засмічення, надмірне коливання рівня води через тривалі літні посухи.

Характеристика рослинного покриву.

Заболочене заплавне озеро, з рослинністю евтрофного типу, де переважають угруповання утворені представниками гігрофільного високотрав'я, такими, як *Typha latifolia* L., *T. angustifolia* L., *Scirpus lacustris* L., *Carex pseudocyperus* L. *C. acutiformis* Ehrh. та іншими видами. Фітоценотичну значущість складають прибережно-водні угруповання з участю *Carex bohemica* Schreb., а також *Scirpus supinus* L., для яких це єдине відоме місцезростання в Українських Карпатах. Серед угруповань водної рослинності рідкісними є фітоценози з участю *Utricularia australis* R.Br., *Salvinia natans* (L.) All., *Eleocharis carniolica* W.D.J.Koch, що включені до «Червоної книги України» (2009) та до міжнародних червоних списків.

Озеро Герешаска. Знаходиться на Свидовецькому хребті на висоті 1750 м над р. м. (Рахівський р-н). Площа: 1,2 га. Природоохоронний статус: Заказник місцевого значення. Загрози: надмірне рекреаційне навантаження, ймовірне падіння рівня через літні посухи.

Характеристика рослинного покриву. З південно-східної і західної частин берега озеро заростає характерними для високогірних озер осоково-сфагновими угрупованнями (*Carex rostrata-Sphagnum cuspidatum*, *Carex echinata-Sphagnum fallax*), а ближче до центральної частини озера – ососковими і комишовими угрупованнями з *Scirpus lacustris*, *Carex rostrata* Stokes (Малиновський, 1980; Козіж, 1934). Найбільшу фітоценотичну значущість складають водні угруповання рідкісного виду *Potamogeton alpinus* Balb., включених до «Зеленої книги України» (2009), наявність яких була підтверджена нами у 2006 році.

Таким чином, тенденції змін рослинності боліт і водойм, що відбулися як під впливом антропогенного навантаження, так і змін клімату у регіоні, а також вагома гідрологічна роль цих екосистем у верхів'ї водозбору р. Тиса, свідчать, зокрема, про необхідність посилення природоохоронного режиму і відповідно, надання їм статусу Рамсарських угідь.

Висновки

1. У нижньому лісовому поясі верхів'я р. Тиса наявні чотири оліготрофні й одне мезотрофне болото, рослинний покрив яких поступово трансформується у рослинність інших типів організації (лучна, чагарникова, лісова) через антропогенні зміни гідрологічного режиму басейну цієї ріки та зміни клімату. Для посилення природоохоронного режиму їм необхідно надати статусу Рамсарських угідь.

2. У високогір'ї Українських Карпат

пропонується надати статусу Рамсарського угіддя озеру Герешаска, екосистема якого характеризується рідкісними рослинними угрупованнями, на які теж негативно впливають зміни клімату.

3. На Закарпатській низовині пропонується надати статусу Рамсарських угідь гідрологічному заказнику Товар, який характеризується наявністю рідкісних рослинних угруповань водної рослинності, має важливе значення як оселище для водоплаваючих птахів, а також відіграє дуже важливу гідрологічну роль для ландшафтів низовини.

Список літератури:

1. Брадiс Є.М. Оліготрофні болота Закарпатської області / Є.М. Брадiс., Т.Л. Андриєнко, Є.П. Лихобабiна // Укр. ботан. журн., 1969. – 26, №1. – С. 29-34.
2. Зелена книга України. Рідкісні і такі, що перебувають під загрозою зникнення, та типові природні рослинні угруповання, які підлягають охороні. / Під заг. ред. член-кореспондента Національної ака-демії наук України Я. П. Дiдуха. – К., 2009. – 446 с.
3. Ковальчук А.А. Опис деяких болотних угідь// А.А. Ковальчук, Л. М. Фельбаба-Клушина, Н.Е. Ковальчук та ін. Болотні екосистеми регіону Східних Карпат в межах України. – Ужгород: Ліра, 2006. – С. 174-211.
4. Комендар В.І. Вересово-сфагнове болото на Закарпатті / В.І. Комендар, С.С. Фодор // Укр. ботан. журн., 1960. – XVII, № 3. – С. 79-81.
5. Малиновський К.А. Рослинність високогір'я Українських Карпат / К.А. Малиновський. – К.: Наук. думка, 1980. – 280 с.
6. Поп С.С. Природно-заповідний фонд Закарпатської області / С.С. Поп, Л.А. Потiш, А.В. Мигаль та ін. //Заг. ред. С.С. Поп. – Ужгород: Карпати, 2011. – 256 с.
7. Фельбаба-Клушина Л.М. Різноманіття та

ценотична структура трав'яних болiт Закарпатської низовини / Л.М. Фельбаба-Клушина // Наук. вісн. Ужгородського ун-ту. Серія Біологія, вип. 24. – 2008. – С. 258-261.

8. Фельбаба-Клушина Л.М. Сучасний стан та тенденції змін рослинного покриву болота Чорне Багно у Вулканічних Карпатах (Закарпаття) / Л.М. Фельбаба-Клушина // Фіторізноманіття Карпат: сучасний стан, охорона та відтворення: Матер. Міжнар. наук. конф., присвяченої 15-річчю Міжвідомчої науково-дослідної лабораторії охорони природних екосистем Ужгородського національного університету (11-13 вересня 2008 р., м. Ужгород, Україна). – Ужгород: Ліра, 2008. – С.161-163.

9. Фельбаба-Клушина Л. М. Рослинний покрив болiт і водойм верхів'я басейну р. Тиса (Українські Карпати) та флювіальна концепція його охорони / Л.М. Фельбаба-Клушина. – Ужгород: Поліграфцентр «Ліра», 2010. – 192 с.

10. Червона книга України. Рослинний світ/ Під заг. ред. член-кореспондента Національної академії наук України Я. П. Дiдуха. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 912 с.

11. Kozij G. Stratygrafia I typu florystyczne torfowisk Karpat Pokutckich / G. Kozij.- Pamietn. Inst. gosp. wiejskiego (Puławy). – 1934. – 15. – S. 160-226.

12. Kreczek J., Haigh M. (Eds.) Environmental Role of Wetlands in Headwaters //http://www.springer.com/environment/environmental+management/book/978-1

13. Kricsfalusy V.V. Ukrainian section I-II. / V.V. Kricsfalusy, M.Yu. Danilyuk, Yu. Krochko I. et al. // The Upper Tisa Valley. Preparatori proposal for Ramsar site designation and an ecological background Hungarian, Romanian, Slovakian and Ukrainian co-operation /Eds.Hamar, J. & A. Sărkány-Kiss. – Szeged, 1999. – P. 13-50, 79-89.

14. Mosyakin S.L. Vascular plants of Ukraine a nomenclatural checklist / S.L. Mosyakin, M.M. Fedoronchuk / Editor: S.L. Mosyakin // M.G. Kholodny Institute of Botany. – Kyiv, 1999. – 234 p.

WETLANDS AND PONDS OF UPPER TISZA RIVER (UKRAINIAN CARPATHIANS): PROSPECTS TO GIVE THEM THE STATUS OF RAMSAR SITES

L.M. Felbaba-Kluhina

The upper Tisza river basin in the Ukrainian Carpathians is characterized as a most humid region of Ukraine. Therefore, since the glacial period and to the beginning of the last century there existed very favorable conditions for the emergence of swamps and ponds. Nowadays most swamps drained, and the process wetlands and natural water bodies formation is restricted, in particular, by the introduction of anti-flood measures. The vegetation of oligotrophic bogs is in critical condition as through changes in hydrological regime of the territory, warming and complete non-adherence protected areas regime. These natural objects need careful protection. All together, we proposed seven objects to Ramsar status sites: four oligotrophic swamps and one mesotrophic swamp, located in the lower forest belt at altitudes of 650-850 meters above sea level (Gluhania Black and Bagno Zamshatka in Gorgan, Bagno and Sinye Ozero on a volcanic ridge), to Tovar floodplain complex in the lowlands (110 m above sea level) and mountain lakes Hereshaska on Svydovets ridge (1750 m. above sea level). It is established that there is disappearance of certain species of vascular plants and mosses in oligotrophic swamps, strengthening the role of species with broad ecological amplitude. Sinye ozero, the mesotrophic bog is overgrown by shrubs due to falling of ground water level. Similar changes occur in Tovar floodplain complex, which is characterized by the presence of rare plant communities of aquatic vegetation and is important as habitat for waterfowls and plays an important hydrological role for lowland landscapes. The least pronounced changes were observed in the alpine lake Hereshaska. However, alpine lakes are negatively affected by global warming and touristic activities also. Therefore, introduction and full protection of the areas with restriction of touristic activity are a necessary condition to preserve these objects.

Keywords: Tisza upper basin, Transcarpathian marshes, ponds, group dynamics, Ramsar sites.

Одержано редколегією 11.05.2015

ЕКОЛОГО-ЦЕНОТИЧНА ПРИУРОЧЕНІСТЬ *CAREX DIOICA* (*CYPERACEAE*) В УКРАЇНІ

С. В. СОСНОВСЬКА, І. М. ДАНИЛИК

Інститут екології Карпат НАН України, вул. Козельницька, 4, Львів 79026, Україна,
e-mail: SvetlaZmestieva@yandex.ru

Наведено результати еколого-ценотичної приуроченості *Carex dioica* L. (*Cyperaceae* Juss.) в Україні. З'ясовано, що характерними ектопами для осоки дводомної є помірно-обводнені осоково-гіпнові, сфагново-осокові відкриті або рідколісні болота, заболочені заплави річок і береги озер тощо. Вид трапляється в регіонах з геміконтинентальним кліматом, що зумовлює його поширення як на рівнині, так і у високогір'ї. За відношенням до основних кліматичних показників, таких як терморезим, омброрезим та кріорезим, відзначається стенопоною амплітудою та належить до субмікротермів, сумомброфітів і субкріофітів відповідно. Враховуючи едафічні характеристики досліджених оселищ, діапазон толерантності *C. dioica*, в порівнянні з кліматом, є дещо ширшим. Встановлено, що вона є мезотрофом, проте часто трапляється на мезооліготрофних, олігомезотрофних і мезоевтрофних ділянках боліт. Вид належить до субгеліофітів і здатен витримувати незначну ступінь затінення, що визначає його приуроченість до лісоболотних типів оселищ. Осока дводомна – гігрофіт, гемігідроконтрастофоб, росте на вологих, слабоаерованих, торф'яних ґрунтах з рН=5,5-6,5, відносно бідних щодо мінерального азоту. Вид належить до групи гемікарбонатофобів, проте також виявлений в складі кальцефільних угруповань. На підставі проведеного фітоценологічного аналізу визначено приналежність *C. dioica* до угруповань 2 класів рослинності (*Scheuchzeria palustris*-*Caricetea nigrae* Tüxen 1937, *Oxycocco-Sphagnetum* Br.-Bl. et Tüxen), 4 порядків (*Caricetalia davallianae* Br.-Bl. 1949, *Caricetalia nigrae* Koch 1926 em. Br.-Bl. 1949, *Scheuchzeria palustris* Nordhagen 1936, *Sphagnetalia magellanici* Kästner et Flössner 1933), 6 союзів (*Caricion davallianae* Klika 1934, *Sphagno warnstorffii-Tomentypnion nitentis* Dahl 1956, *Caricion canescenti-nigrae* Nordhagen 1937, *Sphagno-Caricion canescentis* Passarge (1964) 1978, *Caricion lasiocarpae* Vanden Berghen in Lebrun et al. 1949, *Sphagnion magellanici* Kästner et Flössner 1933) і 7 асоціацій (*Valeriano dioicae-Caricetum davallianae* (Kuhn 1937) Moravec in Moravec et Rybníčková 1964, *Meniantho trifoliatae-Sphagnetum teretis* Warén 1926, *Caricetum nigrae* Braun 1915, *Sphagno recurvi-Caricetum rostratae* Steffen 1931, *Sphagno recurvi-Caricetum lasiocarpae* Zólyomi 1931, *Drepanoclado revolventis-Caricetum lasiocarpae* (Koch 1926) Rybníček 1984, *Sphagno-Pinetum sylvestris* Kobendza 1930). Фітоценотичний оптимум виду знаходиться в межах асоціації *Drepanoclado revolventis-Caricetum lasiocarpae* та *Sphagno recurvi-Caricetum lasiocarpae*. Послаблення ценотичних позицій *C. dioica* спостерігається в складі лісоболотних угруповань, а також під впливом різноспрямованих сукцесійних змін досліджених оселищ (евтрофізація ценозів, формування лучних екотопів і т.д.), індукованих порушенням їх гідрологічного режиму тощо, що зумовлюють її подальше повне витіснення.

Ключові слова: *Carex dioica* L., екологія, ценологія, Україна.

Carex dioica L. (осока дводомна) – євразійський вид, ареал якого охоплює Арктику, Сибір, Північну, Атлантичну, Центральну й Південну Європу (Chater, 1980; Малышев, 1990; Черепанов, 1995; Егорова, 1999; Kochur, 2008). В Україні він перебуває на південній межі свого поширення й відомий з території Полісся, Розточчя-Опілля, Поділля, Лісостепу, Прикарпаття й Карпат, однак більшість його місцезнаходжень не підтверджені сучасними знахідками (Sosnovska, Danylyk, Serednytska, 2013). Лише окремі праці (Алексеев, Абрамова, 1980; Андрієнко, Прядко, 1980; Bernard, 1990; Алексеев, 1996; Егорова, 1966; 1999; Starr et al, 2008 та ін.) присвячені вивченню *C. dioica*, і стосуються, переважно, морфології, біології, систематики тощо. Проте з огляду на сучасний природоохоронний статус, визначений в

останньому виданні “Червоної книги України” (Андрієнко, Прядко, 2009), цей раритетний вид і досі не отримав належної уваги в аспекті хорологічних, фітоценологічних, созологічних досліджень тощо, які є неодмінною передумовою для обґрунтування наукових засад його охорони та збереження.

Зокрема, фрагментарними й певною мірою дискусійними є відомості стосовно еколого-ценотичної приуроченості *C. dioica*. Так, Є.М. Брадїс зараховувала її до мезотрофно-евтрофних видів, які ростуть на перехідних і низинних болотах (Брадїс, 1972). За даними Т.Л. Андрієнко зі співавторами основними ектопами для *C. dioica* є досить обводнені мезотрофні рідколісні або відкриті болота, де вона трапляється в осоково-сфагнових асоціаціях з домінуванням *Carex lasiocarpa*, *C. limosa*,

C. nigra, *C. chordorrhiza* тощо (Андриєнко, Прядко, 1980; Андриєнко, 2010; Лукаш, Андриєнко, 2011). Д.К. Зеровим вид виявлений в осоково-гіпнових ценозах на території Лівобережного Придніпровського Лісостепу та Чернігівського Полісся (ас. *Carex dioica-Drepanocladus aduncus*) (Зеров, 1938).

Для території Українського Полісся *C. dioica* наводилась також І.М. Григорою у складі сосново-бобівниково-сфагнових лісоболотних угруповань, а саме: для асоціації *Pinus sylvestris-Menianthes trifoliata-Carex lasiocarpa-Sphagnum fallax*, а також для ценозів перехідних боліт разом з *Rhynchospora alba*, *Molinia caerulea*, *Salix lapponum*, *Carex lasiocarpa*, *C. limosa* та сфагновими мохами: *Sphagnum cuspidatum*, *Sph. fallax* (Григора, 1985). У межах Словечансько-Овруцького кряжу (Житомирське Полісся) *C. dioica* відмічена Т.Л. Андриєнко, Г.К. Смик і М.М. Бортняк у складі болотних осоково-сфагнових угруповань за участю *Carex nigra*, *C. panicea*, *C. flava*, *Rhynchospora alba*, *Oxycoccus palustris* і *Sphagnum subsecundum* (Андриєнко, 1984; Смик, Бортняк, 1984). Загалом для території Східного Полісся *C. dioica* наводилась для угруповань союзу *Caricion canescenti-nigrae* Nordhagen 1937 класу *Scheuchzerio palustris-Caricetea nigrae* Tüxen 1937 (Лукаш, 2008). Що стосується екології виду, то окремі відомості з цього питання знаходимо в працях Т.Л. Андриєнко, Ю.С. Алексеєва, Т.В. Егорової тощо (Егорова, 1966, 1976; 1999; Андриєнко, Прядко, 1980; Алексеєв, 1987; Андриєнко, 2010 та ін.).

Слід констатувати, що переважна більшість геоботанічних описів за участю *C. dioica* виконана відомими болотознавцями протягом 70-90-х рр. у відповідності з принципами доміантної класифікації, що не цілком узгоджуються з сучасною еколого-флористичною методологією. Окрім того, в наявних публікаціях зазвичай містяться лише часткові дані про видовий склад досліджених угруповань, що в підсумку не дають можливості скласти повну еколого-ценотичну характеристику цього виду. Цим і зумовлена актуальність виконаної нами роботи.

Методи досліджень. Дослідження проводили протягом 2010-2014 рр. на території Західного, Малого Полісся, Розточчя-Опілля та Карпат, де зосереджена більшість наявних локалітетів *C. dioica*. Основою для виділення синтаксонів рослинності слугували власні геоботанічні описи, виконані згідно з принципами еколого-флористичної класифікації Браун-Бланке в сучасному викладенні (Dierschke, 1994; Rastlinné

spoločenství..., 2001; Matuszkiewicz, 2002; Vegetace České republiky..., 2011). Номенклатуру судинних рослин приймали відповідно до зведення С.Л. Мосякіна й М.М. Федорончука (Mosyakin, Fedoronchuk, 1999), а бріофітів – за виданням “Чекліст мохоподібних України” (Бойко, 2008). Екологічний аналіз здійснений з використанням фітоіндикаційних шкал Я.П. Дідуха й П.Г. Плюти (Екофлора України, 2000; Дідух, 2012).

Результати та їх обговорення. На території України характерними ектопами для *C. dioica* є помірно-обводнені осоково-гіпнові, сфагново-осокові відкриті або рідколісні болота, заболочені заплави річок і береги озер тощо. Вид трапляється в регіонах з геміконтинентальним кліматом, що зумовлює його поширення як на рівнині, так і у високогір’ї. За відношенням до основних кліматичних показників, таких як терморезим, омброрезим та кріорезим вид відзначається стенопоною амплітудою та належить до субмікротермів, сумомброфітів і субкріофітів відповідно (табл. 1).

З огляду на едафічні характеристики досліджених оселищ, діапазон толерантності *C. dioica*, в порівнянні з кліматопом, є дещо ширшим (табл. 1). Вона є мезотрофом, що однак часто трапляється на мезооліготрофних, олігомезотрофних і мезоевтрофних ділянках боліт. Вид належить до субгеліофітів і здатен витримувати незначну ступінь затінення, що визначає його приуроченість до лісоболотних типів оселищ з домінуванням *Pinus sylvestris*. Осока дводомна – гігрофіт, гемігідроконтрастофоб, росте на вологих, слабоаерованих, торф’яних ґрунтах з рН=5,5-6,5, відносно бідних щодо мінерального азоту. Вид належить до групи гемікарбонатофобів, хоча як свідчить проведений аналіз, також трапляється в складі кальцефільних угруповань (ас. *Valeriano dioicae-Caricetum davallianae* (Kuhn 1937) Moravec in Moravec et Rybníčková 1964 та ін.) (Borsukevych, Sosnovska, 2013).

У результаті проведених фітоценологічних досліджень нами встановлено приналежність *C. dioica* до угруповань 2 класів рослинності, 4 порядків, 6 союзів та 7 асоціацій. Нижче наводимо їх класифікаційну схему:

Cl. *Scheuchzerio palustris-Caricetea nigrae* Tüxen 1937

Ordo *Caricetalia davallianae* Br.-Bl. 1949

All. *Caricion davallianae* Klika 1934

Ass. *Valeriano dioicae-Caricetum davallianae* (Kuhn 1937) Moravec in Moravec et Rybníčková 1964

All. *Sphagno warnstorffii-Tomentypnion nitentis*
Dahl 1956

Ass. *Meniantho trifoliatae-Sphagnetum teretis*
Warén 1926

Ordo *Caricetalia nigrae* Koch 1926 em. Br.-Bl.
1949

All. *Caricion canescenti-nigrae* Nordhagen 1937
Ass. *Caricetum nigrae* Braun 1915

All. *Sphagno-Caricion canescentis* Passarge
(1964) 1978

Ass. *Sphagno recurvi-Caricetum rostratae*
Steffen 1931

Ass. *Sphagno recurvi-Caricetum lasiocarpae*
Zólyomi 1931

Ordo *Scheuchzeritalia palustris* Nordhagen 1936

All. *Caricion lasiocarpae* Vanden Berghen in
Lebrun et al. 1949

Ass. *Drepanoclado revolvantis-Caricetum*
lasiocarpae (Koch 1926) Rybníček 1984

Cl. *Oxycocco-Sphagnetea* Br.-Bl. et Tüxen

Ordo *Sphagnetalia magellanici* Kästner et
Flössner 1933

All. *Sphagnion magellanici* Kästner et
Flössner 1933

Ass. *Sphagno-Pinetum sylvestris*
Kobendza 1930

Українських Карпат. Описані угруповання за участю *C. dioica* поширені у верхньому лісовому та субальпійському поясах Свидовецького масиву на висоті 1470-1503 м н. р. м. та належать до асоціації *Caricetum nigrae* класу *Scheuchzerio palustris-Caricetea nigrae* (Данилик, Борсукевич, Сосновська, 2014). Загалом виконано 5 геоботанічних описів угруповань, які локалізуються на ділянках схилового мезотрофного болота у місцях витoku джерел й відзначаються наявністю неглибокого шару ґрунту. Видовий склад ценозів налічує здебільшого 20-30 видів з переважанням у трав'яному ярусі *Carex nigra* (40-50%), *C. echinata*, *C. flava*, яким належить едифікаторна роль, а також *Nardus stricta*, *Swertia perennis*, *Eriophorum latifolium*, рідше *Carex rostrata*. Як компоненти угруповання трапляються види лучного та болотного різнотрав'я: *Crepis paludosa*, *Viola biflora*, *Dactylorhiza cordigera*, *Festuca airoides*, *Luzula sudetica*, *Prunella vulgaris* та інші. Моховий покрив не щільний (5-30%, рідше 60%), сформований за участю *Philonotis fontana*, *Drepanocladus aduncus*, *Hylocomiastrum pyrenaicum*, *Dicranella palustris*, *Hamatocaulis vernicosus* та інших. У складі угруповання *C. dioica* виступає співдомінантом трав'яного ярусу з проективним покриттям до 25% (табл. 2).

Уперше встановлено фітоценотичну приуроченість осоки дводомної у високогір'ї

Таблиця 1

Екологічна характеристика *Carex dioica* L.

Table 1

Ecological characteristic of *Carex dioica* L.

Величина екологічної амплітуди, бали											
*Кліматоп					**Едафотоп						
Tm	Om	Cr	Lc	Kn	Hd	Fh	Rc	Tr	Ca	Nt	Ae
7-8	13-14	7-8	7-8	8-9	14-16	4-6	5-8	4-7	4-6	4-6	9-10
Екогрупи за відношенням до основних екологічних факторів											
Стеногопний субмікротерм	Стеногопний Субомброфіт	Стеногопний субкріофіт	Стеногопний субгеліофіт	Стеногопний геміконтинентал	Стеногопний гігрофіт	Стеногопний гемігідроконтрастофоб	Гемістеногопний субацидофіл	Стеногопний мезограф	Стеногопний гемікарбонатифоб	Стеногопний гемінітрофіл	Стеногопний субаерофоб

*Кліматоп: Tm – терморезим, Om – омброрезим, Cr – кріорезим, Lc – світловий режим, Kn – континентальність клімату; **Едафотоп: Hd – вологість ґрунту, Fh – змінність зволоження, Rc – кислотність ґрунту, Tr – засоленість ґрунту, Ca – вміст у ґрунті карбонатів, Nt – вміст азоту в ґрунті, Ae – аерація ґрунту.

Таблиця 2

Фітоценотична характеристика порядку
Caricetalia nigrae Koch 1926 em. Br.-Bl. 1949

Table 2

Coenotic characteristic of *Caricetalia nigrae* Koch 1926
em. Br.-Bl. 1949 order

Номер опису	1	2	3	4	5	6	7	8
Площа опису (м ²)	100	100	100	25	25	25	25	25
Висота над рівнем моря (м)	160	157	158	1482	1482	1503	1470	1487
Загальне проективне покриття (%)	100	95	100	60	70	95	100	95
Покриття деревного ярусу (%)	40	20	3	0	0	0	0	0
Покриття чагарникового ярусу (%)	5	20	10	0	0	0	0	0
Покриття трав'яного ярусу (%)	80	70	70	60	60	90	80	80
Покриття мохового ярусу (%)	95	90	80	5	30	50	30	60
Кількість видів	36	23	38	28	24	22	24	30
Номер синтаксону	1	2	3					
D.s. Ass. Caricetum nigrae								
<i>Carex nigra</i>	2	+	2	+	3	+	+	3
<i>Nardus stricta</i>	.	.	.	+	+	+	3	1
<i>Carex echinata</i>	2	+	.	2	+	.	2	2
D.s. Ass. Sphagno recurvi-Caricetum rostratae								
<i>Carex rostrata</i>	2	1	2	.	.	3	.	+
D.s. Ass. Sphagno recurvi-Caricetum lasiocarpae								
Номер опису	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Carex lasiocarpa</i>	2	.	3
D.s. All. Caricion nigrae								
<i>Carex canescens</i>	1	+	.	+	+	+	.	.
<i>Viola palustris</i>	+	.	+
<i>Agrostis canina</i>	.	.	+
<i>Epilobium palustre</i>	.	.	+	.	.	+	.	.
D.s. All. Sphagno-Caricion canescentis								
<i>Polytrichum strictum</i>	2	+
<i>Eriophorum vaginatum</i>	.	+	+
<i>Galium palustre</i>	.	.	+
<i>Drosera rotundifolia</i>	2	+	+
<i>Oxycoccus palustris</i>	4	3	3
<i>Sphagnum fallax</i>	4	5	4

D.s. Ordo Caricetalia nigrae								
<i>Galium uliginosum</i>	.	.	+
<i>Philonotis fontana</i>	.	.	.	1	.	.	.	2
<i>Carex dioica</i>	2	+	2	2	2	2	1	2
Номер опису	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Carex flava</i>	.	.	.	+	1	1	2	+
<i>Carex panicea</i>	2	.	+
<i>Juncus articulatus</i>	.	.	+	3	2	+	+	+
<i>Potentilla erecta</i>	1	+	2	+	+	+	+	+
D.s. Cl. Scheuchzerio palustris-Caricetea nigrae								
<i>Eriophorum angustifolium</i>	1
<i>Eriophorum latifolium</i>	.	.	.	+	1	+	1	1
<i>Potentilla palustris</i>	1	.	1
<i>Parnassia palustris</i>	+	.	+	+
<i>Juncus effusus</i>	2
<i>Drepanocladus aduncus</i>	.	.	.	1
<i>Triglochin palustre</i>	.	.	.	1	+	.	.	.
<i>Menyanthes trifoliata</i>	2	+	1
D.s. Cl. Oxycocco-Sphagnetea								
<i>Andromeda polifolia</i>	3	+
D.s. Cl. Phragmito-Magnocaricetea								
<i>Iris pseudocyperus</i>	r
Номер опису	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Lythrum salicaria</i>	1	.	+
<i>Agrostis stolonifera</i>	.	.	.	2
<i>Equisetum fluviatile</i>	.	.	.	+	+	+	+	.
<i>Peucedanum palustre</i>	+	.	+
<i>Caltha palustris</i>	.	.	+	+	+	.	+	.
<i>Lysimachia vulgaris</i>	1	+	+
D.s. Cl. Molinio-Arrhenatheretea								
<i>Cardamine pratensis</i>	.	.	.	+	+	.	.	+
<i>Prunella vulgaris</i>	.	.	.	+	+	.	+	+
D.s. Cl. Alnetea glutinosae								
<i>Betula humilis</i>	1	+
<i>Alnus glutinosa</i>	1	+
<i>Salix aurita</i>	1
<i>Salix cinerea</i>	1	+	+
<i>Salix rosmarinifolia</i>	1	+	1

<i>Salix pentandra</i>	.	.	+
<i>Thelypteris palustris</i>	2	.	+
<i>Frangula alnus</i>	1
номер опису	1	2	3	4	5	6	7	8
Інші види								
<i>Carex serotina</i>	+	.	+	.
<i>Deschampsia cespitosa</i>	+	.	.	+	.	.	.	+
<i>Betula pendula</i>	3	1	+
<i>Betula pubescens</i>	1	.	+
<i>Pinguicula vulgaris</i>	+	+	.	+
<i>Pinus sylvestris</i>	1	+	+
<i>Ranunculus polyanthemos</i>	.	.	+	+	.	.	.	+
<i>Luzula sudetica</i>	.	.	.	+	+	+	.	+
<i>Ligusticum mutellina</i>	.	.	.	2	+	.	+	+
<i>Homogyne alpina</i>	.	.	.	+	.	.	+	+
<i>Leontodon autumnalis</i>	.	.	.	+	+	.	.	+
<i>Swertia perennis</i>	.	.	.	+	+	2	1	1
<i>Festuca airoides</i>	+	+	.	+
<i>Juniperus sibirica</i>	+	+	.
<i>Dactylorhiza cordigera</i>	+	+	+
<i>Crepis paludosa</i>	+	+	.
<i>Viola biflora</i>	+	.	+
<i>Carex chondorrhiza</i>	2	1	+

Види, які відмічені лише в одному описі: *Agrostis capillaris* (3; +), *Allium schoenoprasum* (6; 1), *Anemone nemorosa* (7; +), *Aposeris foetida* (4; +), *Aulacomnium androgynum* (3; 3), *Carex appropinquata* (2; 1), *C. limosa* (3; +), *Dactylorhiza incarnata* (3; +), *Dicranella palustris* (4; 1), *Drepanocladus uncinatus* (5; 3), *Epilobium alsinifolium* (4; +), *Gentiana laciniata* (8; +), *Hamatocaulis vernicosus* (6; 2), *Holcus mollis* (3; +), *Hylocomiastrum pyrenaicum* (7; 2), *H. umbratum* (8; 2), *Juncus castaneus* (5; +), *Leucanthemum vulgare* (7; +), *Molinia caerulea* (1; 2), *Myosotis scorpioides* (8; +), *Salix lapponum* (3; +), *Scheuchzeria palustris* (2; +), *Soldanella hungarica* (8; +), *Sorbus aucuparia* (1; +), *Sphagnum quinquefarium* (6; 1), *Thymus alpestris* (4; +), *Trifolium repens* (8; +), *Valeriana officinalis* (3; +).

Місцезнаходження: 1, 2 – південні околиці с. Затишшя, болото на пд.-сх. березі озера Луки (Волинська обл., Шацький р-н); 3 – околиці с. Замостя, болото “Болітце” (Волинська обл., Маневецький р-н); 4, 5, 6, 7, 8 – Свидовець: схиле болото під г. Стіг (Закарпатська обл., Рахівський р-н).

Номери синтаксонів: 1 – *Sphagno recurvi-Caricetum rostratae*; 2 – *Sphagno recurvi-Caricetum lasiocarpae*; 3 – *Caricetum nigrae*.

На рівнинній частині території України осока дводомна приурочена до різноманітних угруповань мезотрофних, мезооліготрофних, олігомезотрофних і мезоевтрофних боліт. У межах Малого (околиці с. Хлівчани, с. Батьківці) та частково Західного Полісся (Білоозерський масив Рівненського ПЗ) *C. dioica* відзначена в складі асоціації *Meniantho trifoliatae-Sphagnetum teretis* союзу *Sphagno warnstorffii-Tomentypnion nitentis* (табл. 3).

Таблиця 3
Фітоценотична характеристика порядку
Caricetalia davallianae Br.-Bl. 1949

Table 3
Coenotic characteristic of *Caricetalia davallianae* Br.-Bl. 1949 order

Номер опису	1	2	3	4	5	6	7
Площа опису (м ²)	100	100	100	100	100	100	100
Висота над рівнем моря (м)	284	198	197	159	213	154	156
Загальне проективне покриття (%)	90	90	100	100	95	100	100
Покриття деревного ярусу (%)	5	25	20	5	20	5	3
Покриття чагарникового ярусу (%)	10	20	20	10	15	5	5
Покриття трав'яного ярусу (%)	90	80	100	90	80	90	95
Покриття мохового ярусу (%)	70	60	40	95	70	25	70
Кількість видів	25	30	42	27	44	31	52
Номер синтаксону	1	2					
D.s. Ass. Valeriano dioicae-Caricetum davallianae							
<i>Carex davalliana</i>	1
<i>Filipendula ulmaria</i>	1	.	+
<i>Sanguisorba officinalis</i>	+
<i>Molinia caerulea</i>	.	1	+	.	+	.	.
D.s. Ass. Meniantho trifoliatae-Sphagnetum teretis							
<i>Carex lasiocarpa</i>	.	3	3	.	3	4	3
<i>Carex rostrata</i>	+	1	.	+	.	1	+
Номер опису	1	2	3	4	5	6	7
<i>Carex limosa</i>	+	+
<i>Menyanthes trifoliata</i>	+	1	.	+	.	1	+
D.s. All. Sphagno warnstorffii-Tomentypnion nitentis							
<i>Agrostis canina</i>	.	1	1	.	.	+	.
<i>Oxycoccus palustris</i>	.	3	3	2	1	2	2
<i>Viola palustris</i>	.	1	1	2	.	.	+
<i>Drosera rotundifolia</i>	.	.	+	+	+	.	+
<i>Equisetum fluviatile</i>	+	+
<i>Eriophorum latifolium</i>	1	.	.
<i>Galium uliginosum</i>	+	1	+	+	+	.	+
<i>Galium palustre</i>	+	1	+	+	+	.	+
<i>Tomentypnum nitens</i>	.	.	.	1	+	.	.

D.s. All. Caricion davallianae							
<i>Dactylorhiza incarnata</i>	+	2
<i>Carex panicea</i>	+	2	+	+	+	+	+
<i>Eupatorium cannabinum</i>	+	.	+
<i>Salix rosmarinifolia</i>	.	1	2	+	+	+	1
<i>Cirsium rivulare</i>	.	.	.	1	.	.	.
номер опису	1	2	3	4	5	6	7
D.s. Ordo Caricetalia davallianae							
<i>Carex dioica</i>	r	2	+	+	r	2	2
<i>Eleocharis quinqueflora</i>	+	.	.
<i>Epipactis palustris</i>	+	.	.
<i>Parnassia palustris</i>	+	.	+
<i>Fissidens adianthoides</i>	+	.	.
<i>Lythrum salicaria</i>	+	+	+
<i>Carex flava</i>	+	.	+
<i>Liparis loeselii</i>	+
<i>Swertia perennis</i>	+	.	.
D.s. Cl. Scheuchzerio palustris-Caricetea nigrae							
<i>Carex echinata</i>	.	1	+	+	.	+	+
<i>Eriophorum angustifolium</i>	.	.	+	.	.	+	.
<i>Potentilla palustris</i>	2	1	2	+	.	+	2
<i>Aulacomnium palustre</i>	3	.	1
<i>Equisetum palustre</i>	+	.	.
<i>Juncus articulatus</i>	+	.	+
<i>Cirsium palustre</i>	+	.	+
номер опису	1	2	3	4	5	6	7
<i>Valeriana simplicifolia</i>	+	.	.
<i>Rhynchospora alba</i>	+	2
<i>Naumburgia thyrsiflora</i>	.	.	+	.	.	+	+
<i>Carex nigra</i>	1	1	1	.	+	.	.
<i>Potentilla erecta</i>	1	1	.	+	2	.	+
<i>Drepanocladus vernicosus</i>	1	.	.
D.s. Cl. Oxycocco-Sphagneteta							
<i>Andromeda polifolia</i>	.	.	.	1	.	+	+
<i>Polytrichum strictum</i>	.	2
<i>Polytrichum commune</i>	.	.	2
<i>Drosera longifolia</i>	+
<i>Sphagnum cuspidatum</i>	2	.
D.s. Cl. Phragmito-Magnocaricetea							
<i>Iris pseudacorus</i>	.	.	+
<i>Lysimachia vulgaris</i>	.	1	1	+	+	+	+
<i>Phragmites australis</i>	2	.	.	3	2	.	.
<i>Peucedanum palustre</i>	.	1	+	.	+	3	1
<i>Lycopus europaeus</i>	+	+
номер опису	1	2	3	4	5	6	7
<i>Mentha aquatica</i>	1
<i>Caltha palustris</i>	.	.	+	.	.	.	+
D.s. Cl. Molinio-Arrhenatheretea							

<i>Lathyrus pratensis</i>	+
<i>Festuca rubra</i>	+	.	+
D.s. Cl. Alnetea glutinosae							
<i>Frangula alnus</i>	+	1	+	.	2	+	+
<i>Salix aurita</i>	.	2	1
<i>Alnus glutinosa</i>	.	.	1	.	+	+	.
<i>Salix cinerea</i>	+	.	1	+	+	+	+
<i>Salix pentandra</i>	+	.	+	.	+	.	.
<i>Thelypteris palustris</i>	+	.	+
Інші види							
<i>Pinus sylvestris</i>	.	2	2	+	2	+	2
<i>Carex chordorrhiza</i>	.	1	+	+	.	+	+
<i>Sieglingia decumbens</i>	.	1	+
<i>Betula pendula</i>	+	2	2	.	2	1	1
<i>Betula pubescens</i>	.	1	+	+	+	+	+
номер опису	1	2	3	4	5	6	7
<i>Viola uliginosa</i>	.	2	2
<i>Sphagnum centrale</i>	.	3	3	5	.	.	3
<i>Carex appropinquata</i>	3	.	1	+	+	.	.
<i>Carex hartmanii</i>	.	.	+
<i>Luzula multiflora</i>	.	.	+	+	.	.	.
<i>Valeriana officinalis</i>	+	.	+

Види, які відмічені лише в одному описі: *Agrostis capillaris* (7; 2), *Alnus incana* (7; +), *Bistorta officinalis* (1; +), *Calamagrostis stricta* (2; +), *Campylopus polygamum* (7; 1), *Carex elata* (7; 1), *C. cespitosa* (6; +), *C. serotina* (7; +), *Drosera intermedia* (7; +), *Geum rivale* (1; +), *Hypericum tetrapetrum* (5; +), *Ligularia bucovinensis* (5; +), *Lotus uliginosus* (1; +), *Mentha arvensis* (6; 1), *Populus tremula* (4; 2), *Salix myrsinifolia* (4; +), *Scutellaria hastifolia* (7; +), *Sphagnum fimbriatum* (2; 3), *Sph. quinquefarium* (5; 4), *Ranunculus flammula* (2; +), *Utricularia intermedia* (7; +), *Veratrum lobelianum* (1; +), *Veronica scutellata* (7; +), *Viburnum opulus* (5; +).

Місцезнаходження: 1 – околиці смт. Івано-Франково, урочище Заливки (ПЗ “Розточчя”) (Львівська обл., Яворівський р-н); 2, 3 – болото в околицях с. Хлівчани (Львівська обл., Сокальський р-н); 4 – болото, ~1,6 км на південь від с. Мельники, поблизу озера Карасинець (Волинська обл., Шацький р-н); 5 – околиці с. Буца (Рівненська обл., Острозький р-н); 6, 7 – околиці с. Озірці, болото “Коза-Березина” (Рівненська обл., Володимирецький р-н).

Номери синтаксонів: 1 – *Valeriano dioicae-Caricetum davallianae*; 2 – *Meniantho trifoliatae-Sphagnetum teretis*.

Угруповання виявлені на мезотрофних, помірно обводнених осоково-сфагнових ділянках боліт, рідколісних або ж з домінуванням сосни звичайної. Флористичну структуру асоціації складають переважно високі (*Carex rostrata*, *C. appropinquata*) та низькі види осок (*C. nigra*, *C. limosa*, *C. panicea*, *C. echinata*), включаючи типові бореальні компоненти: *C. dioica*, *C. chordorrhiza*, а також *C. lasiocarpa*, яка виступає, здебільшого, домінантом трав'яного ярусу з проєктивним покриттям 50-70%. Характерною особливістю досліджених угруповань є наявність добре розвиненого деревно-чагарникового ярусу за участю *Alnus*

glutinosa, *Betula pendula*, *B. pubescens* та видів роду *Salix*: *S. aurita*, *S. rosmarinifolia*, *S. cinerea* та *S. pentandra*. Серед видів з проєктивним покриттям 5-15% представлені *Menyanthes trifoliata*, *Peucedanum palustre*, *Lysimachia vulgaris*, *Potentilla palustris*, *Viola uliginosa*, а також диференційні види союзу: *Agrostis canina*, *Oxycoccus palustris*, *Viola palustris*, *Toментурум nitens* тощо. У складі окремих ценозів спостерігали значну участь у трав'яному покриві *Phragmites australis*, що може свідчити про сукцесійні зміни угруповань в напрямку їх евтрофізації (табл. 3). У моховому покриві домінують сфагнові мохи: *Sphagnum centrale*, *Sph. fimbriatum* з незначною участю видів роду *Polytrichum* (*P. commune*, *P. strictum*). У складі досліджених угруповань осока дводомна виступає асектатором з проєктивним покриттям 5-10%. Вона формує невеликі куртини на більш відкритих рідколісних ділянках у місцях локалізації сфагнових купин, уникаючи конкуренції з боку видів-едифікаторів (*C. lasiocarpa* та ін.). У ценозах з чітко вираженим ярусом *Phragmites australis* спостерігаємо її майже повне витіснення.

Таблиця 4

**Фітоценотична характеристика асоціації
Drepanoclado revolvantis-Caricetum lasiocarpae (Koch
1926) Rybníček 1984**

Table 4

**Coenotic characteristic of *Drepanoclado revolvantis-
Caricetum lasiocarpae* (Koch 1926) Rybníček 1984
association**

Номер опису	1	2	3
Площа опису (м ²)	100	100	100
Висота над рівнем моря (м)	160	163	159
Загальне проєктивне покриття (%)	90	100	100
Покриття деревного ярусу (%)	0	0	0
Покриття чагарникового ярусу (%)	1	5	1
Покриття трав'яного ярусу (%)	80	85	80
Покриття мохового ярусу (%)	80	90	98
Кількість видів	64	52	50
D.s. Ass. <i>Drepanoclado revolvantis-Caricetum lasiocarpae</i>			
<i>Carex lasiocarpa</i>	4	4	.
<i>Equisetum fluviatile</i>	1	1	.
<i>Fissidens adianthoides</i>	1	.	.
<i>Drepanocladus cossonii</i>	4	3	5
<i>Calliergonella cuspidata</i>	2	2	2
<i>Caltha palustris</i>	.	1	1
D.s. All. <i>Caricion lasiocarpae</i>			

<i>Carex chordorrhiza</i>	1	2	1
<i>Carex dioica</i>	1	2	2
<i>Peucedanum palustre</i>	1	1	+
<i>Lysimachia vulgaris</i>	1	1	2
<i>Menyanthes trifoliata</i>	2	1	.
<i>Potentilla palustris</i>	1	1	.
D.s. Ordo Scheuchzericetalia palustris			
<i>Carex rostrata</i>	2	1	.
<i>Carex limosa</i>	1	.	.
<i>Drosera longifolia</i>	1	1	.
D.s. Cl. Scheuchzerio palustris-Caricetea nigrae			
<i>Carex davalliana</i>	2	.	.
<i>Eriophorum angustifolium</i>	1	.	.
<i>Eriophorum latifolium</i>	2	2	.
<i>Triglochin palustre</i>	+	.	.
<i>Naumburgia thyrsoiflora</i>	1	.	+
<i>Equisetum palustre</i>	.	.	2
<i>Carex nigra</i>	2	2	2
<i>Juncus articulatus</i>	1	1	2
<i>Carex flava</i>	1	.	1
<i>Carex panicea</i>	2	2	2
<i>Cirsium palustre</i>	1	1	1
<i>Carex echinata</i>	1	1	.
<i>Potentilla erecta</i>	2	1	2
<i>Campylium stellatum</i>	3	2	.
<i>Parnassia palustris</i>	1	1	.
D.s. Cl. Oxycocco-Sphagnetea			
<i>Drosera rotundifolia</i>	.	1	.
<i>Andromeda polifolia</i>	+	1	.
<i>Oxycoccus palustris</i>	+	1	.
D.s. Cl. Phragmito-Magnocaricetea			
<i>Lythrum salicaria</i>	2	1	1
<i>Lycopus europaeus</i>	1	+	1
<i>Eleocharis palustris</i>	.	1	.
<i>Agrostis stolonifera</i>	+	1	2
<i>Iris pseudacorus</i>	.	.	+
<i>Galium palustre</i>	+	1	1
D.s. Cl. Molinio-Arrhenatheretea			
<i>Poa pratensis</i>	+	+	1
<i>Centaurea jacea</i>	.	.	2
<i>Cardamine pratensis</i>	1	.	1
<i>Prunella vulgaris</i>	+	1	1
<i>Leontodon hispidus</i>	.	.	+
<i>Ranunculus acris</i>	r	.	1
D.s. Cl. Alnetea glutinosae			
<i>Betula humilis</i>	1	1	.
<i>Frangula alnus</i>	+	+	+
<i>Salix aurita</i>	+	+	.
<i>Salix cinerea</i>	1	.	+
<i>Salix rosmarinifolia</i>	1	1	.
<i>Thelypteris palustris</i>	2	1	.
<i>Alnus glutinosa</i>	.	+	.
<i>Salix pentandra</i>	.	+	.
Інші види			
<i>Pinus sylvestris</i>	+	+	.
<i>Carex appropinquata</i>	2	1	.
<i>Carex serotina</i>	1	1	1
<i>Luzula multiflora</i>	+	+	.

<i>Dactylorhiza incarnata</i>	+	.	2
<i>Briza media</i>	1	1	1
<i>Deschampsia cespitosa</i>	+	.	1
<i>Molinia caerulea</i>	+	.	1
<i>Myosotis scorpioides</i>	1	.	+
<i>Succisa pratensis</i>	+	+	.
<i>Mentha arvensis</i>	1	.	2
<i>Linum catharticum</i>	2	1	.
Номер опису	1	2	3
<i>Galium uliginosum</i>	1	1	1
<i>Betula pendula</i>	1	1	.
<i>Betula pubescens</i>	1	1	.

Види, які відмічені лише в одному описі: *Acorus calamus* (3; +), *Calamagrostis stricta* (3; 2), *Carex flacca* (3; 2), *Dactylorhiza majalis* (3; +), *Dicranum bonjeanii* (2; 1), *Eleocharis uniglumis* (3; 2), *Epipactis palustris* (1; +), *Festuca rubra* (3; 1), *Filipendula* *qбл. qine* (3; 1), *Galium verum* (3; +), *Lysimachia nummularia* (3; 1), *Pinguicula vulgaris* (1; +), *Polygala* *qбл. qine* (1; +), *Populus tremula* (1; r), *Potentilla обл. oine* (3; 2), *Ranunculus repens* (3; 2), *Salix purpurea* (3; +), *Scutellaria hastifolia* (1; +), *Selinium carvifolia* (3; +), *Sieglingia decumbens* (2; 1), *Sphagnum fuscum* (2; 2), *Taraxacum officinale* (3; 1).

Місцезнаходження: 1 – околиці с. Мельники, болото “Уничі” (Волинська обл., Шацький р-н); 2 – болото на південь від с. Мельники, поблизу озера Карасинець (Волинська обл., Шацький р-н); 3 – околиці с. Пулемець, болото на *qбл.-сх.* Березі озера Пулемець (Волинська обл., Шацький р-н).

Таблиця 5

**Фітоценотична характеристика асоціації
Sphagno-Pinetum sylvestris Kobendza 1930**

Table 5

**Coenotic characteristic of *Sphagno-Pinetum sylvestris*
Kobendza 1930 association**

Номер опису	1	2
Площа опису (м ²)	100	100
Висота над рівнем моря (м)	197	198
Загальне проективне покриття (%)	100	100
Покриття деревного ярусу (%)	80	50
Покриття чагарникового ярусу (%)	5	10
Покриття трав'яного ярусу (%)	30	90
Покриття мохового ярусу (%)	100	70
Кількість видів	25	26
D.s. Ass. <i>Sphagno-Pinetum sylvestris</i>		
<i>Pinus sylvestris</i>	4	3
<i>Betula pubescens</i>	1	1
D.s. All. <i>Sphagnion magellanicum</i>		
<i>Carex echinata</i>	1	.
<i>Eriophorum vaginatum</i>	2	.
<i>Oxycoccus palustris</i>	2	2
<i>Vaccinium uliginosum</i>	1	.
D.s. Ordo = D.s. Cl. <i>Oxycocco-Sphagneteta</i>		
<i>Drosera rotundifolia</i>	1	.
<i>Polytrichum strictum</i>	2	.
<i>Sphagnum capillifolium</i>	2	.

<i>Sphagnum magellanicum</i>	2	.
<i>Aulacomnium palustre</i>	.	1
D.s. Cl. <i>Scheuchzerio palustris</i> - <i>Caricetea nigrae</i>		
<i>Carex nigra</i>	1	+
<i>Carex panicea</i>	.	+
<i>Menyanthes trifoliata</i>	2	1
Номер опису	1	2
<i>Potentilla erecta</i>	.	+
<i>Carex canescens</i>	1	+
<i>Potentilla palustris</i>	.	1
D.s. Cl. <i>Phragmito-Magnocaricetea</i>		
<i>Peucedanum palustre</i>	.	1
<i>Equisetum fluviatile</i>	.	2
<i>Galium palustre</i>	.	+
<i>Lysimachia vulgaris</i>	1	1
D.s. Cl. <i>Alnetea glutinosae</i>		
<i>Frangula alnus</i>	1	+
<i>Salix aurita</i>	1	+
<i>Salix cinerea</i>	+	1
<i>Salix rosmarinifolia</i>	+	+
<i>Alnus glutinosa</i>	.	1
Інші види		
<i>Carex chordorrhiza</i>	2	.
<i>Carex dioica</i>	+	+
<i>Carex lasiocarpa</i>	2	.
<i>Scheuchzeria palustris</i>	1	.
<i>Betula pendula</i>	1	.
<i>Quercus robur</i>	+	.
<i>Sphagnum fuscum</i>	2	.
<i>Luzula pallidula</i>	.	+
<i>Climacium dendroides</i>	.	1
<i>Sphagnum quinquefarium</i>	.	3

Місцезнаходження: 1, 2 – лісове болото в околицях с. Хлівчани (Львівська обл., Сокальський р-н).

Послаблення фітоценотичних позицій *C. dioica* відбувається також у складі лісоболотних угруповань. Зокрема, на території Волицького заказника (околиці с. Хлівчани) нами виконано 2 описи асоціації *Sphagno-Pinetum sylvestris* класу *Oxycocco-Sphagneteta*, де проективне покриття осоки дводомної не перевищує 1-2% (табл. 5). Угруповання приурочене до мезооліготрофних ділянок болота з порівняно небагатим видовим складом (не більше 26 видів), де основна едифікаторна роль належить *Pinus sylvestris* та *Betula pubescens*. Серед компонентів деревно-чагарникового ярусу з проективним покриттям до 5% представлені *Frangula alnus*, *Alnus glutinosa*, *Salix aurita*, *S. cinerea*, *S. rosmarinifolia*. У трав'яному ярусі переважають типові оліготрофні види класу: *Eriophorum vaginatum*, *Oxycoccus palustris*, *Vaccinium uliginosum*. Значна участь належить також видам мезотрофного блоку: *Carex lasiocarpa*, *C. nigra*, *C. panicea*, *C. canescens*, *Menyanthes trifoliata*, *Potentilla erecta*, *P. palustris*. У моховому покриві трапляються

Sphagnum capillifolium, *Sph. magellanicum*, *Sph. fuscum*, *Sph. quinquefarium*, *Polytrichum strictum*, а також *Climacium dendroides* і *Aulacomnium palustre* (табл. 5). Як свідчить проведений аналіз, подальші сукцесійні зміни досліджених угруповань у напрямку повного заліснення території будуть супроводжуватись витісненням більшості геліофітних видів, зокрема й осоки дводомної.

Сукцесійні зміни, викликані порушенням гідрологічного режиму є вагомою загрозою існування *C. dioica* на Розточчі. У результаті проведення активних меліоративних робіт протягом останніх десятиліть відбулась значна деградація типових для території болотних кальцефільних угруповань (союз *Caricion davallianae* тощо), на місці яких формуються різноманітні евтрофні ценози зі зміненим видовим складом. У межах ПЗ "Розточчя" в ур. Заливки *C. dioica* відзначена нами в складі одного з таких угруповань, яке, відповідно до сучасних синтаксономічних схем, доцільно зарахувати до асоціації *Valeriano dioicae-Caricetum davallianae* (табл. 3). На дегресивні зміни фітоценозу вказує доволі збіднений флористичний склад (не більше 25 видів) та відсутність багатьох діагностичних видів, серед яких з проективним покриттям не більше 5% представлені лише *Carex davalliana*, *Filipendula ulmaria*, *Sanguisorba officinalis*. На евтрофний характер розвитку угруповання вказує значне переважання у трав'яному ярусі *Phragmites australis* і *Carex appropinquata*. Деревно-чагарниковий ярус слабо розвинений і сформований з *Frangula alnus*, *Betula pendula*, *Salix cinerea*, *S. pentandra*. Покриття мохового ярусу досягає 70%, у якому монодомінантом є *Aulacomnium palustre*. У складі асоціації спорадично представлені види лучного та болотного різнотрав'я: *Potentilla palustris*, *Carex rostrata*, *C. nigra*, *C. panicea*, *Festuca rubra*, *Lathyrus pratensis*, *Galium uliginosum*, *G. palustre*, *Dactylorhiza incarnata*, *Geum rivale*, *Bistorta officinalis* та інші (табл. 3). Наявність єдиного виявленого екземпляру осоки дводомної в цьому деградованому угрупованні є проявом стрес-толерантного типу стратегії виду та вказує на його можливе зникнення при проходженні подальших сукцесійних стадій.

На території Західного Полісся *C. dioica* відмічена нами як компонент мезооліготрофних, мезотрофних і мезоевтрофних ценозів у складі 3 асоціацій (табл. 2, 4). Одна з них – *Sphagno recurvi-Caricetum rostratae* – охоплює угруповання мезооліготрофних осоково-сфагнових боліт, що сформувались на березі

озера Луки в районі Шацького Поозер'я. Ценози відзначаються добре розвиненим деревно-чагарниковим ярусом, який формують *Pinus sylvestris*, *Frangula alnus*, *Alnus glutinosa*, *Betula humilis*, *B. pendula*, *B. pubescens*, *Salix aurita*, *S. cinerea*, *S. rosmarinifolia*, *S. pentandra* та інші. Типовими домінантами трав'яного та мохового ярусу виступають *Carex rostrata* (проективне покриття 25-30%) та *Sphagnum fallax* (проективне покриття 80-90%). Постійними співдомінантами трав'яного ярусу є *Carex nigra*, *Potentilla erecta*, *Menianthes trifoliata* та інші. В угрупованні добре представлені діагностичні види союзу, а саме: *Eriophorum vaginatum*, *Oxycoccus palustris*, *Drosera rotundifolia*, *Galium palustre*, *Polytrichum strictum*. Спорадично трапляються *Lythrum salicaria*, *Peucedanum palustre*, *Andromeda polifolia*, *Carex panicea*, *Viola palustris*. Серед бореальних компонентів угруповання слід відзначити *Carex lasiocarpa*, *C. dioica* й *C. chordorrhiza* тощо. Проективне покриття осоки дводомної в одному з описів досягає 15-20%, що може свідчити про її ценотичний оптимум у складі дослідженої асоціації (табл. 2).

Подібним флористичним складом відзначається угруповання *Sphagno recurvi-Caricetum lasiocarpae*, описане на олігомезотрофному болоті в околицях с. Замостя (Волинська обл.). Едифікаторна роль у ньому належить *Carex lasiocarpa* з проективним покриттям до 50% і *Sphagnum fallax*, який утворює майже суцільний моховий покрив з незначною домішкою *Aulacomnium androgynum*. Співдомінантами трав'яного ярусу є переважно види мезотрофного блоку, зокрема *Carex rostrata*, *C. nigra*, *Potentilla erecta*, *Menianthes trifoliata*, а також *C. dioica*, покриття якої у складі асоціації досягає 20% (табл. 2).

На території Шацького Поозер'я осока дводомна була також відзначена в ценозах осоково-гіпнових боліт. Виконані нами геоботанічні описи в околицях озер Пулемець, Карасинець та на болоті "Уничі" дають підстави зарахувати їх до асоціації *Drepanocladus revolvantis-Caricetum lasiocarpae* союзу *Caricion lasiocarpae* (табл. 4). Характерною рисою угруповань є їх багатий видовий склад (більше 50 видів) та приуроченість здебільшого до відкритих ділянок боліт з слабо розвиненим чагарниковим ярусом. Серед діагностичних видів асоціації едифікаторна роль належить *Carex lasiocarpa* та гіпновим мохам: *Drepanocladus cossonii*, *Calliergonella cuspidata*, *Campylopusium stellatum*. Присутність сфагнових мохів, зокрема *Sph. fuscum* з проективним покриттям більше 20%, відмічено лише в одному

з описів (табл. 4). Серед видів асектаторів з проективним покриттям до 10% представлені: *Menyanthes trifoliata*, *Eriophorum latifolium*, *Carex rostrata*, *C. panicea*, *C. appropinquata*, *Lythrum salicaria*, *Lysimachia vulgaris* та інші. Як компоненти ценозу спорадично трапляються *Carex limosa*, *C. davalliana*, *C. flava*, *Naumburgia thyrsoflora*, *Triglochin palustre*. Значна участь у складі угруповання належить також бореальним видам: *Carex chordorrhiza* й *C. dioica*. Мозаїчна структура дослідженого угруповання на пн.-сх. березі озера Пулемець, як і відсутність одного з діагностичних видів (*Carex lasiocarpa*) асоціації *Drepanoclado revolvantis-Caricetum lasiocarpae* свідчать про початкові етапи сукцесії в напрямку формування лучного фітоценозу, що супроводжується збільшенням участі видів класу *Molinio-Arrhenatheretea* R. Tüxen 1937 та витісненням представників болотних екотопів (табл. 4).

Висновки. У результаті проведених досліджень встановлено приуроченість *C. dioica* до угруповань мезотрофних, мезооліготрофних, олігомезотрофних і мезоевтрофних боліт (осоково-сфагнових та осоково-гіпнових), що належать до 2 класів рослинності, 4 порядків, 6 союзів та 7 асоціацій. Фітоценотичний оптимум знаходиться в межах асоціацій *Drepanoclado revolvantis-Caricetum lasiocarpae* та *Sphagno recurvi-Caricetum lasiocarpae*. За низкою екологічних параметрів вид відзначається переважно стенотопною амплітудою і належить до групи субмікротермів, субомброфітів, субкріофітів, субгеліофітів, геміконтиненталів, гігрофітів, гемігідроконтрастофобів, субацидофілів, мезотрофів, гемікарбонатобів, гемінітрофілів і субаерофобів.

Список літератури:

1. Алексеев Ю.Е. Род 17. Осока – *Carex* L. // Определитель высших растений Украины. – К.: Наук. думка, 1987. – С. 422-432.
2. Алексеев Ю.Е. Осоки (морфология, биология, онтогенез, эволюция). – М.: Аргус, 1996. – 252 с.
3. Алексеев Ю.Е. Абрамова Л.И. Осока двудомная // Биологическая флора Московской области: сборник / под ред. Т.А. Работнова. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – Т. 6. – С. 177-180.
4. Андриенко Т.Л. Рідкісні бореальні види на рівнині України / наук. ред. В.В. Протопова. – К.: Фітосоціоцентр, 2010. – 104 с.
5. Андриенко Т.Л., Прядко О.І. Поширення і еколого-ценотичні особливості *Carex dioica* L. та *C. chordorrhiza* Ehrh. на Україні // Укр. ботан. журн. – 1980. – Т. 37, № 3. – С. 7-10.
6. Андриенко Т.Л., Прядко О.І. *Carex dioica* L. – осока дводомна // Червона книга України. Рослинний світ / за ред. Я.П. Дідуха. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – С. 88.
7. Андриенко Т.Л., Попович С.Ю., Прядко Е.И. Находки на Словечанско-Овручской возвышенности (Украинское Полесье) // Бот. журн. – 1984. – Т. 69, № 7. – С. 958-962.
8. Бойко М.Ф. Чекліст мохоподібних України. – Херсон: Айлант, 2008. – 232 с.
9. Брадис Е.М. Растительный покров болот как показатель их типа по условиям питания // Основные принципы изучения болотных биогеоценозов. – Л.: Наука, 1972. – С. 29-38.
10. Григора І.М. Еколого-ценотичні особливості сосново-бобівниково-сфагнових угруповань Українського Полісся // Укр. ботан. журн. – 1985. – Т. 42, № 5. – С. 56-61.
11. Данилик І.М., Борсукевич Л.М., Сосновська С.В. Унікальна популяція *Carex dioica* (*Cyperaceae*) у високогір'ї Свидовця (Українські Карпати) // Укр. ботан. журн. – 2014. – 71, № 2. – С. 209-213.
12. Дідух Я.П. Основи біоіндикації. – К.: Наук. думка, 2012. – 344 с.
13. Егорова Т.В. Осоки СРСР. Види подрода *Vignea*. – М.: Наука, 1966. – 265 с.
14. Егорова Т.В. Сем. *Cyperaceae* Juss. – Осоковые // Определитель растений Средней Азии. – Ташкент, 1976. – Т. 5. – С. 6-98.
15. Егорова Т.В. Осоки (*Carex* L.) России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР) / отв. ред. А.Л. Тахтаджян. – СПб.: Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия; Сент-Луис: Миссурийский ботанический сад, 1999. – 772 с.
16. Екофлора України / Я.П. Дідух, П.Г. Плюта, В.В. Протопова та ін. / відпов. ред. Я.П. Дідух. – К.: Фітосоціоцентр, 2000. – Т. 1. – 284 с.
17. Зеров Д.К. Болота УРСР. Рослинність і стратиграфія. – К.: Вид-во АН УРСР, 1938. – 164 с.
18. Лукаш О.В. Еколого-ценотична приуроченість видів родини *Cyperaceae* Juss. на Східному Поліссі // Укр. ботан. журн. – 2008. – Т. 65, № 2. – С. 198-209.
19. Лукаш А.В., Андриенко Т.Л. Редкие и охраняемые растения Полесья (Польша, Беларусь, Украина, Россия). – К.: Фитосоцицентр, 2011. – 168 с.
20. Мальшев Л.И. *Carex* L. – Осока // Флора Сибири. – Новосибирск: Наука, 1990. – Т. 3 – С. 35-170.
21. Смык Г.К., Бортняк Н.Н. Флористические находки на Словечанско-Овруцком кряже // Бот. журн. – 1984. – Т. 69, № 8. – С. 1096-1099.
22. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. – СПб.: Мир и семья, 1995. – 992 с.
23. Bernard J.M. Life history and vegetative reproduction in *Carex* // Can. J. Bot. – 1990. – Vol. 68, № 7. – P. 1441-1448.
24. Borsukevych L., Sosnovska S. Plant communities with *Carex dioica* L. in Ukraine // Vegetation patterns and their underlying processes: Abstracts of

- 56th Symposium of the International Association for Vegetation Science (26-30 June 2013, Tartu, Estonia). – Tartu, 2013 – P. 20.
25. Chater A.O. *Carex* L. // Flora Europea / T.G. Tutin, V.H. Heywood, N.A. Burges et al. (eds.). – Cambridge, 1980. – Vol. 5. – P. 290-323.
 26. Dierschke H. Pflanzensozioökologie: Grundlagen und Methoden. – Stuttgart: Ulmer, 1994. – 683 S.
 27. Kochur A., Kozak M., Nikel A. Turzycza dwupienna – *Carex dioica* L. // Czerwona Księga Karpat Polskich. Rośliny naczyniowe / Z. Mirek, H. Piękoś-Mirkowa (red.). – Kraków: Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, 2008. – S. 510-511.
 28. Matuszkiewicz W. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski. – Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2002. – 536 s.
 29. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular Plants of Ukraine. A Nomenclatural Checklist. – Kiev: M. G. Kholodny Institute of Botany NAS of Ukraine, 1999. – 345 p.
 30. Rastlinné spoločenstvá Slovenska. 3. Vegetácia mocradí / M. Valachovič (ed.). – Bratislava: Veda, 2001. – 435 pp.
 31. Sosnovska S., Danylyk I., Serednytska S. Distribution of the subgenus *Psyllophora* (Degl.) Peterm. (*Carex* L.) in Ukraine // Biodiv. Res. Conserv. – 2013. – 29. – P. 35–42.
 32. Starr J.R., Harris S.A., Simpson D.A. Phylogeny of the unispicate taxa in *Cyperaceae* tribe *Cariceae* I: generic relationships and evolutionary scenarios // Syst. Bot. – 2008. – 29. – P. 528-544.
 33. Vegetace České republiky. 3. Vodní a mokřadní vegetace. Vyd. 1 / M. Chytrý (ed.). – Praha: Academia, 2011. – 828 s.

ECOLOGICAL AND COENOTIC CHARACTERISTIC OF *CAREX DIOICA* L. (*CYPERACEAE* JUSS.) IN UKRAINE

S. V. Sosnovska, I. M. Danylyk

The results of ecological and coenotical peculiarities of Carex dioica L. (*Cyperaceae* Juss.) in Ukraine are presented. It was found that the most typical ecotopes for this species are moderately flooded sedge-hipnum, sphagnous-sedge open or thin forest bogs, wetlands and floodplains, shores of lakes etc. The species belongs to ecological group of hemi-continentals, that defines its distribution both on the plain territory of Ukraine and in the highlands. As regards to main ecological factors (thermoregime, ombroregime and cryoregime) *C. dioica* is characterized by the stenotopic amplitude and belongs to the group of sub-microtherms, sub-ombrophytes and sub-cryophytes. Taking into consideration the edaphic characteristics of the habitats, the range of tolerance of *C. dioica*, compared to the climatic ones, is somewhat broader. It is mesotrophic species that can also occur on mesooligotrophic, oligomesotrophic and mesoeutrophic sites of bogs. This species is sub-heliophyte, therefore it is able to withstand a minor degree of shading determining its occurrence within forest habitat types. This sedge is hygrophyte, hemi-hydrocontrastophobe, growing on moist, slightly aerated, peat soils with pH=5,5-6,5, relatively poor on mineral nitrogen. *C. dioica* belongs to the group of hemi-carbonatophobes, but also it can be found within calciphilous communities. Based on the coenotic analysis, it was established that *C. dioica* belongs to the communities of 2 classes of vegetation (*Scheuchzerio palustris*-*Caricetea nigrae* Tüxen 1937, *Oxycocco-Sphagnetum* Br.-Bl. et Tüxen), 4 orders (*Caricetalia davallianae* Br.-Bl. 1949, *Caricetalia nigrae* Koch 1926 em. Br.-Bl. 1949, *Scheuchzeritalia palustris* Nordhagen 1936, *Sphagnetalia magellanici* Kästner et Flössner 1933), 6 unions (*Caricion davallianae* Klika 1934, *Sphagno warnstorffii-Tomentypnion nitentis* Dahl 1956, *Caricion canescenti-nigrae* Nordhagen 1937, *Sphagno-Caricion canescentis* Passarge (1964) 1978, *Caricion lasiocarpae* Vanden Berghen in Lebrun et al. 1949, *Sphagnion magellanici* Kästner et Flössner 1933) and 7 associations (*Valeriano dioicae-Caricetum davallianae* (Kuhn 1937) Moravec in Moravec et Rybničková 1964, *Meniantho trifoliatae-Sphagnetum teretis* Warén 1926, *Caricetum nigrae* Braun 1915, *Sphagno recurvi-Caricetum rostratae* Steffen 1931, *Sphagno recurvi-Caricetum lasiocarpae* Zólyomi 1931, *Drepanoclado revolventis-Caricetum lasiocarpae* (Koch 1926) Rybniček 1984, *Sphagno-Pinetum sylvestris* Kobendza 1930). Coenotic optimum of the species is observed within *Drepanoclado revolventis-Caricetum lasiocarpae* and *Sphagno recurvi-Caricetum lasiocarpae* associations. Weakening of *C. dioica* coenotic position is observed within forest-bog communities and under the influence of the successions, passing in different directions (eutrophication of the communities, formation of meadow ecotopes etc.), induced by the changes of hydrological regime, causing further full displacement of this species.

Keywords: *Carex dioica* L., ecology, coenology, Ukraine.

Одержано редколегією 01.04.2015

МОРФОЛОГІЧНА БУДОВА ПЛОДУ І НАСІНИНИ В *IRIS SIBIRICA* L. ТА *GLADIOLUS IMBRICATUS* L. У ЗВ'ЯЗКУ ІЗ СПОСОБАМИ ДИСЕМІНАЦІЇ

Х. І. СКРИПЕЦЬ, А. В. ОДІНЦОВА

Львівський національний університет імені Івана Франка, біологічний факультет, кафедра ботаніки
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
e-mail: xrustysja-skrypec@ukr.net

Подано морфологічну характеристику плодів і насінин *Iris sibirica* L. та *Gladiolus imbricatus* L. Встановлено, що дисемінація в *Iris sibirica* відбувається шляхом балістохорії, а в *Gladiolus imbricatus* – шляхом авто-, балісто- та анемохорії. Визначено, що ефективність дисемінації (висипання насінин з плоду та віддалене рознесення) в *Gladiolus imbricatus* є вищою, ніж в *Iris sibirica* за рахунок повного розкривання коробочки, наявності легких насінин з оперізуючим крилом та прикріплення насінин у верхній частині плоду. Насінини *Iris sibirica* поширюються здебільшого в межах або по краю материнської особини через незначне розкривання плоду та наявність важких насінин без спеціальних морфологічних пристосувань для рознесення.

Ключові слова: косарики черепитчасті, півники сибірські, морфологія плоду, морфологія насінини, дисемінація, балістохорія, анемохорія.

Вступ. Для всіх представників родини Iridaceae характерний плід – нижня синкарпна тригнізда локуліцидна багатонасінна коробочка (Немирович-Данченко, 1985; Goldblatt et al. 1998). За літературними даними (Бобров и др. 2009), плоди Iridaceae розкриваються трьома лопатями, прикріпленими до центральної колонки (дорзивентрально) в роді *Iris* (підродина Iridoideae) та апікальними щілинами – у роді *Gladiolus* (підродина Stacoideae). Ефективність механізмів дисемінації значною мірою визначає здатність виду до підтримання і розширення свого ареалу, тому вивчення способів дисемінації та морфологічних пристосувань до рознесення насінин у двох представників родини Iridaceae флори України – *Iris sibirica* L. і *Gladiolus imbricatus* L., занесених до Червоної книги України (2009), становить значний науковий інтерес у зв'язку з встановленням для них відповідних охоронних заходів.

Матеріали і методи. Плоди та насінини *Iris sibirica* L. збирали в північно-західних околицях с. Ролів Дрогобицького району Львівської області по краю поля, а плоди та насінини *Gladiolus imbricatus* L. – на луці поблизу залізничної колії в с. Кострино Великоберезнянського району Закарпатської області. Спостереження за дисемінацією проводили в природних умовах досліджених популяцій. Розміри плодів визначали за допомогою вимірювальної лінійки з міліметровою шкалою, насінини досліджували за

допомогою бінокюляру МБС-10 (×7), визначення маси насінин проводили на аналітичних вагах типу AXIS A500. Фотографії отримували за допомогою фотокамери марки CANON IXUS 9515.

Результати та їх обговорення.
Морфологічна будова плоду. Коробочка *Iris sibirica* – подовгасто-овальна, тригранна на верхівці, без носика. Середня довжина плоду *Iris sibirica* 26 мм, діаметр зрілого плоду 14 мм, що відповідає опублікованим даним (Чугаєва, 2006). Ми вивили, що розміри плоду дуже залежать від кількості насінин, що дозрівають у плоді (Рис. 1 А, Б). Так, розміри малонасінних плодів є значно меншими (15 мм довжини, 12 мм в діаметрі), ніж розміри плодів з великою кількістю насінин (32 мм довжини, 19 мм в діаметрі). Форма малонасінних плодів трикутна або увігнуто-трикутна в перерізі, з борозенками на радіусах перегородок, в обрисах загострено-еліптична. Форма багатонасінних плодів – опукло-трикутна або округла в перерізі, видовжено-еліптична в обрисах. Забарвлення плоду на початку плодоношення зелене, в кінці плодоношення темно-коричневе. Консистенція оплодня змінюється з м'якстої на тверду і щільну. Насінні зачатки розміщені дворядно у кожному гнізді зав'язі, прикріплюються від основи до верхівки гнізда, не звисають (рис. 2 А). Кількість насінин в одному плоді *Iris sibirica* 69–78, в середньому 74.



Рис. 1. Зрілі розкриті плоди *Iris sibirica* L. з великою кількістю насінин (А) та малонасінні (Б) та розкритий плід *Gladiolus imbricatus* L. (В)

Примітка: Лінійка 1 см.

Fig. 1. Mature disclosed *Iris sibirica* L. fruit with many (А) and few (Б) seeds and open *Gladiolus imbricatus* L. fruit (В)

Note: Ruler 1 cm.

Коробочки *Gladiolus imbricatus* широко-обернутояйцеподібні, тупотригранні, з тонкою стінкою. Середня довжина плоду *Gladiolus imbricatus* 18 мм (15-25 мм), що значно перевищує опубліковані дані (8-10 мм за: Нотов, Наумцев (2003). Діаметр зрілого плоду 9,2 мм (8-10 мм), діаметр розкритого плоду 13 мм. Плоди, сформовані із верхніх квіток суцвіття, як правило не містять зрілих насінин, проте також досягають і розкриваються, але їхні розміри залишаються співставними з розмірами зав'язі квітки, а не фертильного плоду. Упродовж дозрівання коробочка змінює колір із зеленого на світло-коричневий (Рис. 1 В), а консистенція оплодня змінюється із шкірястої на перетинчасту. Насінини розміщені дворядно у верхній половині коробочки і звисають вниз, так що у розкритому плоді повністю експонуються назовні (рис. 2 Б). Кількість насінин в одному плоді *Gladiolus imbricatus* – 14–46, в середньому 36.

Морфологічна будова насінини. Насінини *Iris sibirica* сплюснуті, напівкруглі, округлі, трикутні або яйцеподібні, дрібно зморшкуваті, блискучі, темно-коричневі (Рис. 3 А, Б). Довжина насінини *Iris sibirica* 4,6-4,8 мм, ширина 3,6 мм, що відповідає даним з території України (Сікура, 2014) та дещо менше, ніж за даними з території Росії – довжина 4-6 мм, ширина 4-5 мм (Чугаєва, 2006). В.Н.Чугаєва (2006) та Н.Б.Алексеева

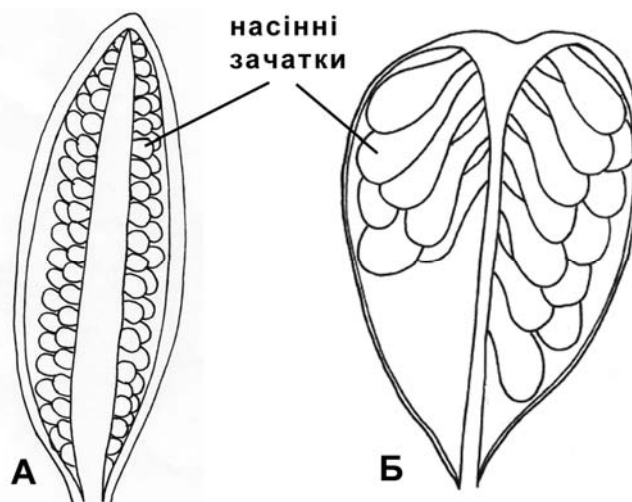


Рис. 2. Внутрішня будова плоду *Iris sibirica* L. (А) та *Gladiolus imbricatus* L. (Б).

Fig. 2. The internal structure of *Iris sibirica* L. (А) and *imbricatus Gladiolus* L. (В) fruits.

(2008) вказують, що насінини *Iris sibirica* мають крило, хоча в нашому матеріалі насінин із крилом не спостерігалось. Спеціальні придатки для рознесення насінин мурахами (елайосоми), які описані в інших видів півників (наприклад *Iris heweri* Grey-Wilson & В. Mathew, *Iris hoogiana* Dykes), у *Iris sibirica* відсутні. Вага 1000 насінин у *Iris sibirica* 11,8 г, вага однієї насінини 0,01-0,03 г, що є меншою, ніж за даними В. Н. Чугаєвої (2006). Насінини не тонуть у воді тривалий час, за даними В. Н. Чугаєвої (2006) – близько одного року.

Насінини *Gladiolus imbricatus* бувають також різної форми: видовжено-еліптичні, яйцеподібні, трикутні, зігнуті, округлі, від 2 до 8 мм завдовжки, крилаті, блискучі, світло-коричневі. Довжина насінини *Gladiolus imbricatus* 0,49-0,59 см, ширина насінини 0,32-0,41 см. Для насінин *Gladiolus imbricatus* вказують наявність летючки (Немирович-Данченко, 1985) або арилуса (Артюшенко, 1990, Нотов. Наумцев, 2003), очевидно маючи на увазі оперізуюче крило. Наявність інших придатків в зрілій насінині нами не підтверджено. Крило напівпрозоре, оперізує насінину майже по всьому діаметру, має дрібну комірчасту зморшкуватість (Рис. 3 В, Г). Вага 1000 насінини у *Gladiolus imbricatus* 2 г, вага однієї насінини близько 0,002 г.

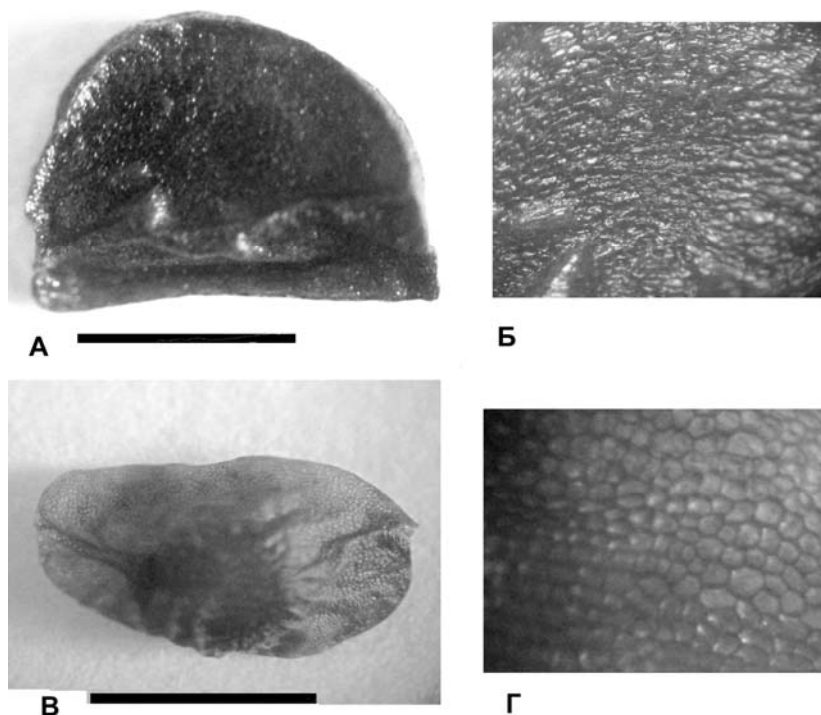


Рис. 3. Загальний вигляд насінини та структура поверхні насінної шкірки *Iris sibirica* L. (А, Б) та *Gladiolus imbricatus* L. (В, Г).

Примітка: Лінійка на А і В – 3 мм, Б і Г – фрагменти насінини з А і В, збільшені в 5 разів.

Fig. 3. General view of seed and structure of seed surface skin of *Iris sibirica* L. (A, B) and *imbricatus Gladiolus* L. (B, D).

Note: Ruler at A and B – 3 mm, B and D – seed fragments from A and B magnified in 5 times

Способи дисемінації. Коробочка *Iris sibirica* розкривається трьома стулками, які досягають лише до 1/3 довжини плоду (рис. 1 А, Б), за іншими даними (Чугаєва, 2006) – до 1/4 довжини плоду, стулки плоду розходяться в сторони несильно. У зв'язку із невеликим ступенем розкривання коробочки, насінини висипаються назовні лише при струшуванні коробочки вітром, отже механізм дисемінації – балістохорія (Левина, 1987). Такий спосіб дисемінації в *Iris sibirica* не є ефективним, про що свідчать повідомлення (Чугаєва, 2006), що в коробочках минулорічних пагонів *Iris sibirica* залишається велика кількість насінин, які не розсіялися упродовж попереднього сезону.

Розсіювання насінин шляхом балістохорії відбувається переважно в межах одної куртини (клону) або навколо куртини, оскільки насінини не мають ніяких пристосувань для поширення вітром. Якщо рослина росте поблизу води, можливе поширення насінин водою (гідрохорія), оскільки насінини *Iris sibirica* не тонуть (Чугаєва, 2006). У досліджуваній популяції можливість поширення насінин водою є мінімальна, оскільки в період дисемінації *Iris sibirica* (червень-липень) на досліджуваній території немає повені, а рівень води не піднімається вище рівня ґрунту.

Коробочка *Gladiolus imbricatus* розкривається трьома стулками майже до основи (Рис. 1 В). Висипання насінин відбувається автохорно через щілини розкривання. Ефективність розсіювання насінин на великі відстані значно підвищується за допомогою вітру, оскільки насінини мають крило валикоподібного типу (пристосування до анемохорії). Квітконос в *Gladiolus imbricatus* тонкий і гнучкий, пристосований до балістохорії, яка також сприяє рознесенню насінин у вітряну погоду. Крило і мала вага забезпечують анемохорне поширення насінин, завдяки чому проростки можуть з'являтися віддалено від материнського організму і не зазнавати впливу внутрішньовидової конкуренції.

Багато півникових, подібно до *Iris sibirica*, не мають пристосувань до поширення насінин – коробочка розтріскується, і насінини поступово висипаються в ґрунт (Немирович-Данченко, 1985). Тобто автохорія є характерною ознакою цілої родини. У зв'язку з цим, пристосування насінин *Gladiolus imbricatus* до анемохорії у вигляді крила, що сприяє далекому рознесенню насінин, є спеціалізованою адаптивною ознакою, зрідка поширеною серед трав'яних рослин середньоевропейської флори.

Обидва досліджені види в природних умовах розмножуються здебільшого вегетативно, про що свідчить відсутність у їхніх популяціях

ювенільних та іматурних особин (Лукаш та ін., 2007). Рознесення насінин на незначну відстань сприяє майбутньому схрещуванню генетично подібних, сусідніх особин в межах клону або між батьківським і дочірніми особинами (віцинізму).

Дальність рознесення *Iris sibirica* у дослідженому локалітеті здебільшого не перевищує висоти генеративного пагона, що означає осідання насінин в межах впливу материнської особини. Як було показано (Kostrakiewicz, 2008), проростки *Iris sibirica* зазнають значної конкуренції з боку дорослих генеративних особин, і ювенільні особини насіннєвого походження з'являються лише по периферії клонів або в проміжках між генеративними пагонами. Таким чином, старіння клонів і віцинізм можуть вважатися основними причинами гальмування насіннєвого відтворення рамет *Iris sibirica*.

Висновки. У *Gladiolus imbricatus* виявлені наступні пристосування для рознесення насінин: довгі щілини розкривання коробочки, прикріплення насінини у верхній половині коробочки, мала вага насінини, оперізуюче крило. Ці особливості сприяють ефективному поширенню насінин шляхом автохорії, балістохорії та анемохорії. В *Iris sibirica* будова насінини і плоду забезпечує дисемінацію лише шляхом балістохорії (короткі щілини розкривання коробочки, прикріплення насінин від основи гнізд коробочки, відсутність морфологічних пристосувань для рознесення насінин), в результаті чого насінини осідають на ґрунт поруч з материнською особиною. Проте середня кількість насінин в одній коробочці є вдвічі більшою, ніж в *Gladiolus imbricatus*. За нашими даними, ефективність дисемінації в *Gladiolus imbricatus* є вищою, ніж в *Iris sibirica*, і

сприяє більш результативному насіннєвому відтворенню популяції цього виду.

Список літератури:

1. Алексеева Н.Б. Род *Iris* L. (Iridaceae) в России. Turczaninowia. – 2008. – Т.11, № 2 – С. 5 – 68.
2. Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений. Семя – Л.: Наука, 1990. 204 с
3. Бобров А.В., Меликян А.П., Романов М.С. Морфогенез плодов Magnoliophyta – М.: Либроком, 2009. 400 с.
4. Левина Р. Е. Морфология и экология плодов. Л.: Наука, 1987. 160 с.
5. Лукаш О.В. Рак О.О, Подорожний Д.С. Види Iridaceae Juss. у заплаві Десни. Укр. Бот. Жур. – 2007. – Т.64, № 3 – С. 382-392.
6. Немирович-Данченко Е.Н. Семейство Iridaceae — Сравнительная анатомия семян. Однодольные – Л.: Наука, 1985. – Т.1, – С. 108–113.
7. Нотов А. А. Биологическая флора Московской области. – М : Гриф и К, 2003. – Вып. 15. – С. 31–49.
8. Сікура Й. Й. Морфологічні особливості плодів та насіння квіткових рослин світової флори. - У: TIMPANI, 2014. – 376 с.
9. Червона книга України. Рослинний світ / за ред. Я. П. Дідуха – Київ: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
10. Чугаева В.Н. Особенности репродуктивной биологии представителей рода *Iris* L. //Вестник ТвГУ. Серия «Биология и экология». – 2006 – Вып. 2, – С. 138-143.
11. Goldblatt P., Manning J., Rudall P. Iridaceae. The Families and Genera of Vascular Plants. Flowering Plants, Monocotyledons. Ed., K. Kubitzki, – 1998 – Vol. 3 – P. 295-325.
12. Kostrakiewicz K. Population structure of a clonal endangered plant species *Iris sibirica* L. in different habitat conditions. Polish Journal of Ecology, 2008. – Vol., 56. 4 – P. 581–592.

FRUIT AND SEED MORPHOLOGY IN *IRIS SIBIRICA* L. AND *GLADIOLUS IMBRICATUS* L. IN RELATION WITH THE MODES OF DISSEMINATION

Ch. Skrypec, A. Odintsova

The morphological characteristics of fruits and seeds of Iris sibirica L. and Gladiolus imbricatus L. are provided. It was established that dissemination in Iris sibirica proceeds by the way of ballistochory and in Gladiolus imbricatus by the way of auto-, ballisto- and anemochory. The effectiveness of dissemination (delivering from the fruit and high area of dispersion) in Gladiolus imbricatus is higher than that of Iris sibirica due to the full capsule rupturing, lightweight seeds with the girdling wing and seeds attachment on the upper part of the fruit. Seeds of Iris sibirica distribute mainly within or on the margings of the parent individuals through a slight rupturing of the fruit and the presence of heavy seeds without special morphological adaptations for the dissemination.

Keywords: Turkish marsh Gladiolus, Siberian Iris, fruit morphology, seed morphology, dissemination, ballistochory, anemochory.

Одержано редколегією 10.02.2015

УДК 624.131.4

ОЦІНКА МЕТОДИК ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ОРГАНІЧНОЇ РЕЧОВИНИ (ГУМУСУ) В ГРУНТІ

М. О. ВЕНГЛІНСЬКИЙ, О. М. ГРИЩЕНКО, Н. В. ГОДИНЧУК,
С. А. РОМАНОВА, В. Б. ГАВРИЛЮК

*Державна установа «Інститут охорони ґрунтів України»
e-mail: obl-rod@ukr.net*

Проведено аналіз методик визначення органічної речовини (гумусу) за нормативними документами ГОСТ 26213-91 Почвы. Методы определения органического вещества і ДСТУ 4289:2004 Якість ґрунту. Методи визначення органічної речовини. Встановлено, що визначення вмісту вуглецю в ґрунті за використаними нормативними документами є рівнозначними. Пропоновані коефіцієнти перерахунку вуглецю в органічну речовину були одні для всіх типів ґрунту (1,724) але згідно ДСТУ 4289:2004 передбачається застосування різних коефіцієнтів перерахунку для п'яти найпоширеніших типів ґрунтів України: дерново-підзолистих ґрунтів коефіцієнт складає 2,09, сірих лісових ґрунтів – 2,05, чорноземів – 1,88, каштанових – 1,97, бурих лісових ґрунтів – 2,07. За вказаним ДСТУ вміст органічної речовини в досліджуваному нами типі ґрунту складатиме вже 3,31 % (більше на 9 %, порівняно з попереднім результатом). Перерахунок вмісту органічної речовини (гумусу) для інших ґрунтів згідно ДСТУ 4289:2004 порівняно з ГОСТ 26213-91 показав, що збільшення цього показника, зокрема для дерново-підзолистих, сірих лісових і бурих лісових ґрунтів складатиме близько 21 %, для каштанових ґрунтів – 14 %.

Ключові слова. методика досліджень, ґрунт, органічна речовина, гумус, вуглець, коефіцієнт перерахунку, оксидиметричний метод.

Вступ. Ґрунт – один із основних природних ресурсів України. Найбільшу його частину складають землі сільськогосподарського призначення – більше двох третин всієї території України (Кримська, 2013). Невдала земельна реформа 2003 року призвела до розпаду більш як 12 тис. сільськогосподарських підприємств, великі поля України були подрібнені майже на сім мільйонів виділів і часток. Сучасне сільськогосподарське виробництво базується переважно на оренді земель сільськогосподарського призначення великими холдингами, відповідно майже п'ять мільйонів селян втратили роботу (Федоров, 2010). Споживацький характер „господарювання” на землі, цілковита байдужість орендарів до майбутнього основного ресурсу країни, призводять до виснаження ґрунту, погіршення його якості і зниження родючості. В цих умовах підтримання та поліпшення родючості й екологічної безпеки ґрунтів набуває першочергового значення.

Серед багатьох показників, які використовують для характеристики ґрунтового покриву, найважливішим є вміст органічної

речовини, кількість і якість якої визначає фізичні, хімічні, фізико-хімічні, біологічні властивості ґрунту, його водоутримуючу здатність і мінеральне живлення рослин (Балюк, 2010). Точність і достовірність результатів вмісту органічної речовини ґрунту відіграє важливу роль для загальної оцінки землі, а тому повинна об'єктивно характеризувати напрямок її використання.

Починаючи з 1991 року (VI тур обстеження) аналітичні лабораторії ДУ «Держґрунтохорона» визначали вміст органічної речовини (гумус) в ґрунті використовуючи ГОСТ 26213-91 Почвы. Методы определения органического вещества (ГОСТ, 1991). У 2004 році введено в дію ДСТУ 4289:2004. Якість ґрунту. Методи визначення органічної речовини (ДСТУ, 2005), який автоматично скасував ГОСТ 26213-91. Обидва нормативних документи на першому етапі передбачають визначення органічного вуглецю з подальшим перерахуванням на органічну речовину.

Відповідно до ГОСТ 26213-91, для визначення вуглецю використовується розчин солі Мора та єдиний для всіх типів ґрунтів

коефіцієнт перерахунку вуглецю в органічну речовину – 1,724. ДСТУ 4289:2004 при визначенні вмісту вуглецю передбачає використання розчинів сахарози чи глюкози. Проте, коефіцієнти перерахунку вуглецю в органічну речовину відповідно до цього ДСТУ встановлені окремо для кожного з п'яти типів ґрунтів (від 1,88 для чорноземних до 2,09 для дерново-підзолистих ґрунтів).

Матеріали і методи. Мета роботи – провести порівняння методик визначення вмісту органічної речовини (гумусу) згідно ГОСТ 26213-91 та ДСТУ 4289:2004. Об'єкт досліджень – оксидиметричні методи з фотометричним закінченням визначення органічної речовини (гумус) у ґрунтових зразках чорнозему глибокого малогумусного.

Завдання досліджень. Визначення впливу розчинів солі Мора, глюкози (сахарози) на величину вмісту вуглецю в ґрунті та коефіцієнтів його перерахунку в органічну речовину (гумус).

Методика досліджень. Наукові дослідження, з визначення органічної речовини (гумусу) в ґрунті, проводилися в лабораторії аналітичного забезпечення агрохімічного обстеження ДУ «Держґрунтохорона».

Для порівняння нормативних документів (ДСТУ 4289:2004 і ГОСТ 26213-91) проведено дослідження по визначенню вуглецю в ґрунті з подальшим його перерахунком в органічну речовину (гумус), використовуючи оксидиметричний метод. Зазначений метод

передбачає вимірювання оптичної густини на фотоелектричному фотометрі КФК-3-01-«ЗОЗМ» з проточною кюветою або кюветою з товщиною просвічування 10 мм (довжина хвилі 590 нм). Для аналізу використали стандартний зразок чорнозему глибокого малогумусного, зареєстрованого в галузевому реєстрі затверджених типів ГСЗ за № 37-014-2014 з атестованою характеристикою для органічної речовини (гумусу) 3,03 %.

Визначення оптичної густини в розчинах порівняння та досліджуваних розчинах ґрунту проводили через 24 години після годинного нагрівання у киплячій водянній бані та відстоювання, яке необхідне для осідання часток ґрунту та повного освітлення досліджуваного розчину.

Відповідно до ГОСТ 26213-91 градуйована характеристика вмісту вуглецю будується на основі розчину солі Мора, 1 см³ якого містить 0,3 мг вуглецю. У п'ять колб, в яких міститься по 10 см³ хромової суміші, попередньо витриманої протягом 1 години у киплячій водянній бані, приливають по 2,0 см³, 4,0 см³, 8,0 см³, 10,0 см³, 15,0 см³ розчину солі Мора та відповідний об'єм дистильованої води, доводячи вміст колби до 50 см³, одночасно готуючи «холосту пробу». Концентрація солі Мора перевіряється кожні 3 дні. Вміст вуглецю згідно наших розрахунків, який відповідає 50 см³ кожного з цих графіків порівнянь наведено в табл. 1.

Таблиця 1
Визначення вмісту вуглецю за допомогою розчину солі Мора

Характеристика розчину	Номер розчину порівняння					
	1	2	3	4	5	6
Об'єм розчину солі Мора, мл	0,0	2,0	4,0	8,0	10,0	15,0
Об'єм хромової суміші, мл	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Об'єм дистильованої води, мл	40	38	36	32	30	25
Вміст С в 50 мл, мг/см ³	0	0,6	1,2	2,4	3,0	4,5

Table 1
Determination of content carbon with a solution of salt More

Масову частку вуглецю визначали за формулою:

$$C = [(A \cdot K) / m] \cdot 100\%;$$

де С – вміст вуглецю, %; А – маса вуглецю, розрахована відповідно до концентрації солі Мора в розчині порівняння (табл. 1), мг; К – титр солі Мора; m – маса навашки ґрунту, г; 100 – коефіцієнт перерахунку, %. Навашка ґрунту при проведенні досліджень складала 0,2 г, а титр розчину відновлювача – 0,97.

За знайденими значеннями оптичної густини розчину порівняння і відомою часткою вуглецю будували калібрувальний графік: по осі абсцис відкладали масову частку вуглецю, а по осі ординат – відповідний показник приладу.

Користуючись градуйованою характеристикою, за показниками приладу визначали вміст вуглецю в досліджуваних пробах, який в середньому в 10 паралельних випробуваннях склав 1,76 %.

За ДСТУ 4289:2004 градуйована характеристика вмісту вуглецю будується на основі розчину глюкози або сахарози відповідної концентрації. 1 см³ даного розчину містить 1 мг вуглецю. У п'ять колб приливають по 2,5 см³, 5,0 см³, 10,0 см³, 15,0 см³, 20,0 см³ стандартного розчину та випарюють на водянній бані, одночасно готуючи «холосту пробу». Після випарювання, відповідно, додають 10 см³ розчину хромової суміші та кип'ятять протягом 1

години. В охолоджені колби наливають дистильовану воду до об'єму 50 см³ (в даному випадку по 40 см³). Вміст за нашими

розрахунками вуглецю, який відповідає 50 см³ кожного з цих графіків порівнянь наведено в таблиці 2.

Таблиця 2
Вміст вуглецю, визначений з використанням розчину глюкози чи сахарози (з випарюванням)

Table 2

The carbon content determined with the use of glucose solution or sucrose (with evaporation)

Характеристика розчину	Номер розчину порівняння					
	1	2	3	4	5	6
Об'єм розчину глюкози (сахарози)*, мл	0	2,5	5,0	10,0	15,0	20,0
Об'єм хромової суміші, мл	10	10	10	10	10	10
Об'єм дистильованої води, мл	40	40	40	40	40	40
Вміст С в 50 мл, мг/см ³	0	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4

* - попередньо випарений розчин

* - previously evaporated solution

Також проведено аналогічні дослідження з приготуванням градуйованої характеристики без випарювання та з розрахунком необхідної кількості дистильованої води (табл. 3), яку необхідно додати до розчинів-порівнянь в загальному об'ємі 50 см³.

Після фотометрування розчинів порівняння було встановлено, що їх оптична густина не залежить від процесу випарювання.

На основі градуйованої характеристики визначено вміст вуглецю досліджуваних

розчинів. Використовуючи показники вмісту вуглецю у розчині, визначали його вміст у ґрунті за формулою:

$$C = [(a \cdot 50 \cdot 100) / (P \cdot 1000)]$$

де С – вміст вуглецю, %; а – вміст вуглецю, знайдений за градуйованою характеристикою; Р – наважка ґрунту, г; 50 – об'єм розчину під час визначення вуглецю, см³; 100 – коефіцієнт перерахування, %; 1000 – коефіцієнт перерахування, г.

Таблиця 3
Вміст вуглецю, визначений за допомогою розчину глюкози чи сахарози (без випарювання)

Table 3

The carbon content determined with the use of glucose solution or sucrose (without evaporation)

Характеристика розчину	Номер розчину порівняння					
	1	2	3	4	5	6
Об'єм розчину глюкози (сахарози)*, мл	0	2,5	5,0	10,0	15,0	20,0
Об'єм хромової суміші, мл	10	10	10	10	10	10
Об'єм дистильованої води, мл	40	37,5	35,0	30,0	25,0	20,0
Вміст С в 50 мл, мг/см ³	0	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4

* - без попереднього випарювання

* - without previously evaporation

Результати досліджень. Проведені аналітичні дослідження показали, що вміст вуглецю в зразку чорнозему глибокого малогумусного при використанні речовин на основі яких побудовано градуйовані характеристики, істотно не відрізнялися. Так, при використанні розчину солі Мора, вміст вуглецю у ґрунті становив 1,759 %, розчину глюкози – 1,763 та 1,775 % (табл. 4). Не була суттєвою різниця і в підготовці стандартних розчинів згідно ДСТУ 4289:2004 без попереднього та з попереднім випарюванням, яка складала лише 0,012% (1,763 та 1,775 %, відповідно). Тобто вказані методики дозволяють з великою точністю (середньоквадратична похибка від атестованого значення – 1,758 % складала 0,019 %) визначити вміст вуглецю в ґрунті. Подальший перерахунок вмісту вуглецю в органічну речовину (гумус) із застосуванням

коефіцієнтів істотно змінює величину цього важливого показника.

Відповідно до ГОСТ 26213-91 коефіцієнт перерахунку вуглецю в органічну речовину один для всіх типів ґрунту – 1,724. Вміст органічної речовини в досліджуваному ґрунті (чорнозем глибокий малогумусний) за вказаних умов становитиме 3,03 % (1,76*1,724). ДСТУ 4289:2004 передбачає застосування коефіцієнтів перерахунку вуглецю в органічну речовину (гумус) для п'яти типів ґрунту: для дерново-підзолистих ґрунтів він складає 2,09, сірих лісових ґрунтів – 2,05, чорноземів – 1,88, каштанових – 1,97, бурих лісових ґрунтів – 2,07. За вказаним ДСТУ вміст органічної речовини в досліджуваному типі ґрунту (чорнозем глибокий малогумусний) складатиме вже 3,31 % (1,76*1,88) або більше на 9 %, порівняно з попереднім результатом.

Таблиця 4
Порівняльна характеристика вмісту вуглецю,
визначеного за різними методами

Table 4
The comparative characteristic of carbon content
determined by different methods

Номер паралелі	Вміст вуглецю, %		
	ГОСТ 26213-91	ДСТУ 4289:2004	
		з попереднім випаровуванням	без попереднього випаровування
1	1,76	1,875	1,75
2	1,79	1,625	1,75
3	1,76	1,875	1,875
4	1,76	1,875	1,75
5	1,76	1,625	1,75
6	1,69	1,75	1,875
7	1,73	1,75	1,75
8	1,79	1,875	1,75
9	1,79	1,75	1,625
10	1,76	1,75	1,75
Середнє значення	1,759	1,775	1,763
Стандартна помилка	0,01	0,03	0,02
Середньоквадратичне відхилення	0,03	0,10	0,07
Коефіцієнт варіації	1,75	5,56	4,03

Перерахунок вмісту органічної речовини (гумусу) для інших ґрунтів згідно ДСТУ 4289:2004 порівняно з ГОСТ 26213-91 показав, що збільшення цього показника, зокрема для дерново-підзолистих, сірих лісових і бурих лісових ґрунтів складатиме близько 21 %, для каштанових ґрунтів – 14 %.

За результатами обстеження ґрунтів у дев'ятому турі (2006-2010 рр.) вміст органічної речовини (гумусу) визначений за ГОСТ 26213-91 складає в середньому для України 3,14 %. Якщо зробити перерахунок за коефіцієнтами ДСТУ 4289:2004 показник для всіх ґрунтів країни збільшується і складе в середньому 3,52 % (на 12 % більше попереднього у відносних величинах).

Висновки. Результати досліджень показали, що величини вмісту органічного вуглецю в ґрунті, визначені згідно ГОСТ 26213-91 (розчин солі Мора) та ДСТУ 4289:2004 (розчин глюкози), були рівнозначними, а різниця між ними – неістотна: 1,759; 1,763 та 1,775 %, відповідно.

Не виявлено різниці між показниками і при підготовці стандартних розчинів згідно ДСТУ 4289:2004 без попереднього та з попереднім випаровуванням, що дає змогу проводити дослідження з меншими матеріальними затратами.

Застосування пропонованих методикою коефіцієнтів перерахунку вуглецю в органічну речовину (гумус) згідно ДСТУ 4289:2004 призводить до збільшення вмісту органічної речовини: у досліджуваному ґрунті (чорноземі глибокому мало гумусному) – до 9 % у відносних величинах. Перерахунок за

коефіцієнтами ДСТУ 4289:2004 попередніх результатів обстеження ґрунтів (дев'ятий тур, 2006–2010 рр.) показав, що вміст органічної речовини збільшується на різних типах ґрунтів до 21 %.

Проведення аналітичних досліджень згідно з чинним в Україні ДСТУ 4289:2004 (Якість ґрунту. Методи визначення органічної речовини) дозволяє отримати коректні результати при визначенні вмісту вуглецю. Проте застосування пропонованих коефіцієнтів перерахунку в органічну речовину значно збільшує цей параметр, що зменшує можливості порівняльного аналізу часової динаміки вмісту органічної речовини (гумусу) та родючості ґрунтів загалом.

Список літератури:

1. Balyuk S.A. Gruntivi resursy Ukrainy: stan i zachody ich polipshennya /S.A. Balyuk // Visnyk agrarnoi nauky. – 2010.- №6. - S.6-7.
2. GOST «Pochvy. Metody opredilenia organicheskoho vetchestva». – М.: Komitet standartyzacyi i metrologiyi SSSR, 1991. – 9 s.
3. DSTU 4289:2004 «Yakist' ґрунту. Metody vyznachennya organichnoi rechovyny». – К.: Derzspozyvstandart Ukrainy, 2005. – 14 s.
4. Kryms'ka L.O. Zemel'no-resursny potenzial yak osnova efektyvnoho vykorystannya zemel' sil'skogospodarskoho pryznachennya / L.O. Kryms'ka, M.O.Koval' // Derzava ta regiony. Ekonomika ta pidpriyennytvo. – 2013. - №6 (75). – S. 148 – 151.
5. Fedorov M.M. Rozvytok orendnych zemel'nych vydnosyn u novostvorennykh agroformuvannyach / M.M. Fedorov // Organizaziyno ekonomichny transformazyi v agrarnomu vyrobnyztvi. Materialy

COMPARATIVE RESULTS OF DETERMINATION OF ORGANIC MATTER CONTENTS (TO THE HUMUS) IN SOIL AFTER NORMATIVE DOCUMENTS GOST 26213-91 AND DSTU 4289:2004

Venglinskyi M., Grischenko E., Godynchuk N., Romanova S., Gavryliuk V.

*The analysis of regulatory documents (GOST 26213-91 Soils. Methods for determination of organic matter and DSTU 4289: 2004 Soil quality. Methods for determination of organic matter) was conducted in the laboratory of soil protection. It was found that the determination of carbon in the soil for the used normative documents have equivalent. These methods allow to determine of the soil carbon content (soil humus) with high accuracy (mean square error of Qualified value 1,758% was 0.019%). Further conversion of soil carbon in organic matter (humus) with a appropriate coefficients substantially changes the value of this important indicator. According to GOST 26213-91 conversion coefficient of soil carbon in organic matter is one for all types of soil (equal 1.724). For these conditions, the content of organic matter in the investigated soil (chernozems) will be 3.03 %. ISO 4289: 2004 provides for the use of coefficients conversion of carbon in organic matter (humus) for the five types of soil: soddy-podzolic soils - 2.09, gray forest soils - 2.05, chernozems - 1.88, kastanozems – 1.97, brown forest soils - 2.07. According to indicated ISO (4289: 2004) content of organic matter in investigated soil type (chernozems) will be already 3.31% ($1.76 * 1.88$) or more than 9 % compared to the previous result. Recalculation the content of organic matter (humus) for most soils under ISO 4289: 2004 compared with GOST 26213-91 showed that the increase in this index will be about 21% and for kastanozems - 14%. By results of inspection of Ukrainian soils in the ninth round (2006-2010) soil organic matter (humus), determined in accordance with GOST 26213-91, is an average for Ukraine 3.14%. If we calculate of humus content in the relevant coefficients (ISO 4289: 2004) for all soils of the Ukraine it increases and will be average 3.52% (12% more than the previous result in relative values). Consequently the use of conversion factors of carbon in the organic matter of DSTU 4289: 2004 significantly increases the content of organic matter (from 9% to 21% black soils in the sod-podzolic soils).*

Keywords. Test methods, soil, organic matter, humus, carbon conversion factor, oksidimetrichesky method.

Одержано редколегією 27.02.2015

ОПТИМІЗАЦІЯ ЕКОЛОГО-БЕЗПЕЧНОГО ТА ЕФЕКТИВНОГО ВИКОРИСТАННЯ ОРНИХ ЗЕМЕЛЬ ЧЕРНІВЕЦЬКОЇ ОБЛАСТІ

I. С. СМАГА

*Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, Чернівці, Україна
e-mail: i.smaga@chnu.edu.ua*

Наведено визначення суті та значення районування земельних ресурсів для організації раціонального та еколого-безпечного землекористування. Представлено розміщення території Чернівецької області у загальнодержавній системі єдиних таксономічних одиниць, охарактеризовано агрогрунтові та земельно-оціночні райони в межах її території, виділені під час останнього туру робіт з бонітування ґрунтів України. Виявлено відмінності в структурі сільськогосподарських угідь області між окремими земельно-оціночними районами. Охарактеризовано придатність ґрунтів для вирощування сільськогосподарських культур за критерієм відповідності їх властивостей агробіологічним вимогам рослин, з врахуванням еколого-економічної ефективності розміщення посівів та еколого-технологічних характеристик території. Обґрунтовано значення класифікації придатності орних земель для визначення обсягів виробництва продукції рослинництва. Визначено набір культур, рекомендованих для вирощування в кожному земельно-оціночному районі Чернівецької області. Наведено бальні значення показників економічної оцінки земель за ефективністю вирощування зернових культур в розрізі адміністративних районів Чернівецької області. Доведено необхідність врахування сучасних економічних умов господарювання в аграрній сфері при визначенні показника окупності витрат для встановлення ефективності використання орних земель під посіви сільськогосподарських культур.

Ключові слова: природно-сільськогосподарське районування, земельно-оціночний район, землекористування, структура сільськогосподарських угідь, бонітування ґрунтів, придатність ґрунтів, урожайність, економічна оцінка земель, окупність витрат, диференціальний дохід.

Вступ. Підвищення ефективності використання землі в аграрному виробництві зумовлює необхідність удосконалення підходів щодо організації раціонального та еколого-безпечного використання сільськогосподарських угідь і, в першу чергу, ріллі. При встановленні оптимального навантаження на агроландшафт, зниження наслідків негативного техногенного впливу на ґрунтовий покрив і попередження розвитку деградаційних процесів слід враховувати специфіку впливу територіальних відмінностей природно-кліматичних, геоморфологічних та організаційно-господарських умов на організацію використання земельних ресурсів у межах однорідних територій.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Вирощування сільськогосподарських культур повинно забезпечуватися відповідними їх агроекологічним вимогам ґрунтовими характеристиками (Добряк, 2013). Питання методології та методів оцінки земель з урахуванням агроекологічних вимог окремих сільськогосподарських культур розглядаються в працях В. В. Медведєва (2006), М. І Полупана з співав. (2008), І.С. Смаги (2013) та ін.. Вони передбачають використання в якості оцінних критеріїв властивостей і ознак, що

характеризують здатність ґрунту задовольняти вимоги рослин в земних факторах життя. Часткова бонітетна оцінка ґрунтів має здійснюватися відносно оптимальних параметрів агробіологічних і агроекологічних вимог окремих культур, що забезпечується відповідним нормативним документом (Новаковський, 1992). Запропоновано науково-методичні підходи до класифікації земель з точки зору їх еколого-безпечного використання при вирощуванні сільськогосподарських культур (Третяк, 2007; Жук, 2007; Добряк та ін., 2009). Актуальним питанням залишається запровадження еколого-економічних чинників еколого-безпечного землекористування в межах окремих адміністративно-територіальних одиниць.

Мета досліджень – встановити еколого-економічну придатність орних земель Чернівецької області для вирощування основних сільськогосподарських культур.

Предмет досліджень – еколого-економічні чинники оптимізації розміщення посівів сільськогосподарських культур.

Матеріали і методи досліджень. Об'єктом досліджень виступають орні землі в межах земельно-оціночних та адміністративних районів Чернівецької області. В процесі досліджень використано матеріали ґрунтових обстежень

(Козьмук та ін., 2013), бонітування ґрунтів (Технічна документація..., 1994), економічної оцінки земель (Економічна оцінка..., 1989) та дані державної статистичної звітності.

Результати та їх обговорення. Для підвищення ефективності використання земельних угідь у сфері аграрного виробництва необхідно володіти даними щодо їх площі, видів, якості та екологічного стану ґрунтового покриву, а також показників економічної та кадастрової грошової оцінок. Це забезпечується проведенням бонітування та моніторингу ґрунтів, обліку кількості та якості земель, їх економічної та нормативної грошової оцінки.

Показники, що характеризують еколого-економічну ефективність використання землі в сільському господарстві зазнають змін під впливом природних і антропогенних факторів. Це зумовлює необхідність дотримання принципу безперервності процесу оцінки земель, а фактично агровиробничих груп ґрунтів як об'єктів такої оцінки, для забезпечення їх раціонального та еколого-безпечного використання.

Родючість ґрунту, як результат функціонування в природних та антропогенно-змінених ландшафтах зумовлює його землеробське використання. Для оптимізації розміщення посівів сільськогосподарських культур, порівняльну оцінку якості ґрунтів, тобто рівня їх родючості (бонітування) доцільно проводити з точки зору вимог окремих культур до земних факторів життя. При визначенні придатності ґрунтів для вирощування культур та оцінці орних земель важливо врахувати чинники, які впливають на процеси відтворення в сільському господарстві. Це можливо шляхом послідовного розподілу території залежно від масштабності впливу природно-економічних факторів – районування. Воно передбачає виділення за певною системою таксонів однорідних територій, в межах яких здійснюються земельно-оціночні роботи.

Науково-методичні принципи природно-сільськогосподарського районування території України ґрунтуються на врахуванні шляхом системного підходу природних умов і об'єктивних, зумовлених екологічними факторами, особливостей сільськогосподарського виробництва. Воно є основною формою обліку і відображення природного положення земель в єдиній загальнодержавній системі прийнятих таксономічних одиниць. Районування території розглядається як особлива форма інформації про природно-територіальні відмінності, яка служить природно-науковою основою для раціонального

розміщення сільськогосподарського виробництва та сприяє якіснішому проведенню оцінки землі.

Будучи першим етапом робіт з оцінки земель, природно-сільськогосподарське районування дає змогу визначити відповідність чи невідповідність структури, яка склалася в сільськогосподарському виробництві природним умовам та потенційним можливостям земельних ресурсів конкретної території. Воно забезпечує одержання земельно-оціночних показників в умовах спільності ґрунтових, геоморфологічних, кліматичних і екологічних факторів. Природно-сільськогосподарське районування території України було проведено в 1977-78 рр. науково-дослідними установами «Укрземпроект» та Українським науково-дослідним інститутом ґрунтознавства та агрохімії імені О. Н. Соколовського. В 1985 і 1993 роках були проведені роботи з вдосконалення методики і уточнення меж природно-сільськогосподарських районів та їх ув'язки з адміністративними районами.

Природно-сільськогосподарське районування будується за системою, яка являє собою ієрархічні взаємопідпорядковані ієрархічні виділи – від природно-сільськогосподарської зони – до природно-сільськогосподарського району (Жук, 2007). При виділенні природно-сільськогосподарських районів дотримувалися таких вимог: 1) межі природно-сільськогосподарських районів встановлювалися у взаємозв'язку з наявними матеріалами геоморфологічного, фізико-географічного, геоботанічного, агрокліматичного та інших районувань та проводились по межах землекористувань колективних сільськогосподарських підприємств; 2) кількість підприємств в одному районі повинна забезпечити можливість опрацювання статистичної інформації (зазвичай, не менше 21); 3) природно-сільськогосподарські райони виділялись в межах кожної з адміністративних областей.

У кожному природно-сільськогосподарському районі узагальнюються дані щодо структури ґрунтового покриву, площ агровиробничих груп ґрунтів, їх агрохімічної характеристики, показників бонітету та економічної оцінки земель. Ці фактори, а також подібність основних генетичних властивостей ґрунтів, єдність кліматичних, геоморфологічних і гідрологічних умов на території земельно-оціночного району виступають основою організації раціонального та ефективного сільськогосподарського землекористування.

В Лісостеповій зоні Чернівецької області виділено 3 агроґрунтові райони: Лісостеповий

східний, Центральний лісостеповий і Лісостеповий північно-західний (табл. 1). Територія Передкарпаття Чернівецької області включає Герцаївський вологого Лісостепу, Сторожинецький ерозійно-зсувний та Вижницький передгірський агрогрунтові райони, а гірська зона – Путильський агрогрунтовий район.

При проведенні земельно-оціночних робіт, крім природно-кліматичних умов необхідно враховувати й економічні показники використання земель. З цією метою передбачено проведення більш детального земельно-оціночного (кадастрового) районування земельного фонду. Виділені в Чернівецькій області земельно-оціночні райони відповідають природно-сільськогосподарським районам. Найбільший з них Кіцмансько-Кельменецький земельно-оціночний район включає Лісостеповий північно-західний та частину Центрального Лісостепового району, Сокирянський – Лісостеповий східний та частину Центрального Лісостепового

агрогрунтового району. На території Герцаївського агрогрунтового району вологого Лісостепу виділено Чернівецький земельно-оціночний район, Сторожинецького ерозійно-зсувного та частини Вижницького передгірського – Сторожинецький земельно-оціночний район, Путильського та південної частини Вижницького передгірського – Путильський земельно-оціночний район.

Площа сільськогосподарських угідь в Чернівецькій області складає 395394 га (табл. 2). Найбільш поширені орні землі, частка яких сягає 73% від загальної площі сільськогосподарських угідь. Такий високий рівень розораності значно перевищує науково-обґрунтовані нормативи. Частка пасовищ у структурі земельних угідь складає 14,8%, сіножатей – 9,0%, а багаторічних насаджень – 3,2%. Майже 41,4% площі сільськогосподарських угідь та 46,5% ріллі області зосереджено в Кіцмансько-Кельменецькому земельно-оціночному районі.

Таблиця 1
Структура природно-сільськогосподарського районування Чернівецької області

Table 1
The structure of natural and agricultural zoning of Chernivtsi region

Провінція (гірська область)	Округ	Агрогрунтовий район	Земельно-оціночний район
Лісостепова західна	Середньо-Дністровський	Лісостеповий північно-західний Центральний лісостеповий Лісостеповий східний	Кіцмансько-Кельменецький (01) Сокирянський (02)
Передкарпаття	Черемосько-Сіретський	Герцаївський вологого Лісостепу Сторожинецький ерозійно-зсувний Вижницький передгірський	Чернівецький (03) Сторожинецький (04)
Карпати	Карпатський гірсько-лісовий	Путильський	Путильський (05)

Зауважимо, що структура сільськогосподарських угідь неоднорідна в різних земельно-оціночних районах. частка ріллі є найвищою в 01 і 02 земельно-оціночних районах (82,1 і 82,9% відповідно). В Чернівецькому (03) і Сторожинецькому (04) земельно-оціночних районах вона складає понад 67%, а в Путильському (05) – лише 4,5%. В 03, 04 і 05 земельно-оціночних районах частка багаторічних насаджень значно нижча від середньообласного рівня, в 01 – близька до нього, а в 02 – в 2 рази вища. В структурі сільськогосподарських угідь Чернівецького та Сторожинецького земельно-оціночних районів на сіножаті припадає 9,6 і 12,3%, а на пасовища –

21,1 і 19,0% відповідно при обласному показнику – 9,0 і 14,8%. Путильський земельно-оціночний район вирізняється найвищою часткою пасовищ у структурі сільськогосподарських угідь – 43,4%. З огляду на високу розораність, ефективність використання сільськогосподарських угідь в кожному із земельно-оціночних районів (за виключенням Путильського) буде зумовлюватися ефективністю використання ріллі. При вирішенні питань оптимізації розміщення посівів сільськогосподарських культур необхідно враховувати об'єктивну науково-доведену придатність ґрунтів за показниками, що характеризують їх добротність.

Таблиця 2
Структура сільськогосподарських угідь в розрізі
земельно-оціночних районів Чернівецької області

Table 2
The structure of agricultural land in terms of land
valuation districts of Chernivtsi region

Земельно-оціночний район	Сільськогосподарські угіддя		Рілля		Багаторічні насадження		Сіножаті		Пасовища	
	га	%	га	%	га	%	га	%	га	%
Кіцмансько-Кельменецький	163691	100	134393	82,1	5490	3,4	5961	3,6	17847	10,9
Сокирянський	83673	100	69387	82,9	5319	6,4	2644	3,2	6323	7,5
Чернівецький	27289	100	18477	67,7	417	1,5	2631	9,6	5764	21,1
Сторожинецький	97067	100	65531	67,5	1150	1,2	11956	12,3	18430	19,0
Путильський	23674	100	1056	4,5	115	0,5	12223	5,1	10280	43,4
По області	395394	100	288844	73,0	12491	3,2	35415	9,0	58644	14,8

Вирощування сільськогосподарських культур повинно узгоджуватися з відповідними ґрунтовими характеристиками, які здатні забезпечити їх агроекологічні вимоги.

Один з етапів бонітування ґрунтів передбачав проведення агроекологічного обґрунтування розміщення посівів сільськогосподарських культур. Зіставлення мінімальних і максимальних значень агробіологічних вимог кожної культури до тепло- і вологозабезпеченості з їх фактичними багаторічними даними в територіальному аспекті дозволило встановити межі та виділити зони вирощування найпоширеніших сільськогосподарських культур у масштабах держави. Вся територія Чернівецької області входить до зони вирощування озимого жита та вівса. Зона вирощування льону-довгунцю поширюється на територію Сторожинецького та Путильського земельно-оціночних районів, а картоплі, крім того, й на межі Чернівецького району. Територія Кіцмансько-Кельменецького та Сокирянського земельно-оціночних районів віднесена до зон вирощування озимої пшениці, кукурудзи на зерно, цукрового буряка та соняшника. За результатами робіт з бонітування ґрунтів у межах територій зазначених земельно-оціночних районів встановлені часткові бонітети усіх агропромислових груп ґрунтів щодо переліку культур у відповідності їх зонами їх вирощування.

В практиці оптимізації розміщення посівів сільськогосподарських культур придатність земель може розглядатися також з еколого-економічних позицій. В основу відповідної їх класифікації покладені параметри окупності виробничих витрат (ОВ), виражені в грошовій формі (Третяк, 2007). За результатами останнього туру робіт з економічної оцінки землі такі показники були отримані для основних культур кожного адміністративного району в розрізі агропромислових груп ґрунтів. При ОВ менше 1

грн./грн. витрат вирощування культури збиткове, при ОВ від 1,0 до 1,35 грн./ грн. витрат вартість валової продукції (ВП) перевищує виробничі витрати, але прибутковість вирощування культури нижча від середнього нормативу, за якого можливе розширене відтворення в сільськогосподарському виробництві, прийнятого на час проведення оцінки земель на рівні 35%.

Наявні дані часткової економічної оцінки земель дають підстави стверджувати, що найбільш ефективно вирощувати зернові культури в Заставнівському, Кіцманському, Кельменецькому та Сокирянському адміністративних районах. В даному випадку бал за ОВ виявився значно вищим ніж за урожайністю та диференціальним доходом (ДД). Він також перевищує середні значення по Чернівецькій області та по Україні (табл. 3). Про високу прибутковість вирощування зазначених культур свідчить висока питома вага диференціального доходу у валовій продукції (більше 50%).

Найнижча в Чернівецькій області ефективність вирощування зернових культур притаманна орним землям Сторожинецького та Вижницького адміністративних районів. Рівень економічної родючості ґрунтів орних земель Путильського району не забезпечує формування диференціального рентного доходу. Однак, зміна економічних умов виробництва, зокрема підвищення цін на продукцію сільського господарства значно нижчими темпами, ніж на промислові засоби виробництва та зростання виробничих витрат не зумовили пропорційного підвищення рівня урожайності. Для прикладу, ОВ при вирощуванні зернових культур без кукурудзи по Україні в 2008-2011 рр. склала 0,7-1,0 ц/га, а диференціальний рентний дохід за норми рентабельності 35% формувалася лише в 2011 році (Солов'яненко, 2014).

Таблиця 3

Відносна економічна оцінка орних земель в розрізі адміністративних районів Чернівецької області за ефективністю вирощування зернових культур

Table 3

The relative economic evaluation of arable land in the context of administrative districts of Chernivtsi region by the efficiency of growing crops

Адміністративно-територіальна одиниця	Урожайність	ОВ	ДД	Питома вага ДД у ВП, %
		бал		
Сокирянський	55	69	43	54
Кельменецький	60	69	47	54
Хотинський	46	58	30	45
Новоселицький	49	59	33	46
Заставнівський	68	75	57	58
Кіцманський	66	72	54	56
Глибоцький	49	53	29	40
Сторожинецький	39	44	16	28
Вижницький	43	47	20	33
Путильський	-	-	-	-
Чернівецька область	54	62	38	49
Україна	43	77	36	47

Згідно з нашими підрахунками, ОЗ по Чернівецькій області в 2010 році склала 1,31 грн./ грн. витрат, що є нижчим від її вихідного рівня (1,35 грн./ грн. витрат), а ДД був від'ємним. В середньому по Кіцманському районі ОВ склала лише 1,03 грн./ грн. витрат. Тому важливим завданням виступає підвищення рівня урожайності сільськогосподарських культур, в тому числі й за рахунок агроекологічних чинників.

В якості доповнення до наведених показників бонітету та економічної оцінки землі доцільно враховувати й еколого-технологічні характеристики територіального аспекту (крутість схилів, розмір змиву верхнього родючого шару ґрунту тощо), що значною мірою впливають на придатність земель для розміщення посівів сільськогосподарських культур та величину технологічних витрат при їх вирощуванні.

Класифікація придатності земель та наявність фактичних даних щодо якісного стану, часткових бонітетів, показників часткової економічної оцінки агропромислових груп ґрунтів дає змогу визначити їх площі з різним рівнем продуктивної здатності в межах окремих територій, що являє собою просторовий базис для еколого-економічного обґрунтування розміщення посівів сільськогосподарських культур.

Отже, ефективно та еколого-безпечно використання орних земель в сучасних умовах господарювання повинно базуватися на систематично оновлюваних показниках, що характеризують придатність ґрунтів для вирощування сільськогосподарських культур: матеріали природно-сільськогосподарського та земельно-оціночного районування земельних ресурсів, картосхеми зон вирощування

сільськогосподарських культур, часткові бонітети та показники виробничої продуктивності ґрунтів, числові параметри еколого-технологічних характеристик ґрунтового покриву.

Список літератури:

1. Добряк Д.С. Формування обмежень у сільськогосподарському землекористуванні / Д.С. Добряк // Землеустрій і кадастр.-2013.-№3.-С. 3-6.
2. Жук О.П. Природно-сільськогосподарське районування як основа синтезованої природно-економічної інформаційної системи / О.П. Жук // Землеустрій і кадастр.-2007.-№2.- С.64-71.
3. Економічна оцінка земель Чернівецької області.- Чернівці, 1989.-96 с.
4. Класифікація сільськогосподарських земель як передумова їх екологобезпечного використання/[Д.С. Добряк, О.П. Канаш, Д.І. Бабміндра, І.А. Розумний].-К.: Урожай, 2009.- 464 с.
5. Козьмук П.Ф., Беспалько Р.І., Казімір І.І. Земельні ресурси Буковини: стан, моніторинг, використання.- Чернівці: Книги – XXI.- 552 с.
6. Медведев В.В. Бонитировка и качественная оценка пахотных земель Украины / В.В. Медведев, И.В. Плиско. – Харьков: Изд-во “13 типография”, 2006. – 386 с.
7. Новаковский Л.Я. Методика бонитировки почв Украины / Новаковский Л.Я., Канаш А. П., Розумный А.И., Деревицкий А.В., Медведев В.В. [та інші]. – К., 1992. – 102 с.
8. Полупан М.І. Родючість ґрунтів і ґрунтового покриву Степу Південного і Сухого за агропотенціалами сільськогосподарських культур та бонітувальними критеріями / М.І. Полупан, В.А.Величко, В.Б.Соловей // Вісник аграрної науки.-2008.-№2.-С. 18-25.
9. Солов'яненко Н. Оцінка земель в Україні: історичні та методичні аспекти / Ніна Солов'яненко // Землепорядний вісник .- 2014.- № 2.- С.36-39.

10. Технічна документація бонітування ґрунтів Чернівецької області.- Чернівці,1994.-128с. землекористування / Третяк А.М., Другак В.М., Романська Д.П. – К., 2007. – 292 с.
11. Третяк А.М. Землепорядне проектування: теоретичні та методичні основи інвестицій у

OPTIMISATION OF ECOLOGICALLY SAFE AND EFFECTIVE USE OF ARABLE LANDS IN CHERNIVTSI REGION

I. S. Smaha

Definition of the essence and significance of zoning of land resources for the organization of rational and ecologically safe land use have been presented. The placement of Chernivtsi region in the national system of single taxonomic units has been given. Agricultural soil and land evaluation areas, found out during the last round of work on appraisal of Ukrainian soils have been described. Differences within the structure of agricultural lands of the region between the separate land evaluation areas have been determined. Suitability of soils for growing crops according to the eligibility criteria of their properties to agrobiological requirements of plants, taking into account the environmental and economic efficiency of allocation of crops, as well as ecological and technological characteristics of the area has been characterized. The meaning of classification of arable lands suitability to determine the quantity of crop production has been justified. The assortment of crops, recommended for growing in each land evaluation area of Chernivtsi region has been determined. The grading scale of indicators of economic valuation of lands for growing crops efficiency in different administrative units of Chernivtsi region has been shown. The necessity of taking into account current economic conditions in agricultural field while determining the index of cost recovery for calculating the efficiency of arable land use for allocation of crops has been proved.

Key words: natural and agricultural zoning, land evaluation area, structure of agricultural lands, estimation of soil, suitability of soils, productivity, economic land valuation, cost recovery, differential income.

Одержано редколегією 12.03.2015

ПЕРЕМОЖЦІ ВСЕУКРАЇНСЬКОГО КОНКУРСУ СТУДЕНТСЬКИЙ НАУКОВИХ РОБІТ З БІОЛОГІЧНИХ НАУК



УДК 615.811.2: 611.018.53

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СОЛЬОВОГО ЕКСТРАКТУ МЕДИЧНОЇ П'ЯВКИ НА ФАГОЦИТАРНУ АКТИВНІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ І ЦИТОМОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ ЛЮДИНИ У КУЛЬТУРІ

Р. Ф. АМІНОВ, О. К. ФРОЛОВ

Запорізький національний університет, Україна,
69600, м. Запоріжжя, вул. Жуковського, 66
e-mail: 91_amin_91@mail.ru, a_frolov@ukr.net

Досліджена культура клітин крові десяти донорів, чоловічої статі, зрілого віку, в якій, *in vitro* вивчено імунологічну реактивність нейтрофілів і лімфоцитів на пекарські дріжджі на фоні різної концентрації біологічно активних речовин сольового екстракту із тіл медичної п'явки для визначення оптимальних імуногенних концентрацій. В результаті експериментальних досліджень у донорів при дії різної концентрації антигенів медичної п'явки було виявлено, що в короткостроковій культурі лейкоцитів на 30 і 90 хвилинній інкубації малі і середні концентрації антигенів стимулювали фагоцитарну активність нейтрофілів, а великі пригнічували, в тому числі і їх перетравлюючу здатність. Лімфоцити крові реагували на малі (20 мкг / мл) і середні (40 - 80 мкг / мл) концентрації антигенів медичної п'явки і дріжджі апоптичними і продуктивними імунологічними реакціями, які проявлялись зменшенням малих лімфоцитів зі збільшенням середніх лімфоцитів – це демонстрація продуктивного імуногенезу перехід частини малих в середні після антигенної - активації і початкової реакції бластної трансформації лімфоцитів. Великі концентрації антигенів медичної п'явки (120 - 250 мкг / мл) індукували на лімфоцити апоптичними і цитотоксичними реакціям, які проявлялись різким збільшенням малих лімфоцитів за рахунок зменшення середніх лімфоцитів. В частині культури без робочого розчину дріжджів при дозі 120 мкг/мл антигенів медичної п'явки, яку культивували 24 години, мононуклеари відрізнялися пікнотичними малими і великими лімфоцитами з ознаками апоптозу. Збереження продуктивного імуногенезу лімфоцитів ймовірно забезпечується цитокиновою підтримкою, яка реалізується при фагоцитарній реакції мікрофагів та макрофагів. Були отримані оптимальні дози для фагоцитарної реакції нейтрофілів і реактивності лімфоцитів, починаючи з концентрації 20 мкг / мл і закінчуючи кінцевою концентрацією 80 мкг / мл. Концентрації доз 120 – 250 мкг / мл є цитотоксичними. Визначенні *in vitro* межі концентрацій антигенів медичної п'явки дозволять регламентувати об'єм гірудотерапії по сучасному принципу доказової медицини. Вперше встановлено явище індукції апоптозу в імунокомпетентних клітинах крові людини під впливом біологічно активних речовин медичної п'явки. Може пояснювати механізм протизапальної дії гірудотерапії. Крім того відкриває перспективу для подальшого вивчення цього явища на рівні організму і з подальшою можливістю купірувати алергічні і аутоімунні захворювання шляхом наведення через апоптоз імунологічної толерантності на алергени.

Ключові слова: гірудотерапія, біологічно активні речовини, медична п'явка, лейкоцити, фагоцитоз, цитоморфометрія, реакція бластної трансформації лімфоцитів.

Вступ. В останній час на тлі наростаючої алергізації населення, зростання числа ускладнень і побічних ефектів фармакотерапії, відзначається активний пошук можливостей застосування різних не медикаментозних методів впливу на організм людини. Особливу увагу привертають методи, які тисячоліття успішно застосовувалися нашими предками (Каменев и Барановский, 2006). Один з таких методів - гірудотерапія (ГТ) - використання медичних п'явок у лікувальних цілях (Басков и Исаханян,

2004; Савинова, 2004). Основою лікувального ефекту гірудотерапії є слина п'явки, яка містить велику кількість біологічно активних речовин (БАР), що сприяють нормалізації внутрішнього гомеостазу (Геращенко и Никонов, 2007). Разом зі слиною вона вводить в організм людини понад 150 біологічно активних ферментів. Чимало з них має білкову природу, тому стає об'єктом реакції імунної системи людини, зміни якої й зумовлюють більшість терапевтичних ефектів ГТ (Башкирцева, 2008). Вплив БАР

вивчено недостатньо, а імунологічна дія БАР тільки почала вивчатись (Фролов та ін., 2010). Одна з причин цих недоліків полягає в нестачі об'єктивних методів, які характеризують функцію імунокомпетентних клітин крові людини. З таких імуногенезних методів є метод визначення фагоцитарної активності нейтрофілів і цитоморфометричний аналіз лімфоцитів, які характеризують реакції вродженого імунітету. Тому головна мета цього дослідження за допомогою цих методів вивчити індивідуальну імунологічну реактивність імунокомпетентних клітин крові людини на різні концентрації антигенів (АГ) сольового екстракту медичної п'явки (МП). Для встановлення оптимальних концентрацій АГ МП, які забезпечують фізіологічні межі фагоцитарної реакції нейтрофілів і реакції бластної трансформації лімфоцитів.

Матеріали і методи. Дослідження проводилися в навчально-науково-дослідній лабораторії клітинної та організмової біотехнології Запорізького національного університету (зав. лаб. д. м. н., професор Фролов О. К.). Досліджувалася культура клітин крові 10 донорів чоловічої статі, зрілого віку. Матеріалом для дослідження була венозна кров стабілізована гепарином, в якій визначали кількість лейкоцитів для оцінки функціонального статусу імунної системи (інтактний зразок). Далі отримували лейкоконцентрат макрометодом в 10% розчині желатину (1% / мл), визначали відсоток виходу лейкоцитів, який становив 90-95% (Фролов та ін., 2007). Готували суспензію клітин на культуральній сумішці концентрацією 4,0 млн / мл. Досліджували фагоцитарну активність нейтрофілів (фагоцитарний індекс і фагоцитарне число) і цитоморфометричні показники лімфоцитів, під впливом різної концентрації антигенів сольового екстракту із тіл МП (Фролов та ін., 2013). Дозування антигенів сольового екстракту здійснювали за вмістом білка (визначали за Лоурі). Отриману лейкомасу, в якій заздалегідь ми визначили вміст лейкоцитів, у об'ємі по 50 мкл розливали в мікропробірки і додавали відповідну дозу АГ МП. Початкова доза АГ становила 20 мкг / мл, а кінцева 250 мкг / мл суспензії лейкоцитів (20; 40; 80; 120; 250) та додавали по 50 мкл робочого 1% розчину дріжджів. Охайно перемішували. Після чого всі дослідні зразки крові крім інтактних інкубували в термостаті при +37° С протягом 90хв. Кожні 10 хв. охайно перемішували. Мазки готували на 30 та 90 хв. Частину культури без додавання робочого розчину дріжджів при дозі 120 мкг/мл АГ МП культивували 24 години. Після чого оцінювали реакцію бластної трансформації

лімфоцитів (РБТЛ) у %. Фіксували ці мазки у 96% етанолі і фарбували за Папенгеймом (комбіноване фарбування за Май-Грюнвальдом 5 хвилин та Романовським - Гімза 25 хвилин). Результати порівнювали з референтними значеннями для даного віку. Дослідні зразки з відповідним вмістом АГ МП порівнювали з контролем (без АГ). Статистичну обробку результатів проводили методом обчислення середньої арифметичної, помилки середньої арифметичної, середнього квадратичного відхилення за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Office Excel 2010. Вірогідність відмінностей між середніми величинами оцінювали за критерієм Ст'юдента. Різниця вважалася достовірною при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати експериментальних досліджень щодо фагоцитарної активності нейтрофілів та цитоморфометричних показників лімфоцитів під дією різної концентрації АГ МП представлені в таблицях 1 та 2, відповідно. Дані культури клітин 10 донорів були усереднені так, як динаміка впливу АГ МП в різній концентрації на досліджувані показники була подібною незалежно від анамнезу. При дослідженні усереднених даних 10 донорів у фагоцитарній активності нейтрофілів (ФАН) було виявлено, що при 30 хв. інкубації фагоцитарний індекс (ФІ) в контрольній культурі (без АГ МП) знаходився в межах фізіологічних значень і дорівнював $60,64 \pm 1,09$ % і починав збільшуватися від концентрації 40 мкг/ мл до 250 мкг/мл. При 90 хв. інкубації ФІ продовжує зростати, як в контрольних, так і в навантажувальних тестах (табл. 1). Пригнічення ФРН нами підтверджено при аналізі фагоцитарного числа (ФЧ) - це середня кількість поглинутих дріжджів, захоплених одним нейтрофілом (табл. 1). ФЧ при 30 хв. інкубації в контрольних і дослідних значеннях культури лейкоцитів до концентрації 120 мкг / мл були в межах $3,624 \pm 0,18 - 4,77 \pm 0,24$, що відповідає їх фізіологічним значенням і тільки доза АГ МП 250 мкг / мл має місце у зменшенні ФЧ, як загальне пригнічення ФАН. В культурах клітин з додаванням АГ МП до концентрації 120 мкг / мл при 90 хв. інкубації ФЧ продовжує підвищуватися, це свідчить про пригнічення перетравлюючої здатності фагосом нейтрофілів. Ці дані співпадають з даними літератури, про наявність в МП антиферментних компонентів (антитрепсин, антипепсин). Пригнічення ФЧ в 90 хв. культурі з концентрації 250 мкг / мл, як наслідок загального пригнічення ФАН.

Таблиця 1.
Фагоцитарна активність нейтрофілів 10 донорів при 30 і 90 хв. інкубації під дією різної концентрації АГ МП

Table 1.
Phagocytic activity of neutrophils of 10 donors at 30 and 90 min. incubation under different concentrations of AG ML

Час культивування	Показник	Дози антигенів медичної п'явки					
		0	20	40	80	120	250
30 хв	ФІ	60,64 ± 1,09	59,3 ± 1,098	66,65 ± 1,054	63,96 ± 1,07	64,47 ± 1,07	69,25 ± 1,03*
	ФЧ	3,77 ± 0,18	3,86 ± 0,19	3,95 ± 0,2	3,85 ± 0,19	3,72 ± 0,18	3,29 ± 0,16
90 хв	ФІ	68,23 ± 1,04	65,97 ± 1,06	73,41 ± 0,99	70,84 ± 1,02	70,46 ± 1,02	73,35 ± 0,99
	ФЧ	3,124 ± 0,16**	4,67 ± 0,23*,**	4,766 ± 0,24*,**	4,773 ± 0,24*,**	3,859 ± 0,19*,**	2,986 ± 0,15**

Примітка: * - показники достовірно відрізняються від контролю ($p \leq 0,05$), ** - показники достовірно відрізняються 30 від 90 хв. інкубації ($p \leq 0,05$)

Note: * - significant difference as compared to control value ($p \leq 0,05$), ** - significant difference as compared between 30 and 90 min. incubation ($p \leq 0,05$)

Одночасно з фагоцитарною реакцією нейтрофілів в культурах лейкоцитів з різним вмістом АГ МП аналізували імунологічну реактивність лімфоцитів цитоморфометричним методом (табл. 2). В інтактній крові варіації малих (< 6,0 мкм), середніх (7 - 9 мкм) і великих (> 10 мкм) цитоморфометричних класів лімфоцитів (ЦКЛ) в сумі співпадали з їх кількістю у донорів даного віку. В контрольних (без АГ МП) культурах лейкоцитів відбувалися значні зміни в співвідношенні ЦКЛ: різке збільшення малих і значне зменшення великих

лімфоцитів. Згідно до концепції функціонального значення ЦКЛ розробленої Фроловим О. К.: більшість малих і великих лімфоцитів відносяться до активованих тому їх зміни є наслідком їх імунологічної реактивності. Збільшення малих ЦКЛ - є наслідком апоптичної реакції середніх і великих лімфоцитів. Малі (20 мкг / мл) і середні (40 - 80 мкг / мл) концентрації АГ МП демонстрували апоптичні і продуктивні імунологічні реакції, які проявлялись зменшенням малих ЦКЛ зі збереженням великих лімфоцитів.

Таблиця 2.
Цитоморфометричні показники лімфоцитів 10 донорів при 30 хв. інкубації під дією різної концентрації АГ МП

Table 2.
Cytomorphometric data of lymphocytes of 10 donors in 30 min. incubation under different concentrations of AG ML

Час культивування	Розмірність класів лімфоцитів, %	Дози антигенів медичної п'явки						
		інтакт	0	20	40	80	120	250
1	2	3	4	5	6	7	8	9
30 хв	Малі КЛ ≤ 6 (<6,4)	21,7 ± 1,3	43,2 ± 1,57*	35,3 ± 1,51**,**	35, ± 1,52**,**	29 ± 1,43**,**	52,4 ± 1,58**,**	59,2 ± 1,55**,**
	Середні КЛ 7-9 (6,5-9,4)	62,3 ± 1,53	41,5 ± 1,56*	54,9 ± 1,57**,**	55, ± 1,57**,**	64,2 ± 1,52**,**	38,3 ± 1,54*	33,8 ± 1,49**,**
	Великі КЛ ≥ 10 (9,5<)	16 ± 1,16	15,3 ± 1,14	9,8 ± 0,94**,**	8,8 ± 0,89**,**	6,8 ± 0,8**,**	9,3 ± 0,9**,**	7 ± 0,81**,**
	Середній діаметр лімфоцитів, мкм	7,48 ± 0,52	6,30 ± 0,44	6,66 ± 0,47	6,6 ± 0,47	6,46 ± 0,45	6,19 ± 0,43	5,83 ± 0,41*

Примітка: * - показники, що достовірно відрізняються від інтакту ($p \leq 0,05$), ** - показники, що достовірно відрізняються від контролю ($p \leq 0,05$).

Note: significant difference as compared to intact group values ($p \leq 0,05$), ** - significant difference as compared to control values ($p \leq 0,05$).

Заслугове уваги факт, що не тільки при малих і середніх концентраціях АГ МП, але і при великих концентраціях в культурі клітин зберігалась частина великих лімфоцитів. Збереження відповідного пула великих лімфоцитів свідчить про гетерогенність популяції лімфоцитів до факторів.

Для з'ясування механізму впливу АГ МП частину культури при дозі 120 мкг/мл без робочого розчину дріжджів культивували 24 години. Після чого оцінювали реакцію бластної

трансформації лімфоцитів (РБТЛ) у %. Було виявлено, що збільшується РБТЛ порівняно з контролем $11,9 \pm 1,19\%$ (при контролі $5,5 \pm 0,47\%$), (рис. 1). Бласти морфологічно відрізнялись від контрольних: зниження їх середнього об'єму і знижена базофілія цитоплазми за рахунок пригнічення синтезу рибосомальних РНК. А в значній частині активованих лімфоцитів спостерігалися явні ознаки апоптозу $2,4 \pm 0,8\%$ (цитоліз і вакуолізація цитоплазми, регургітація і каріолексис ядра.

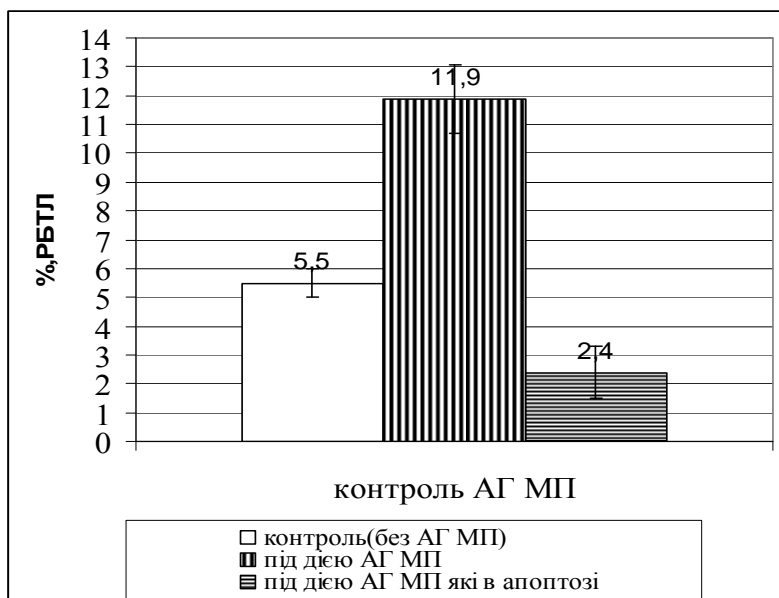


Рис. 1. Показники реакції бластної трансформації лімфоцитів крові донорів на антигени сольового екстракту медичної п'явки у дозі 120 мкг / мл, %

Fig.1. Data of reaction of lymphocytes blast transformation of in the donor blood on antigens of medicinal leech salt extract at a dose of 120 mcg / ml, %

Висновки:

1. Пролонгована постановка фагоцитарної реакції нейтрофілів і цитоморфометричний метод аналізу розмірності класів лімфоцитів є інформативними тестами, які об'єктивно відображають стан імунокомпетентних клітин на момент обстеження.
2. Збільшення рівня малих лімфоцитів в контрольній культурі і при додаванні різної концентрації антигенів медичної п'явки свідчить про переважання апоптичних реакцій над продуктивними імуногенетичними. Про рівень останніх можна судити за наявністю великих лімфоцитів (імунобластів), які зберігаються і при великих концентраціях. Збереження продуктивного імуногенезу лімфоцитів ймовірно забезпечується цитокиновою підтримкою, яка реалізується при фагоцитарній реакції мікрофагів та макрофагів.
3. Зменшення малих і збільшення середніх лімфоцитів при дозі 80 мкг / мл можна

розцінити, як імуногенетична реакція на фоні загального апоптозу.

4. Встановленні оптимальні концентрації АГ МП від 20 до 80 мкг / мл для фагоцитарної реакції нейтрофілів і реактивності лімфоцитів. Концентрації доз 120 – 250 мкг / мл є цитотоксичними.
5. Визначенні in vitro межі концентрацій АГ МП дозволять регламентувати об'єм гірудотерапії по сучасному принципу доказової медицини.
6. Вперше встановлено явище індукції апоптозу в імунокомпетентних клітинах крові людини під впливом БАР МП. Може пояснювати механізм протизапальної дії гірудотерапії. Крім того відкриває перспективу для подальшого вивчення цього явища на рівні організму і з подальшою можливістю купірувати алергічні і аутоімунні захворювання шляхом наведення через апоптоз імунологічної толерантності на алергени.

Список літератури:

1. Каменев О.Ю. Лечение пиявками: теория и практика гирудотерапии: руководство для врачей / О.Ю. Каменев, А.Ю. Барановский. – СПб.: ИГ «Весь», 2006. – 304 с.
2. Башкирцева Н. А. Лечимся пиявками / Нина Анатольевна Башкирцева. – СПб. : Крылов, 2008. – 128 с.
3. Баскова И.П. Гирудотерапия / И.П. Баскова, Г.С. Исаханян. – М.: НВП «Гируд И.Н.», 2004. – 506 с.
4. Гирудотерапия. Руководство для врачей/ под ред.. В.А. Савинова. – М. : ОАО Медицина, 2004.- 432 с.
5. Геращенко Л. Все о пиявке. Гирудотерапия для разных типов людей / Л. Геращенко. – СПб., 2007. – 250 с.
6. Фролов О. К. Основи імунології : навч. посіб. для студ. біологічного факультету денної та заочної форм навчання / О. К.Фролов В. В. Копійка, Є. Р. Федотов. – Запоріжжя: ЗНУ, 2007. – с.11- 12
7. Фролов О.К., Литвиненко Р.О., Копійка В.В., Федотов Є.Р. Спосіб отримання антигенів із медичної п'явки // Патент України № 80665. 2013. Бюл. № 11.
8. Фролов О. К. Вплив біологічно активних речовин медичної п'явки на ізольовані зразки крові під час гірудотерапії / О. К. Фролов, В. В. Копійка, Є. Р. Федотов // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2010. № 3. – с. 36-41.

References:

1. Kamenev O.Ju., Baranovskij A.Ju. Lechenie pijavkami:teorija i praktika girudoterapii : rukovodstvo dlja vrachej. St. Petersburg: IG «Ves'», 2006. 304 p.
2. Bashkirtseva N. A. Lechimsya leeching . St. Petersburg. : Krylov, 2008. –128 p.
3. Baskova I.P., Isahanjan G.S. Girudoterapija. Moscow: NVP «Girud I.N.», 2004. 506 p.
4. Savinov V.A. (Ed.). 2004. Hirudotherapy: guide.Medicina, Moscow (In Russian).
5. Gerashhenko. L. (2007). Vse o piyavke. Girudoterapiya dlya raznykh tipov lyudej [All of the leech. Leech therapy for different types of people]. Saint Petersburg [in Russian].
6. Frolov A.K., Kopeika V.V., Fedotov E.R. Fundamentals of immunology: teach. guidances. for students. Biology Faculty full-time and distance learning. - Zaporozhye: News, 2007. - P.11-12
7. Frolov O.K., Litvinenko R.O., Kopeika V.V., Fedotov E.R. Sposib otrimannja antigeniv iz medichnoї p'javki. Patent Ukraini. No. 80665. 2013. Bjul. no. 11.
8. Frolov A.K., Kopeika V.V., Fedotov E.R. Effect of biologically active substances of medicinal leech on isolated samples of blood in the process of hirudotherapy // Experimental and clinical physiology. - 2010. № 3. - P. 36-41.

INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE SALT EXTRACT OF THE MEDICINAL LEECH ON PHAGOCYtic ACTIVITY OF NEUTROPHILS AND CYTOMORPHOMETRIC CHANGES OF BLOOD LYMPHOCYTES IN CULTURE

R. F. Aminov, A. K. Frolov

Studied the culture of blood cells of ten male, adult donors. In which, in vitro studied the immunological reactivity of neutrophils and lymphocytes on the baker's yeast on a background of various concentrations of biologically active substances from saline extract of the medicinal leech bodies to determine the optimal immunogenic concentrations. As a result of experimental studies donors under the action of different concentrations of medicinal leech antigens was found that in the short-termed leukocyte culture for 30 and 90 min incubation of small and medium concentrations of antigens stimulated the phagocytic activity of neutrophils and large ones suppressed it, including their digesting ability. Blood lymphocytes respond to small (20 mcg / ml) and medium (40 - 80 mcg / ml) concentrations of antigens of the medicinal leech and yeast by apoptotic and productive immunological reactions that were by small lymphocytes decrease with an increase in the average lymphocytes, which is a demonstration of productive immunogenesis transition of part of small lymphocytes in medium ones after antigen activation and initial reaction of blast transformation of lymphocytes. Large concentrations of medicinal leech antigens (120 - 250 mcg / ml) induced apoptotic cells to cytotoxic reactions and that manifested sharp increase in small lymphocytes by reducing the average number of lymphocytes. At a part of the culture of the working solution without yeast at a antigens' of medicinal leech dose of 120 mcg / ml, which were cultured for 24 hours, mononuclear cells differed by pyknotic small and large lymphocytes with signs of apoptosis. Save of productive immune lymphocytes probably ensured cytokine support, implemented in phagocytic reaction of microphages and macrophages. Were obtained optimal dose for phagocytic response of neutrophils and lymphocytes reactivity, starting with a concentration of 20 mcg / ml and ending with a final concentration of 80 mcg / ml. Concentrations doses of 120 - 250 mcg / ml are cytotoxic. Finding in vitro of medicinal leech antigens concentration limits will regulate hirudotherapy capacity on modern principles of evidence-based medicine. For the first time the phenomenon of apoptosis in immune cells of blood under the influence of biologically active substances of the medicinal leech is found. It may explain the mechanism of anti-inflammatory action of hirudotherapy. Also opens the prospect for further study of this phenomenon at the level of the organism with the further possibility of allergic and autoimmune diseases relief by targeting apoptosis through immune tolerance to allergens.

Keywords: hirudotherapy, biologically active substances, medicinal leeches, leukocytes, phagocytosis, cytometry, the reaction of lymphocytes blast transformation.

Одержано редколлегією 09.04.2015

ПЕРЕМОЖЦІ ВСЕУКРАЇНСЬКОГО КОНКУРСУ СТУДЕНТСЬКИЙ НАУКОВИХ РОБІТ З БІОЛОГІЧНИХ НАУК



УДК 615.811.2: 611.018.53

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СОЛЬОВОГО ЕКСТРАКТУ МЕДИЧНОЇ П'ЯВКИ НА ФАГОЦИТАРНУ АКТИВНІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ І ЦИТОМОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ ЛЮДИНИ У КУЛЬТУРІ

Р. Ф. АМІНОВ, О. К. ФРОЛОВ

Запорізький національний університет, Україна,
69600, м. Запоріжжя, вул. Жуковського, 66
e-mail: 91_amin_91@mail.ru, a_frolov@ukr.net

Досліджена культура клітин крові десяти донорів, чоловічої статі, зрілого віку, в якій, in vitro вивчено імунологічну реактивність нейтрофілів і лімфоцитів на пекарські дріжджі на фоні різної концентрації біологічно активних речовин сольового екстракту із тіл медичної п'явки для визначення оптимальних імуногенних концентрацій. В результаті експериментальних досліджень у донорів при дії різної концентрації антигенів медичної п'явки було виявлено, що в короткостроковій культурі лейкоцитів на 30 і 90 хвилинній інкубації малі і середні концентрації антигенів стимулювали фагоцитарну активність нейтрофілів, а великі пригнічували, в тому числі і їх перетравлюючу здатність. Лімфоцити крові реагували на малі (20 мкг / мл) і середні (40 - 80 мкг / мл) концентрації антигенів медичної п'явки і дріжджі апоптичними і продуктивними імунологічними реакціями, які проявлялись зменшенням малих лімфоцитів зі збільшенням середніх лімфоцитів – це демонстрація продуктивного імуногенезу перехід частини малих в середні після антигенної - активації і початкової реакції бластної трансформації лімфоцитів. Великі концентрації антигенів медичної п'явки (120 - 250 мкг / мл) індукували на лімфоцити апоптичними і цитотоксичними реакціям, які проявлялись різким збільшенням малих лімфоцитів за рахунок зменшення середніх лімфоцитів. В частині культури без робочого розчину дріжджів при дозі 120 мкг/мл антигенів медичної п'явки, яку культивували 24 години, мононуклеари відрізнялися пікнотичними малими і великими лімфоцитами з ознаками апоптозу. Збереження продуктивного імуногенезу лімфоцитів ймовірно забезпечується цитокиновою підтримкою, яка реалізується при фагоцитарній реакції мікрофагів та макрофагів. Були отримані оптимальні дози для фагоцитарної реакції нейтрофілів і реактивності лімфоцитів, починаючи з концентрації 20 мкг / мл і закінчуючи кінцевою концентрацією 80 мкг / мл. Концентрації доз 120 – 250 мкг / мл є цитотоксичними. Визначенні in vitro межі концентрацій антигенів медичної п'явки дозволять регламентувати об'єм гірудотерапії по сучасному принципу доказової медицини. Вперше встановлено явище індукції апоптозу в імунокомпетентних клітинах крові людини під впливом біологічно активних речовин медичної п'явки. Може пояснювати механізм протизапальної дії гірудотерапії. Крім того відкриває перспективу для подальшого вивчення цього явища на рівні організму і з подальшою можливістю купірувати алергічні і аутоімунні захворювання шляхом наведення через апоптоз імунологічної толерантності на алергени.

Ключові слова: гірудотерапія, біологічно активні речовини, медична п'явка, лейкоцити, фагоцитоз, цитоморфометрія, реакція бластної трансформації лімфоцитів.

Вступ. В останній час на тлі наростаючої алергізації населення, зростання числа ускладнень і побічних ефектів фармакотерапії, відзначається активний пошук можливостей застосування різних не медикаментозних методів впливу на організм людини. Особливу увагу привертають методи, які тисячоліття успішно застосовувалися нашими предками (Каменев и Барановский, 2006). Один з таких методів - гірудотерапія (ГТ) - використання медичних п'явок у лікувальних цілях (Басков и Исаханян,

2004; Савинова, 2004). Основою лікувального ефекту гірудотерапії є слина п'явки, яка містить велику кількість біологічно активних речовин (БАР), що сприяють нормалізації внутрішнього гомеостазу (Герашенко и Никонов, 2007). Разом зі слиною вона вводить в організм людини понад 150 біологічно активних ферментів. Чимало з них має білкову природу, тому стає об'єктом реакції імунної системи людини, зміни якої й зумовлюють більшість терапевтичних ефектів ГТ (Башкирцева, 2008). Вплив БАР

вивчено недостатньо, а імунологічна дія БАР тільки почала вивчатись (Фролов та ін., 2010). Одна з причин цих недоліків полягає в нестачі об'єктивних методів, які характеризують функцію імунокомпетентних клітин крові людини. З таких імуногенезних методів є метод визначення фагоцитарної активності нейтрофілів і цитоморфометричний аналіз лімфоцитів, які характеризують реакції вродженого імунітету. Тому головна мета цього дослідження за допомогою цих методів вивчити індивідуальну імунологічну реактивність імунокомпетентних клітин крові людини на різні концентрації антигенів (АГ) сольового екстракту медичної п'явки (МП). Для встановлення оптимальних концентрацій АГ МП, які забезпечують фізіологічні межі фагоцитарної реакції нейтрофілів і реакції бластної трансформації лімфоцитів.

Матеріали і методи. Дослідження проводилися в навчально-науково-дослідній лабораторії клітинної та організмової біотехнології Запорізького національного університету (зав. лаб. д. м. н., професор Фролов О. К.). Досліджувалася культура клітин крові 10 донорів чоловічої статі, зрілого віку. Матеріалом для дослідження була венозна кров стабілізована гепарином, в якій визначали кількість лейкоцитів для оцінки функціонального статусу імунної системи (інтактний зразок). Далі отримували лейкоконцентрат макрометодом в 10% розчині желатину (1% / мл), визначали відсоток виходу лейкоцитів, який становив 90-95% (Фролов та ін., 2007). Готували суспензію клітин на культуральній сумішці концентрацією 4,0 млн / мл. Досліджували фагоцитарну активність нейтрофілів (фагоцитарний індекс і фагоцитарне число) і цитоморфометричні показники лімфоцитів, під впливом різної концентрації антигенів сольового екстракту із тіл МП (Фролов та ін., 2013). Дозування антигенів сольового екстракту здійснювали за вмістом білка (визначали за Лоурі). Отриману лейкомасу, в якій заздалегідь ми визначили вміст лейкоцитів, у об'ємі по 50 мкл розливали в мікропробірки і додавали відповідну дозу АГ МП. Початкова доза АГ становила 20 мкг / мл, а кінцева 250 мкг / мл суспензії лейкоцитів (20; 40; 80; 120; 250) та додавали по 50 мкл робочого 1% розчину дріжджів. Охайно перемішували. Після чого всі дослідні зразки крові крім інтактних інкубували в термостаті при +37° С протягом 90хв. Кожні 10 хв. охайно перемішували. Мазки готували на 30 та 90 хв. Частину культури без додавання робочого розчину дріжджів при дозі 120 мкг/мл АГ МП культивували 24 години. Після чого оцінювали реакцію бластної трансформації

лімфоцитів (РБТЛ) у %. Фіксували ці мазки у 96% етанолі і фарбували за Папенгеймом (комбіноване фарбування за Май-Грюнвальдом 5 хвилин та Романовським - Гімза 25 хвилин). Результати порівнювали з референтними значеннями для даного віку. Дослідні зразки з відповідним вмістом АГ МП порівнювали з контролем (без АГ). Статистичну обробку результатів проводили методом обчислення середньої арифметичної, помилки середньої арифметичної, середнього квадратичного відхилення за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Office Excel 2010. Вірогідність відмінностей між середніми величинами оцінювали за критерієм Ст'юдента. Різниця вважалася достовірною при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати експериментальних досліджень щодо фагоцитарної активності нейтрофілів та цитоморфометричних показників лімфоцитів під дією різної концентрації АГ МП представлені в таблицях 1 та 2, відповідно. Дані культури клітин 10 донорів були усереднені так, як динаміка впливу АГ МП в різній концентрації на досліджувані показники була подібною незалежно від анамнезу. При дослідженні усереднених даних 10 донорів у фагоцитарній активності нейтрофілів (ФАН) було виявлено, що при 30 хв. інкубації фагоцитарний індекс (ФІ) в контрольній культурі (без АГ МП) знаходився в межах фізіологічних значень і дорівнював $60,64 \pm 1,09$ % і починав збільшуватися від концентрації 40 мкг/ мл до 250 мкг/мл. При 90 хв. інкубації ФІ продовжує зростати, як в контрольних, так і в навантажувальних тестах (табл. 1). Пригнічення ФРН нами підтверджено при аналізі фагоцитарного числа (ФЧ) - це середня кількість поглинутих дріжджів, захоплених одним нейтрофілом (табл. 1). ФЧ при 30 хв. інкубації в контрольних і дослідних значеннях культури лейкоцитів до концентрації 120 мкг / мл були в межах $3,624 \pm 0,18 - 4,77 \pm 0,24$, що відповідає їх фізіологічним значенням і тільки доза АГ МП 250 мкг / мл має місце у зменшенні ФЧ, як загальне пригнічення ФАН. В культурах клітин з додаванням АГ МП до концентрації 120 мкг / мл при 90 хв. інкубації ФЧ продовжує підвищуватися, це свідчить про пригнічення перетравлюючої здатності фагосом нейтрофілів. Ці дані співпадають з даними літератури, про наявність в МП антиферментних компонентів (антитрепсин, антипепсин). Пригнічення ФЧ в 90 хв. культурі з концентрації 250 мкг / мл, як наслідок загального пригнічення ФАН.

Таблиця 1.
Фагоцитарна активність нейтрофілів 10 донорів при 30 і 90 хв. інкубації під дією різної концентрації АГ МП

Table 1.
Phagocytic activity of neutrophils of 10 donors at 30 and 90 min. incubation under different concentrations of AG ML

Час культивування	Показник	Дози антигенів медичної п'явки					
		0	20	40	80	120	250
30 хв	ФІ	60,64 ± 1,09	59,3 ± 1,098	66,65 ± 1,054	63,96 ± 1,07	64,47 ± 1,07	69,25 ± 1,03*
	ФЧ	3,77 ± 0,18	3,86 ± 0,19	3,95 ± 0,2	3,85 ± 0,19	3,72 ± 0,18	3,29 ± 0,16
90 хв	ФІ	68,23 ± 1,04	65,97 ± 1,06	73,41 ± 0,99	70,84 ± 1,02	70,46 ± 1,02	73,35 ± 0,99
	ФЧ	3,124 ± 0,16**	4,67 ± 0,23*,**	4,766 ± 0,24*,**	4,773 ± 0,24*,**	3,859 ± 0,19*,**	2,986 ± 0,15**

Примітка: * - показники достовірно відрізняються від контролю ($p \leq 0,05$), ** - показники достовірно відрізняються 30 від 90 хв. інкубації ($p \leq 0,05$)

Note: * - significant difference as compared to control value ($p \leq 0,05$), ** - significant difference as compared between 30 and 90 min. incubation ($p \leq 0,05$)

Одночасно з фагоцитарною реакцією нейтрофілів в культурах лейкоцитів з різним вмістом АГ МП аналізували імунологічну реактивність лімфоцитів цитоморфометричним методом (табл. 2). В інтактній крові варіації малих (< 6,0 мкм), середніх (7 - 9 мкм) і великих (> 10 мкм) цитоморфометричних класів лімфоцитів (ЦКЛ) в сумі співпадали з їх кількістю у донорів даного віку. В контрольних (без АГ МП) культурах лейкоцитів відбувалися значні зміни в співвідношенні ЦКЛ: різке збільшення малих і значне зменшення великих

лімфоцитів. Згідно до концепції функціонального значення ЦКЛ розробленої Фроловим О. К.: більшість малих і великих лімфоцитів відносяться до активованих тому їх зміни є наслідком їх імунологічної реактивності. Збільшення малих ЦКЛ - є наслідком апоптичної реакції середніх і великих лімфоцитів. Малі (20 мкг / мл) і середні (40 - 80 мкг / мл) концентрації АГ МП демонстрували апоптичні і продуктивні імунологічні реакції, які проявлялись зменшенням малих ЦКЛ зі збереженням великих лімфоцитів.

Таблиця 2.
Цитоморфометричні показники лімфоцитів 10 донорів при 30 хв. інкубації під дією різної концентрації АГ МП

Table 2.
Cytomorphometric data of lymphocytes of 10 donors in 30 min. incubation under different concentrations of AG ML

Час культивування	Розмірність класів лімфоцитів, %	Дози антигенів медичної п'явки						
		інтакт	0	20	40	80	120	250
1	2	3	4	5	6	7	8	9
30 хв	Малі КЛ ≤ 6 (<6,4)	21,7 ± 1,3	43,2 ± 1,57*	35,3 ± 1,51**,**	35, ± 1,52**,**	29 ± 1,43**,**	52,4 ± 1,58**,**	59,2 ± 1,55**,**
	Середні КЛ 7-9 (6,5-9,4)	62,3 ± 1,53	41,5 ± 1,56*	54,9 ± 1,57**,**	55, ± 1,57**,**	64,2 ± 1,52**,**	38,3 ± 1,54*	33,8 ± 1,49**,**
	Великі КЛ ≥ 10 (9,5<)	16 ± 1,16	15,3 ± 1,14	9,8 ± 0,94**,**	8,8 ± 0,89**,**	6,8 ± 0,8**,**	9,3 ± 0,9**,**	7 ± 0,81**,**
	Середній діаметр лімфоцитів, мкм	7,48 ± 0,52	6,30 ± 0,44	6,66 ± 0,47	6,6 ± 0,47	6,46 ± 0,45	6,19 ± 0,43	5,83 ± 0,41*

Примітка: * - показники, що достовірно відрізняються від інтакту ($p \leq 0,05$), ** - показники, що достовірно відрізняються від контролю ($p \leq 0,05$).

Note: significant difference as compared to intact group values ($p \leq 0,05$), ** - significant difference as compared to control values ($p \leq 0,05$).

Заслугове уваги факт, що не тільки при малих і середніх концентраціях АГ МП, але і при великих концентраціях в культурі клітин зберігалась частина великих лімфоцитів. Збереження відповідного пула великих лімфоцитів свідчить про гетерогенність популяції лімфоцитів до факторів.

Для з'ясування механізму впливу АГ МП частину культури при дозі 120 мкг/мл без робочого розчину дріжджів культивували 24 години. Після чого оцінювали реакцію бластної

трансформації лімфоцитів (РБТЛ) у %. Було виявлено, що збільшується РБТЛ порівняно з контролем 11,9 ± 1,19% (при контролі 5,5 ± 0,47%), (рис. 1). Бласти морфологічно відрізнялись від контрольних: зниження їх середнього об'єму і знижена базофілія цитоплазми за рахунок пригнічення синтезу рибосомальних РНК. А в значній частині активованих лімфоцитів спостерігалися явні ознаки апоптозу 2,4 ± 0,8% (цитоліз і вакуолізація цитоплазми, регургітація і каріолексис ядра.

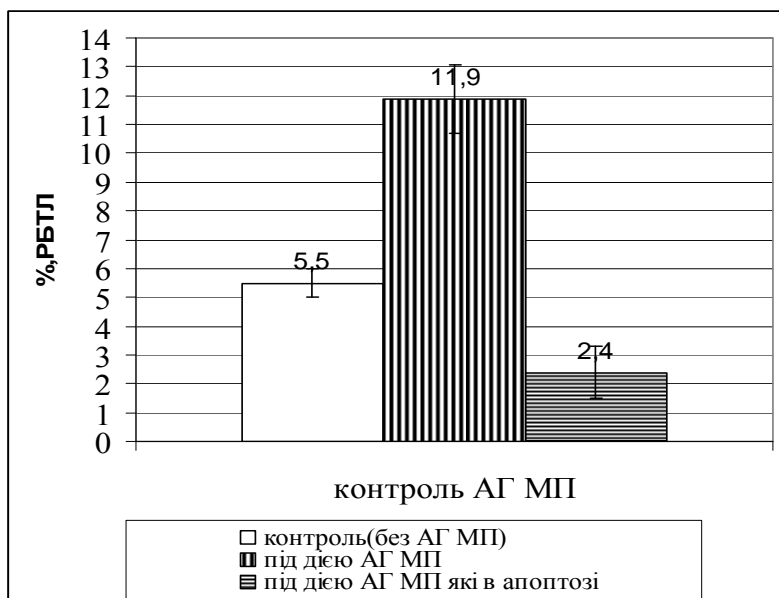


Рис. 1. Показники реакції бластної трансформації лімфоцитів крові донорів на антигени сольового екстракту медичної п'явки у дозі 120 мкг / мл, %

Fig.1. Data of reaction of lymphocytes blast transformation of in the donor blood on antigens of medicinal leech salt extract at a dose of 120 mcg / ml, %

Висновки:

1. Пролонгована постановка фагоцитарної реакції нейтрофілів і цитоморфометричний метод аналізу розмірності класів лімфоцитів є інформативними тестами, які об'єктивно відображають стан імунокомпетентних клітин на момент обстеження.
2. Збільшення рівня малих лімфоцитів в контрольній культурі і при додаванні різної концентрації антигенів медичної п'явки свідчить про переважання апоптичних реакцій над продуктивними імуногенетичними. Про рівень останніх можна судити за наявністю великих лімфоцитів (імунобластів), які зберігаються і при великих концентраціях. Збереження продуктивного імуногенезу лімфоцитів ймовірно забезпечується цитокиновою підтримкою, яка реалізується при фагоцитарній реакції мікрофагів та макрофагів.
3. Зменшення малих і збільшення середніх лімфоцитів при дозі 80 мкг / мл можна

розцінити, як імуногенетична реакція на фоні загального апоптозу.

4. Встановленні оптимальні концентрації АГ МП від 20 до 80 мкг / мл для фагоцитарної реакції нейтрофілів і реактивності лімфоцитів. Концентрації доз 120 – 250 мкг / мл є цитотоксичними.
5. Визначенні in vitro межі концентрацій АГ МП дозволять регламентувати об'єм гірудотерапії по сучасному принципу доказової медицини.
6. Вперше встановлено явище індукції апоптозу в імунокомпетентних клітинах крові людини під впливом БАР МП. Може пояснювати механізм протизапальної дії гірудотерапії. Крім того відкриває перспективу для подальшого вивчення цього явища на рівні організму і з подальшою можливістю купірувати алергічні і аутоімунні захворювання шляхом наведення через апоптоз імунологічної толерантності на алергени.

Список літератури:

1. Каменев О.Ю. Лечение пиявками: теория и практика гирудотерапии: руководство для врачей / О.Ю. Каменев, А.Ю. Барановский. – СПб.: ИГ «Весь», 2006. – 304 с.
2. Башкирцева Н. А. Лечимся пиявками / Нина Анатольевна Башкирцева. – СПб. : Крылов, 2008. – 128 с.
3. Баскова И.П. Гирудотерапия / И.П. Баскова, Г.С. Исаханян. – М.: НВП «Гируд И.Н.», 2004. – 506 с.
4. Гирудотерапия. Руководство для врачей/ под ред.. В.А. Савинова. – М. : ОАО Медицина, 2004.- 432 с.
5. Геращенко Л. Все о пиявке. Гирудотерапия для разных типов людей / Л. Геращенко. – СПб., 2007. – 250 с.
6. Фролов О. К. Основи імунології : навч. посіб. для студ. біологічного факультету денної та заочної форм навчання / О. К.Фролов В. В. Копійка, Є. Р. Федотов. – Запоріжжя: ЗНУ, 2007. – с.11- 12
7. Фролов О.К., Литвиненко Р.О., Копійка В.В., Федотов Є.Р. Спосіб отримання антигенів із медичної п'явки // Патент України № 80665. 2013. Бюл. № 11.
8. Фролов О. К. Вплив біологічно активних речовин медичної п'явки на ізольовані зразки крові під час гірудотерапії / О. К. Фролов, В. В. Копійка, Є. Р. Федотов // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2010. № 3. – с. 36-41.

References:

1. Kamenev O.Ju., Baranovskij A.Ju. Lechenie pijavkami:teorija i praktika girudoterapii : rukovodstvo dlja vrachej. St. Petersburg: IG «Ves'», 2006. 304 p.
2. Bashkirtseva N. A. Lechimsya leeching . St. Petersburg. : Krylov, 2008. –128 p.
3. Baskova I.P., Isahanjan G.S. Girudoterapija. Moscow: NVP «Girud I.N.», 2004. 506 p.
4. Savinov V.A. (Ed.). 2004. Hirudotherapy: guide.Medicina, Moscow (In Russian).
5. Gerashhenko. L. (2007). Vse o piyavke. Girudoterapiya dlya raznykh tipov lyudej [All of the leech. Leech therapy for different types of people]. Saint Petersburg [in Russian].
6. Frolov A.K., Kopeika V.V., Fedotov E.R. Fundamentals of immunology: teach. guidances. for students. Biology Faculty full-time and distance learning. - Zaporozhye: News, 2007. - P.11-12
7. Frolov O.K., Litvinenko R.O., Kopeika V.V., Fedotov E.R. Sposib otrimannja antigeniv iz medichnoї p'javki. Patent Ukraini. No. 80665. 2013. Bjul. no. 11.
8. Frolov A.K., Kopeika V.V., Fedotov E.R. Effect of biologically active substances of medicinal leech on isolated samples of blood in the process of hirudotherapy // Experimental and clinical physiology. - 2010. № 3. - P. 36-41.

INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE SALT EXTRACT OF THE MEDICINAL LEECH ON PHAGOCYtic ACTIVITY OF NEUTROPHILS AND CYTOMORPHOMETRIC CHANGES OF BLOOD LYMPHOCYTES IN CULTURE

R. F. Aminov, A. K. Frolov

Studied the culture of blood cells of ten male, adult donors. In which, in vitro studied the immunological reactivity of neutrophils and lymphocytes on the baker's yeast on a background of various concentrations of biologically active substances from saline extract of the medicinal leech bodies to determine the optimal immunogenic concentrations. As a result of experimental studies donors under the action of different concentrations of medicinal leech antigens was found that in the short-termed leukocyte culture for 30 and 90 min incubation of small and medium concentrations of antigens stimulated the phagocytic activity of neutrophils and large ones suppressed it, including their digesting ability. Blood lymphocytes respond to small (20 mcg / ml) and medium (40 - 80 mcg / ml) concentrations of antigens of the medicinal leech and yeast by apoptotic and productive immunological reactions that were by small lymphocytes decrease with an increase in the average lymphocytes, which is a demonstration of productive immunogenesis transition of part of small lymphocytes in medium ones after antigen activation and initial reaction of blast transformation of lymphocytes. Large concentrations of medicinal leech antigens (120 - 250 mcg / ml) induced apoptotic cells to cytotoxic reactions and that manifested sharp increase in small lymphocytes by reducing the average number of lymphocytes. At a part of the culture of the working solution without yeast at a antigens' of medicinal leech dose of 120 mcg / ml, which were cultured for 24 hours, mononuclear cells differed by pyknotic small and large lymphocytes with signs of apoptosis. Save of productive immune lymphocytes probably ensured cytokine support, implemented in phagocytic reaction of microphages and macrophages. Were obtained optimal dose for phagocytic response of neutrophils and lymphocytes reactivity, starting with a concentration of 20 mcg / ml and ending with a final concentration of 80 mcg / ml. Concentrations doses of 120 - 250 mcg / ml are cytotoxic. Finding in vitro of medicinal leech antigens concentration limits will regulate hirudotherapy capacity on modern principles of evidence-based medicine. For the first time the phenomenon of apoptosis in immune cells of blood under the influence of biologically active substances of the medicinal leech is found. It may explain the mechanism of anti-inflammatory action of hirudotherapy. Also opens the prospect for further study of this phenomenon at the level of the organism with the further possibility of allergic and autoimmune diseases relief by targeting apoptosis through immune tolerance to allergens.

Keywords: hirudotherapy, biologically active substances, medicinal leeches, leukocytes, phagocytosis, cytometry, the reaction of lymphocytes blast transformation.

Одержано редколегією 09.04.2015

ЕКОЛОГІЧНА ОЦІНКА СТАНУ ЕКОСИСТЕМ МАЛИХ РІЧОК ЗА БІОРІЗНОМАНІТТЯМ ФІТОПЛАНКТОНУ ТА ПРОДУКЦІЙНИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ВОДОРОСТЕЙ

О. В. КРАВЦОВА, Ю. С. ШЕЛЮК

*Житомирський державний університет імені Івана Франка,
природничий факультет, кафедра ботаніки, біоресурсів та збереження біорізноманіття
e-mail: shelyuk_yulya@ukr.net*

У роботі представлені результати інвентаризації автотрофної компоненти малих річок Центрального Полісся з відмінним рівнем антропогенного навантаження – Крошенки (м. Житомир) і Коднянки (с. Пряжів Житомирського р-ну). Досліджено особливості формування первинної продукції та деструкції органічної речовини водотоків, проведена оцінка якості водного середовища малих річок за сапробіологічними характеристиками індикаторних видів водоростей. Метою роботи було здійснити оцінку сучасного екологічного стану малих річок Центрального Полісся (з різним ступенем антропогенного навантаження) за різноманіттям фітопланктону. Альгологічні проби фіксували, згущували та камерально опрацьовували загальноприйнятими у гідробіології методами. У роботі застосовано таксономічну систему водоростей, запропоновану у найновішому зведенні «Algae of Ukraine». Біоіндикаційний аналіз здійснено з урахуванням індикаторних властивостей водоростей. Первинну продукцію фітопланктону та деструкцію органічної речовини визначали кисневою модифікацією склянкового методу. Крім того, використані гідрохімічні, порівняльно-флористичні і статистичні методи, які дозволили виділити чинники, що визначають особливості формування і функціонування фітопланктону досліджуваних річок. За час досліджень у планктоні річок було виявлено 206 видів водоростей, представлених 209 внутрішньовидовими таксонами, включно з тими, що містять номенклатурний тип виду. За видовим складом фітопланктон досліджуваних річок можна характеризувати як зелено-діатомово-евгленовий. За біоіндикаційними характеристиками у товщі води переважають планктонно-бентосні та планктонні форми водоростей, індивідуальні за відношенням до рН та рівня солоності, індикатори середньої текучості вод, помірного температурного режиму, слабколужних вод. Встановлено провідну роль β -мезосапробіонтів. Річкова вода за рівнем органічного забруднення за Пантле-Бук (в модифікації Сладечека) належить до III класу якості (вода «задовільної якості»), а за системою Ватанабе – характеризується помірним умістом органічних сполук. Річкам Коднянка і Крошенка властива досить висока продуктивність. Переважав позитивний баланс органічної речовини, що вказує на автотрофну направленість метаболізму їх екосистем. Проте, у р. Крошенка фіксували значне переважання продукційних процесів над деструкційними, що може призвести до накопичення надлишкової кількості органічної речовини. На сучасному етапі функціонування річкових екосистем їх суцесія протікає за умов домінування природних чинників. Порушення природної суцесії у р. Крошенка викликане антропогенним впливом м. Житомира, призводить до зниження інформаційного різноманіття та збалансованості продукційно-деструкційних процесів.

Ключові слова: фітопланктон, малі річки Крошенка, Коднянка, біоіндикація, первинна продукція.

Вступ. Дослідження біорізноманіття автотрофної компоненти малих річок – необхідна умова для розробки стратегії його збереження й охорони. Фітопланктон є чутливим до змін екологічних чинників. Це обумовлює ефективність використання угруповань автотрофних гідробіонтів для оцінки екологічного стану водних екосистем згідно Directive 2000/60/EC (EU Water Framework Directive ..., 2006).

Отримані нові дані про структуру і функціонування фітопланктону малих річок Крошенка і Коднянка (Житомирська обл.) зможуть знайти широке застосування при проведенні екологічного моніторингу,

прогнозуванні змін якості води в часі у зв'язку зі зміною природних умов або антропогенного навантаження, а також можуть стати складовою у розробці стратегії збереження біорізноманіття альгофлори водойм Центрального Полісся.

Матеріали та методи. Відбір альгологічних проб здійснювали упродовж вегетаційного сезону 2011–2014 рр. подекадно на стаціонарних станціях, розташованих на річках Крошенка і Коднянка (Житомирський р-н, Житомирська обл.). Усього було відібрано 122 альгологічні проби, які опрацьовували загальновідомими методами (Методи ..., 2006). Визначення систематичного складу водоростей проводили з урахуванням найновіших флористичних зведень

(Algae of Ukraine, 2006). Біоіндикаційний аналіз здійснено з урахуванням індикаторних властивостей водоростей, наведених у відповідній монографії (Барінова і др., 2006). Подібність видового складу фітопланктону річок встановлювали за (Sorensen, 1978). Первинну продукцію фітопланктону та деструкцію органічної речовини визначали кисневою модифікацією склянного методу, гідрохімічний аналіз проводили за стандартними методиками (Методи ..., 2006).

Річки Коднянка та Крошенка є притоками р. Тетерів (басейн Дніпра). Остання протікає через місто Житомир і зазнає значного антропогенного тиску міста. Літературні відомості щодо різноманіття альгофлори цих річок не знайдені.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що гідрохімічні умови у досліджуваних річках є сприятливими для розвитку біоти і вегетації їх фітопланктону (табл. 1).

Аналіз еколого-токсикологічної ситуації річкової води у різні сезони 2011–2014 рр.

показав, що концентрації екологічно-небезпечних речовин переважно не перевищують допустимих. Виявлено локальне зростання вмісту п्लумбуму (Pb) влітку 2014 р. у р. Крошенка. У р. Коднянці навесні у передповеневий період відмічали значне накопичення амонійної (1,0 мг/дм³) та нітритної (11 мг/дм³) форм азоту. У літній період спостерігали зростання нітратної форми азоту в обох досліджуваних річках, що, ймовірно, пов'язано зі зростанням інтенсивності вегетації водної рослинності у цей період, а також свідчить про наявність можливого антропогенного забруднення. За час досліджень у планктоні р. Коднянка було виявлено 118 видів водоростей, представлених 122 внутрішньовидовими таксонами, включно з тими, що містять номенклатурний тип виду, у р. Крошенка – 151 вид (153 в.в.т.) водоростей (табл. 2).

Пропорція флори у р. Коднянка склала: 1:1,86:3,19:3,30, у р. Крошенка – 1:2,11:4,08:4,14.

Таблиця 1.
Гідрохімічний режим річок Коднянка (I) і Крошенка (II)

Річки	Гідрохімічні показники													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
I	5	130	6,4	7,3	3,8	6,4	44	18,2	0,08	46	36,7	0,05	0,003	0,400
II	5	130	6,0	7,2	3,3	6,6	40	21,4	0,03	28	27,3	0,05	0,003	0,004

Table 1.
Hydrochemical regime of the rivers Kodnyanka (I) and Kroshenka (II)

Примітка: в таблиці: 1 – кольоровість (°), 2 – прозорість (см), 3 – рН, 4 – дихроматна окисність (мг О₂/дм³), 5 – лужність (мг-екв), 6 – жорсткість загальна (мг-екв/дм³), 7 – кальцій, 8 – магній, 9 – залізо загальне, 10 – хлориди, 11 – сульфати, 12 – азот аміаку, 13 – азот нітритів, 14 – азот нітратів (мг/дм³). У таблиці наведені середні значення.

Note: table: 1 - color (°), 2 - transparence (cm), 3 - pH, 4 - dyhromat oxydation (mg O₂ / dm³), 5 - alkalinity (mg/eq), 6 - total hardness (mg-eq/dm³), 7 - calcium, 8 - magnesium, 9 - iron general, 10 - chlorides, 11 - sulfates, 12 - ammonia nitrogen, 13 - nitrite nitrogen, 14 - nitrate nitrogen (mg / dm³). The table shows the average values.

Найвищим видовим різноманіттям у водотоках характеризувалися класи Chlorophyceae відповідно – 28% та 27% загального різноманіття водоростей, Bacillariophyceae – 25% та 14%, Euglenophyceae – 16% та 23%, а в р. Крошенка ще й Trebouxiophyceae – 9%. Ядро альгофлори р. Коднянка формували 5 значимих порядків (64%), а в р. Крошенка – 4 (58%). Розподіл водоростей за домінуючими порядками засвідчує наступне: в обох водотоках переважають Sphaeropleales – 21% та 18%, Euglenales – 16% і 23%, Chlorellales – 7% і 9%. Провідними родинами були Euglenaceae (16% та 23%), Scenedesmeceae (11% та 9%), Naviculaceae (8%), Fragilariaceae (7% та 5%), Bacillariaceae (4% і 8%), а в р. Коднянка – ще Hydrodictyaceae (6%), Peridiniaceae та Oocystaceae (по 4%), у р. Крошенка – Selenastraceae (5%), Chlorellaceae

(5%). Провідними родами в обох річках були: *Trachelomonas* Ehrenb. (7,4 і 5,9%), *Nitzschia* Hass. (4,1 і 7,2%), *Phacus* Dujard. (2,5 і 6,5%), *Acutodesmus* (E. Hegew.) P. Tsarenko (3,3 і 2,6%), *Chlamydomonas* Ehrenb. (2,5 і 2,6%), *Euglena* Ehrenb. (2,5 і 7,8%). У р. Коднянка слід відмітити також роди *Navicula* Bory (6,6%), *Desmodesmus* (Chodat) An et. al. (4,1%), *Aulacoseira* Thw. (3,3%), *Cyclotella* Kütz., *Tetraedron* Kütz. – по 2,5%, а в р. Крошенка – *Monoraphidium* Komark. (3,3%), *Oscillatoria* Vaucher ex Gomont, *Lepocinclis* Perty, – по 2,6%. 82–83% родів мали лише 1–2 види.

Обом водотокам характерна досить низька насиченість видів внутрішньовидовими таксонами, що характерно для водойм зі стресовими умовами існування. Виявлена порівняно висока частка еугленових у складі планктонних комплексів малих річок, імовірно,

пов'язана з дією заболочених водозборів річок, а також із впливом антропогенного чинника.

Найбільшу частоту трапляння мали: *Chlamydomonas globosa* J. Snow (відповідно 73 і 54%), *Pseudodidymocystis planctonica* (Korschikov) E. Hegew. et Deason (54 і 32%), а також у р. Коднянка – *Trachelomonas volvocina* Ehrenb. (56%), *Chrysococcus rufescens* C.A.Klebs (85%), *Desmodesmus communis* (E. Hegew) E. Hegew (48%), *Raphidocelis subcapitata* (Korschikov) Nygaard et al. (42%), *Crucigenia tetrapedia* (Kirchn.) West et G. S. West (40%), а у р. Крошенка – *Microcystis pulverea* (Wood) Forti emend Elenkin (47%), *M. aeruginosa* (Kütz.) Kütz. (41%). Ранжування видів водоростей за класами частоти трапляння показало, що у досліджуваних

річках переважали види (70–71%), що зустрічалися «зрідка» (у 1–4% проб) та «нечасто» (19–23%) – (у 5–20% проб). Це свідчить про те, що на сучасному етапі розвитку їх екосистем сукцесія протікає за умов домінування природних чинників.

Порівняння різноманіття фітопланктону малих річок за коефіцієнтом Серенсена (K_S) показує відносно невисокий рівень подібності флор малих річок (0,46), що свідчить про своєрідність кожної з них. Це обумовлено їхніми геоморфологічними, гідрохімічними особливостями, та, ймовірно, відмінним рівнем антропогенного навантаження на річкові екосистеми.

Таблиця 2.
Таксономічний спектр водоростевих угруповань планктону річок Коднянка (I) і Крошенка (II) (за результатами досліджень 2011–2014 рр.)

Table 2.
Taxonomic range of algal assemblages of plankton in the rivers Kodnyanka (I) and Kroshenka (II) (according to research results in 2011–2014)

Відділ	Кількість таксонів													
	Клас		Порядок		Родина		Рід		Вид		В.в.т.		Родовий коефіцієнт	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Суанопрокариота	2	2	3	3	3	5	3	7	4	12	4	12	1,3	1,7
Euglenophyta	1	1	1	1	1	1	5	4	16	33	19	35	3,2	8,3
Chrysophyta	1	1	1	2	1	4	2	5	2	5	2	5	1,0	1,0
Xanthophyta	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1,0
Bacillariophyta	3	3	11	8	0	9	27	19	47	38	47	38	1,7	2,0
Dinophyta	1	1	1	2	17	3	3	4	6	4	6	4	2,0	1,0
Cryptophyta	3	1	7	1	2	1	29	1	43	1	44	1	1,5	1,0
Chlorophyta	0	2	0	6	13	12	0	36	0	56	0	56	0	1,6
Streptophyta	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1,0
ВСЬОГО	11	13	24	25	37	37	69	78	118	151	122	153	1,7	1,9

Примітка. В. в. т. – внутрішньовидові таксони (включно з тими, що містять номенклатурний тип виду). Родовий коефіцієнт – відношення кількості видів до кількості родів.

Note: В. в. т. - intraspecific taxa (including those containing nomenclatural type species). Generic ratio - number of species to number of families ratio.

Графіки (рис. 1), які ілюструють залежність Дж. Вілліса для фітопланктону досліджуваних річок, підтверджують, що крива розподілу знайдених видів серед родів наближується до гіперболи. Це дозволяє стверджувати, що різноманіття альгофлори річок вивчено достатньо глибоко, а дані, отримані в результаті флористичного аналізу, є такими, що репрезентативно характеризують планктонні угруповання водоростей.

Середнє значення чисельності фітопланктону у р. Крошенка сягало $4,54 \pm 0,87$ млн. кл/дм³,

біомаси – $1,93 \pm 0,32$ г/м³, у р. Коднянка – відповідно $1,26 \pm 0,15$ і $0,93 \pm 0,12$.

Структуруючими відділами у формуванні біомаси фітопланктону були зелені (46–49% загальної біомаси проб), діатомові (6–34%), евгленові (15–28%); при цьому у р. Крошенка помітною навесні та влітку була частка синьозелених (12–15%), а у р. Коднянка влітку за біомасою домінували евгленові (12%), восени – діатомові (31%). Провідними у структурі чисельності були зелені (41–57%) та синьозелені (21–51%) водорості..

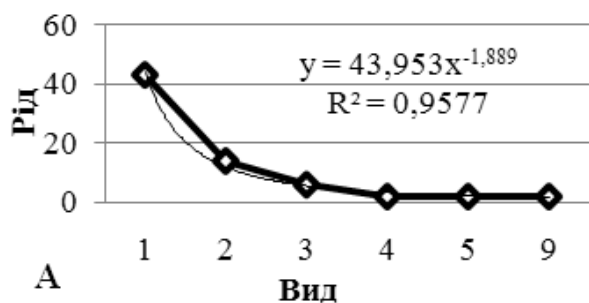


Рис. 1. Залежність Дж. Вілліса для фітопланктону р. Коднянка (А) та р. Крошенка (Б)

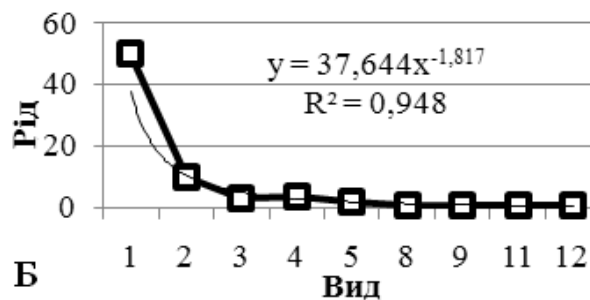


Fig. 1. J. Willis' dependence for phytoplankton of the rivers Kodnyanka (A) and Kroshenka (B)

У цілому за вегетаційний період 2011–2014 рр. у фітопланктоні р. Коднянка було виявлено 62 доміанти за чисельністю та біомасою водоростевих клітин, що складає 50,8% видового багатства річки, у р. Крошенка – 62 таксони рангом нижче роду (40,3%). Високе різноманіття видів-домінантів у р. Коднянка дозволяє вважати екосистему річки досить стійкою до дії антропогенних чинників.

Стан водних екосистем найбільш адекватно можна оцінити за складом угруповань їх організмів (Барінова и др., 2002). У структурі фітопланктону досліджуваних річок провідна роль належала планктонно-бентосним (46–48%) та планктонним формам (31–41%), що відображає специфіку досліджуваних річкових екосистем. Щодо географічної приуроченості, то у фітопланктоні річок домінували види-космополіти (відповідно 79% і 67% видів, різновидів та форм, для яких знайдено літературні відомості). Помітною була частка голоарктичних (15 – 19%) та бореальних (4 – 5%) видів. За відношенням до рН у фітопланктоні річки Коднянка переважали алкаліфіли (49%), у р. Крошенка – індіференти (57%). Частка ацидофілів в обох річках була незначною (по 5%). Такий розподіл видів свідчить про слабколужну реакцію водного середовища. За галобністю більшість видів є олігогалобами-індіферентами (71–72%), частка олігогалобів-галофілів складає 13–14%, мезогалобів 8–11%, олігогалобів-галофобів – більше 3–4%, олігогалобів – 0–2%. Отже, води річок слабо мінералізовані.

Для оцінки ступеня органічного забруднення річок використано систему Пантле-Бук у модифікації Сладечека з урахуванням таких зон самоочищення як ксеносапробна, олігосапробна, α і β -мезосапробна та полісапробна. Індикаторні види водоростей розділилися між 5-ма класами якості вод. Переважна більшість водоростей річок (55–56%) належить до III класу якості –

«вода задовільної якості». Йому відповідають представники β -олігосапробіонтів, β -мезосапробіонтів, оліго- α -сапробіонтів, β - α -сапробіонтів. За системою Ватанабе фіксували провідну роль еврисапробів (54–85%).

Середні значення індексу Шеннона для фітопланктону р. Коднянка та р. Крошенка, розраховані за чисельністю водоростевих клітин (H_N), відповідно становили $2,59 \pm 0,11$ та $1,89 \pm 0,08$ біт/екз, за біомасою (H_B) – $2,25 \pm 0,09$ і $1,87 \pm 0,08$ біт/екз. Це вказує на те, що у р. Коднянка переважала полідомінантна, а в р. Крошенка – олігодомінантна структура фітопланктону. Менша вирівненість фітопланктону р. Крошенка, ймовірно, є наслідком сильнішого антропогенного навантаження на її річкову екосистему.

Досліджуваним річкам властива досить висока продуктивність. Швидкість деструкції в одиниці об'єму води (R) у середньому була відповідно в 3 і 11 раз нижча швидкості утворення органічної речовини. Значне переважання продукційних процесів над деструкційними у р. Крошенка вказує на ймовірність накопичення надлишкової кількості автохтонної органічної речовини та самозабруднення річкової екосистеми (табл. 3).

Значення інтегральної продукції під $m^2 \sum A$, яка характеризує загальну біологічну продуктивність водних екосистем, повторює тенденції часових і просторових змін первинної продукції в одиниці об'єму A_{max} (продукції на горизонті максимального фотосинтезу). Установлено, що показник $A_{max}/\sum A$ (відношення продукції на оптимальній глибині до інтегральної під $1 m^2$ продукції ($\sum A$)), що характеризує оптичні властивості води у досліджуваних водотоках, вказує на те, що у зоні оптимального фотосинтезу у р. Коднянка у середньому синтезувалося 97% сумарної органічної речовини, у р. Крошенка – 230%.

Таблиця 3.

Граничні та середні $X \pm m_x$ показники первинної продукції та деструкції органічної речовини, P/B -, $A_{max}/\Sigma A$ - коефіцієнти р. Коднянка (I) і Крошенка (II) (за даними досліджень 2011–2014 рр.)

Показники	ΣA , O ₂ /м ² ·добу	ΣR , O ₂ /м ² ·добу	$\Sigma A/\Sigma R$, O ₂ /м ² ·добу	A_{max} , O ₂ /м ³ ·добу	R , O ₂ /м ³ ·добу	P/B - коефіцієнти	$A_{max}/\Sigma A$
I	<u>2,01–15,50</u> 7,35±1,59	<u>0,69–2,73</u> 1,57±0,26	<u>1,64–13,77</u> 5,34±1,36	<u>1,30–10,40</u> 6,55±1,14	<u>0,20–1,96</u> 2,08±0,45	<u>0,26–6,71</u> 2,42±0,72	<u>0,65–1,85</u> 0,97±0,12
II	<u>0,11–6,70</u> 3,08±0,61	<u>0,02–1,78</u> 0,47±0,14	<u>2,15–20,93</u> 10,88±2,81	<u>0,22–10,00</u> 3,10±0,88	<u>0,06–1,95</u> 0,60±0,19	<u>0,07–13,34</u> 3,07±0,89	<u>0,59–9,17</u> 3,22±0,70

Table 3.

Marginal and average $X \pm m_x$ rates of primary production and destruction of organic matter, P/B -, $A_{max}/\Sigma A$ - coefficients rivers Kodnyanka (I) and Kroshenka (II) (according to research 2011–2014)

Величини добових P/B -коефіцієнтів суттєво змінювалися впродовж вегетаційного сезону. Функціональна активність водоростей була високою в обох досліджуваних водотоках.

Висновки. Встановлено, що фітопланктон досліджуваних малих річок формує особливу біоту річкових екосистем. Таксономічний склад та екологічні спектри водоростей відтворюють їх індивідуальність та умови існування альгофлори. Про це свідчить і досить низький коефіцієнт видової подібності фітопланктону обох річок. Проте, цим локальним альгофлорам притаманні спільні риси. У річках переважають види, що трапляються «зрідка» та «нечасто», їм властива досить висока продуктивність фітопланктону. Це свідчить про те, що на сучасному етапі розвитку їх екосистем сукцесія протікає за умов домінування природних чинників. Порушення природної сукцесії у р. Крошенка, викликане антропогенним впливом м. Житомира, призводить до зниження інформаційного різноманіття та збалансованості продукційно-деструкційних процесів.

За екологічними показниками ядро фітопланктону річок формували планктонні і планктонно-бентосні види, космополіти за географічним поширенням, індіференти за відношенням до галобності, алкаліфіли (у р. Коднянка) та індіференти (у р. Крошенка) за відношенням до рН. Встановлено провідну роль β -мезосапробіонтів (за Сладечеком) та еврисапробів (за Ватанабе).

Список літератури:

1. Барінова С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В. Биоразнообразие водорослей-индикаторов

окужающей среды. – Тель-Авив: PiliesStudio, 2006. – 498 с.

2. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / За ред. В.Д. Романенка. – К.: ЛОГОС, 2006. – 408 с.
3. Algae of Ukraine: diversity, nomenclature, taxonomy, ecology and geography. Vol. 1. Cyanoprocarvota, Euglenophyta, Chrysophyta, Xanthophyta, Raphidophyta, Phaeophyta, Dinophyta, Cryptophyta, Glaucocystophyta, and Rhodophyta / Eds. P.M. Tsarenko, S.P. Wasser, E. Nevo. – Ruggell: Ganter Verlag, 2006. – 713 p.
4. EU Water Framework Directive 2000/60/EC Definitions of Main Terms. – К., 2006. – 240 s.
5. Sorensen T. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content. – Kongelige Danske videns, Selskab. Biol. Krifter. – 1948. – Vol. 5, N 4. – P. 46–71.

References:

1. Barinova S.S., Medvedeva L.A., Anisimova O.V. Bioraznoobrazie vodoroslej-indikatorov okruzhajushhej sredy. – Tel'-Aviv: PiliesStudio, 2006. – 498 s.
2. Metody hidroekologichnykh doslidzhen poverkhnevnykh vod / Za red. V.D. Romanenka. – К.: LOHOS, 2006. – 408 s.
3. Algae of Ukraine: diversity, nomenclature, taxonomy, ecology and geography. Vol. 1. Cyanoprocarvota, Euglenophyta, Chrysophyta, Xanthophyta, Raphidophyta, Phaeophyta, Dinophyta, Cryptophyta, Glaucocystophyta, and Rhodophyta / Eds. P.M. Tsarenko, S.P. Wasser, E. Nevo. – Ruggell: Ganter Verlag, 2006. – 713 p.
4. EU Water Framework Directive 2000/60/EC Definitions of Main Terms. – К., 2006. – 240 s.
5. Sorensen T. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content. – Kongelige Danske videns, Selskab. Biol. Krifter. – 1948. – Vol. 5, N 4. – P. 46–71.

THE ECOLOGICAL ASSESSMENT OF THE SMALL RIVER ECOSYSTEMS STATE ACCORDING TO BIOLOGICAL DIVERSITY OF PHYTOPLANKTON AND PRODUCTION CHARACTERISTICS OF ALGAE

O. V. Kravtsova, Y. S. Shelyuk

This paper presents the results of inventory of autotrophic components of small rivers of the Central Polesye with different levels of human activity - Kroshenka (Zhytomyr) and Kodnyanka (settlement Pryazhiv Zhytomyr district). Patterns of primary production and decomposition of organic matter in streams have been studied, quality of the aquatic environment of small rivers according to saprobiological characteristics of indicator species of algae has been assessed. The aim of the study was to evaluate the current status of small rivers of the Central Polesye (with varying degrees of anthropogenic load) according to the diversity of phytoplankton. Algological samples were conserved, concentrated and worked on a desk by generally accepted methods in hydrobiology. The paper used taxonomic system of algae proposed in the latest reference book «Algae of Ukraine». Biological indication analysis has been made on the basis of indicator properties of algae. Phytoplankton primary production and organic matter decomposition was measured by oxygen modification of light-and-dark-bottle method. Hydrochemical, floral comparative and statistical methods being used allowed to identify the factors determining the patterns of phytoplankton formation and functioning in the rivers under research. During our research 206 species of algae were found in the river plankton, represented by 209 infraspecific taxa, including those containing nomenclatural species type. According to its species composition, phytoplankton of the rivers under research can be described as Chlorophyta-Bacillariophyta-Euglenophyta. According to biological indication characteristics, benthic and plankton forms of algae, indifferent in relation to pH and salinity degree, indicators of average flow of water and moderate temperature regime, mildly alkaline waters dominated the water column. A leading role of β -mezosaprobionts was found. The river water according to the level of organic contamination pursuant to Pantle-Buck method (modification of Sladechek) belongs to class III of quality (water "satisfactory quality"), and according to the system of Watanabe it is characterized as water with moderate content of organic compounds. The rivers Kodnyanka and Kroshenka are distinguished by high productivity. Positive balance of organic matter predominates, which indicates the autotrophic direction of ecosystems' metabolism. However, significant predominance of production processes above destruction was recorded in r. Kroshenka and this can lead to accumulation of excessive amounts of organic matter. Succession of river ecosystems takes place under condition of natural factors predominating at the present stage of their functioning. Disturbance of the natural succession in the river Kroshenka is caused by anthropogenic impact of Zhytomyr and reduces the informational diversity and balance of production-destruction processes.

Key words: phytoplankton, small rivers Kroshenka, Kodnyanka, biological indication, primary production.

Одержано редколегією 12.05.2015

МОЖЛИВІ МЕХАНІЗМИ ЗАХИСНОЇ ДІЇ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТУ ЗА ВПЛИВУ РІЗНИХ СТРЕСОРИВ НА ПЛОДОВУ МУШКУ *DROSOPHILA MELANOGASTER* CANTON S

М. П. ЛИЛИК, М. М. БАЙЛЯК

Кафедра біохімії та біотехнології,
ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника»,
вул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ 76018, Україна;
e-mail: bayliak@ukr.net

Альфа-кетолутарова кислота – важливий інтермедіат циклу Кребса та метаболізму амінокислот. В останні роки показана роль альфа-кетоглутарової кислоти як потужного природного детоксифікуючого агенту. У даній роботі досліджено здатність натрієвої солі альфа-кетоглутарової кислоти (АКГ) послаблювати токсичний вплив нітропрусиду натрію на розвиток личинок та збільшувати стійкість дорослих особин плодової мушки *Drosophila melanogaster* Canton S до холододового стресу. Нітропрурид натрію (НПН) широко використовується як донор оксиду азоту у медицині, проте може бути токсичним для багатьох організмів за високих концентрацій через індукцію оксидативного/нітрозативного стресу. У даній роботі показано, що додавання АКГ до їжі зменшує інгібуючий вплив НПН на лялькування *D. melanogaster* Canton S. Кількість личинок, які досягали стадії лялечки на дієті з 10 мМ АКГ і 1 мМ НПН, була на 20% вищою, ніж на середовищі з 1 мМ НПН. Встановлено, що захисна дія АКГ не пов'язана зі зменшенням споживання личинками їжі, яка містить НПН, та зі взаємодією з продуктами розпаду НПН – іонами заліза та нітрит-іонами. Продуктами розпаду НПН є також ціанід-іони, які проявляють високу токсичність. Раніше було показано, що АКГ може взаємодіяти з ціанідами, утворюючи ціаногідринний комплекс, який легко піддається подальшому метаболізму. Очевидно, саме цей механізм має місце у нашому випадку і частково запобігає токсичним ефектам НПН на плодіву мушку. Дводенні особини *D. melanogaster* Canton S, вирощені на середовищі з 10 мМ АКГ, порівняно з контрольними особинами, характеризувалися вищою стійкістю до короткотривалого холододового стресу (15 хв при 0°C), що виражалось у зменшенні часу відновлення з холододової коми. Мухи, які утримувались на середовищі з АКГ, мали вищу активність каталази та вищий рівень високомолекулярних і низькомолекулярних тіольних сполук, порівняно з контрольними особинами. Вміст проліну у самок, вирощених на середовищі з АКГ, був вищим в 1,4 рази, порівняно з контрольними самками. Отримані результати свідчать про те, що вирощування на 10 мМ АКГ збільшує стійкість дорослих дводенних особин *D. melanogaster* до холододового стресу через активацію антиоксидантного захисту та збільшення вмісту кріопротекторної амінокислоти проліну.

Ключові слова: альфа-кетоглутарат, *Drosophila melanogaster*, лялькування, нітропрурид натрію, холододовий стрес, антиоксидантний захист, пролін.

Вступ. Альфа-кетоглутарат (АКГ) – важливий інтермедіат циклу Кребса, який бере участь в забезпеченні клітин енергією, а також у метаболізмі амінокислот та білків. Експериментально доведено, що додавання солей альфа-кетоглутарової кислоти до харчового раціону тварин може стимулювати обмінні процеси та відновлення організму при різноманітних травмах (Harrison and Pierzynowski, 2008). Повідомляється також, що АКГ послаблює токсичні ефекти різних ксенобіотиків (Bhattacharya et al., 2009; Mitchell et al., 2013) та може брати участь у підтриманні редокс-гомеостазу (Niemiec et al., 2011).

У попередніх наших дослідженнях було показано, що додавання до середовища культивування натрієвої солі АКГ за концентрацій 0,01-10,0 мМ послаблює частково токсичну дію етанолу, але не нітропрусиду

натрію (НПН), на лялькування плодової мушки *Drosophila melanogaster* лінії W¹¹¹⁸ (Lylyk et al., 2014). При цьому вирощування на АКГ збільшувало стійкість цих мушок до холододового стресу. Мухи лінії W¹¹¹⁸ – це мутанти за геном white, отримані з дикої лінії мух Canton S. Показано, що ця мутація може впливати на низку фізіологічних і метаболічних процесів, зокрема збільшувати чутливість мух до стресу (Lozinsky et al., 2012). Тому у даній роботі ми зосередили свою увагу на вивченні впливу екзогенного АКГ на стійкість лінії *D. melanogaster* Canton S до низки стресових чинників та з'ясуванні можливих біохімічних механізмів дії даної кетокислоти.

Матеріали і методи. У дослідженнях використовували лабораторну дикую лінію Canton S плодової мушки *D. melanogaster*, надану Блумінгстонським стоковим центром (США).

Експериментальні культури плодової мушки вирощували на дріжджово-сахарозному середовищі наступного складу (на 100 мл): 5 г сухих пекарських дріжджів, 5 г сахарози, 1 г агару та 1 мл 18%-го ніпагіну (для інгібування росту цвілевих грибів) (Lozinsky et al., 2012). Залежно від умов експерименту в середовище додатково вносили (подані кінцеві концентрації): 1) 10 мМ розчин натрієвої солі АКГ; 2) 1 мМ нітроприсид натрію (НПН); 3) 1 мМ НПН та 10 мМ АКГ. Тепле середовище розливали у банки і після застигання середовища у кожному банку вносили по 100 яєць. Культивування проводили при 25°C, постійній вологості та світловому режимі день:ніч – 16:8. Починаючи з четвертого дня, щодня підраховували кількість утворених лялечок у кожній банці. По досягненню дорослими мухами дводенного віку їх використовували для фізіологічних тестів чи біохімічного аналізу.

Кількість спожитої їжі личинками третьої стадії розвитку визначали з використанням харчового барвника діамантового синього E133 (FD & C Blue N 1) за методом, описаним в (Lushchak et al., 2011).

Визначення продуктів розпаду НПН (оксиду азоту, •NO, та іонів заліза, Fe²⁺) проводили у 5% розчині сахарози. Вміст іонів заліза визначали за взаємодією із 1,10-фенантроліном (Lee et al., 1948). Вивільнення оксиду азоту з НПН оцінювали непрямим методом: за взаємодією його стабільної форми – нітриту з реактивом Гріса (Privat et al., 1997).

Для визначення стійкості до холодового стресу дорослих мушок, вирощених на середовищі з і без АКГ, розділяли за статями шляхом анестезування CO₂. По 10 особин кожної статі вносили у біологічні пробірки, закриті ватним корком та піддавали дії холодового стресу шляхом утримування при 0°C протягом 15 хв. По завершенні інкубації вимірювали час виходу мух із холодової коми за вставанням мушок на лапки (David et al., 1998).

Визначення біохімічних показників проводили у супернатантах, отриманих шляхом гомогенізації мух у співвідношенні 1:10 в 50 мМ калій-фосфатному буфері (рН 7,0), який містив 0,5 мМ ЕДТА та 1 мМ фенілметилсульфонілфториду. Активність каталази визначали за швидкістю розкладання пероксиду водню (Aebi., 1984). Визначення проліну проводили за нінгідриновим методом Бергмана і Локслея (Bergman and Loxley, 1970). Вміст SH-груп у білках та низькомолекулярних сполуках визначали методом Елмана (Ellman, 1959). Для визначення SH-груп у низькомолекулярних сполуках, білки попередньо

осаджували 10% трихлороцтовою кислотою. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорда (Bradford, 1976) з використанням бичачого альбуміну як стандарту.

Дані представлені як середнє арифметичне з 4-6 незалежних повторів ± похибка стандартного відхилення. Вірогідність різниці між середніми арифметичними оцінювали за критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення.

Вплив АКГ на швидкість лялькування D. melanogaster Canton S на середовищі з НПН. Раніше було показано, що додавання до середовища високих концентрацій НПН, який широко використовується в дослідженнях як донор оксиду азоту, призводить до затримки розвитку плодової мушки (Lozinsky et al., 2012). Беручи до уваги здатність АКГ проявляти детоксифікуючу дію за впливу різних ксенобіотиків (Bhattacharya et al., 2009; Mitchell et al., 2013), нами було досліджено здатність АКГ послаблювати токсичну дію НПН на плодову мушку. Як бачимо з рис. 1А, при вирощуванні на середовищі з 1 мМ НПН швидкість заляльковування личинок суттєво сповільнювалася і загальний вихід лялечок зменшувався приблизно на 50%, що добре узгоджується з даними інших авторів (Lozinsky et al., 2012). При сумісному додаванні до середовища 1 мМ НПН і 10 мМ АКГ спостерігалось збільшення загальної кількості утворених лялечок до 70%.

Токсичну дію НПН пов'язують насамперед з розвитком оксидативного/нітрозитивного стресу (Babich et al., 1998) та блокуванням ЕТЛ мітохондрій. За блокування ЕТЛ, в першу чергу, відповідає ціанід-іон, який вивільняється при розпаді НПН і зв'язується з цитохромоксидазою (Mitchell et al., 2013). Розвиток оксидативного і нітрозитивного стресів зумовлений вивільненням оксиду азоту та іонів вільного заліза (II) (Babich et al., 1998; Lozinsky et al., 2012). Щоб з'ясувати можливі механізми протекторної дії АКГ, ми визначили інтенсивність споживання їжі личинками, а також вміст продуктів розпаду НПН у середовищі з додаванням і без додавання АКГ. Личинки споживали у 1,6 рази менше їжі на середовищі з НПН (рис. 1В). Додавання 10 мМ АКГ до середовища, яке містило 1 мМ НПН, не впливало на інтенсивність споживання їжі личинками. АКГ не впливав також на швидкість розкладання НПН і відповідно на рівень продуктів його розпаду – іонів заліза та нітрит-іонів (табл. 1). Таким чином, АКГ не проявляє здатності хелатувати залізо і взаємодіяти з оксидом азоту (нітрит-іонами). Іншим продуктом розпаду НПН є ціанід-іон.

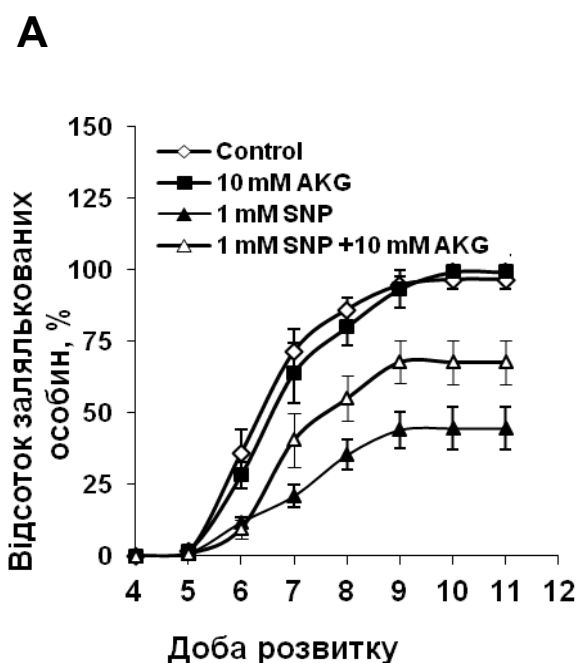


Рис. 1. Швидкість заляльковування (A) та інтенсивність споживання їжі личинками (B) *D. melanogaster Canton S* на дріжджово-сахарозному середовищі, яке містило 1 мМ НПН, 10 мМ АКГ, або їх суміш, n=4-6.

*Значення достовірно відрізняється від відповідного значення без НПН з $P < 0,05$.

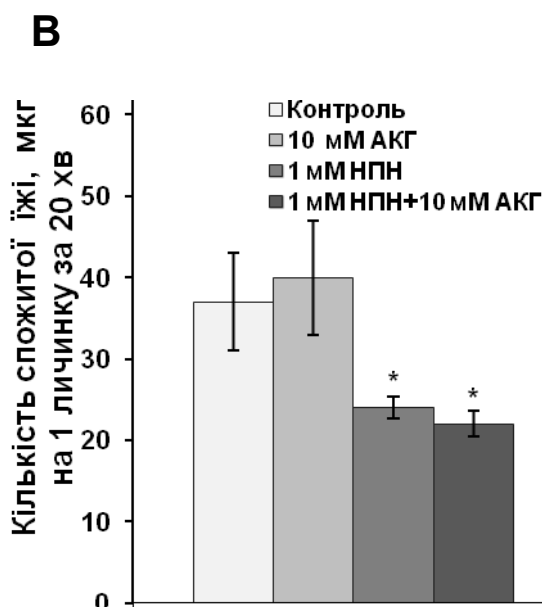


Fig. 1. Pupation rate (A) and food consumption (B) by *D. melanogaster Canton S* larvae on yeast-sucrose diets supplemented with 10 mM AKG, 1 mM SNP, or their mixture, n = 4-6.

*Significantly different from respective values without SNP with $P < 0.05$.

Раніше було показано, що АКГ може взаємодіяти з ціанідами, утворюючи ціаногідриновий комплекс, який легко піддається подальшому метаболізму (Bhattacharya et al., 2009; Mitchell et al., 2013). Очевидно, саме цей механізм має місце у нашому випадку і частково запобігає розвитку токсичних ефектів НПН.

Стійкість дводенних особин плодової мушки, виходячи на середовищі з АКГ, до дії холодового стресу. Наступним етапом нашої роботи стало дослідження стійкості до дії холодового стресу дорослих особин плодової мушки, виходячи на середовищі з АКГ. При зниженні температури безхребетні впадають в холодову кому. Час виходу з холодової коми є мірою чутливості до холодового стресу: чим швидше особини отямлюються від холодової

коми, тим вони стійкіші до холодового стресу (David et al., 1998). З рис. 2. видно, що мухи, виходячи на середовищі з 10 мМ АКГ, виходили з холодової коми набагато швидше, ніж контрольні особини. Таким чином, вирощування на АКГ збільшує адаптаційний потенціал та стійкість плодової мушки до нетривалого холодового стресу. Відомо, що перехід з температур замерзання до вищих температур у холоднокровних тварин супроводжується розвитком оксидативного стресу (Lushchak, 2011). Тому ми припустили, що вища резистентність мух, які споживали середовище з АКГ, до холодового стресу може бути зумовлена, принаймні частково, більш потужною системою антиоксидантного захисту.

Таблиця 1.

Концентрація загального заліза і нітрит-іонів у розчині 1 мМ НПН у 5% сахарозі при додаванні 10 мМ АКГ після 2-годинного інкубування при 25 °C (n=4)

Table 1.

Concentrations of total iron and nitrite ions in 1 mM SNP solution in 5% sucrose after incubation at 25°C for 2 h in the presence or absence of 10 mM AKG (n = 4)

Параметр	Середовище	
	1 мМ НПН	1 мМ НПН+10 мМ АКГ
Загальне Fe, мкг/мл	0,202±0,016	0,191±0,010
NO ₂ ⁻ , мкг/мл	5,87±0,29	5,41±0,32

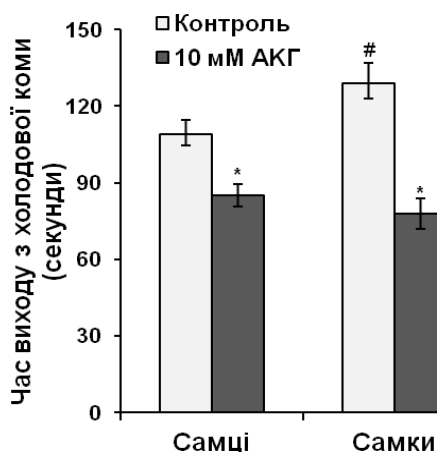


Рис. 2. Час виходу з холодової коми дводенних мух *Canton S*, вихованих на середовищі з 10 мМ АКГ та підданих дії холодового стресу при 0°C протягом 15 хв, n=5.

*Значення достовірно відрізняється від відповідного значення в контролі (без АКГ) та # від відповідного значення у самців з $P < 0,05$.

Fig. 2. Recovery time from chill coma of two-day-old *Canton S* flies grown on yeast-sucrose medium supplemented with 10 mM AKG. Flies were exposed to cold stress at 0°C for 15 min, n=5.

*Significantly different from respective control values (without AKG) and #from respective values of males with $P < 0.05$.

Для перевірки цього припущення, визначили активність каталази, одного з основних антиоксидантних ферментів, та рівень високомолекулярних та низькомолекулярних тіол-вмісних сполук, які відіграють важливу роль у підтриманні редокс-гомеостазу в організмі (Lushchak, 2011). Як видно з табл. 2, дані показники були вищими у особин, які споживали середовище з АКГ. Таким чином, вирощування на АКГ активує антиоксидантний захист плодової мушки *Canton S*. Очевидно, що спожитий АКГ включається в цикл Кребса, зумовлюючи його

Таблиця 2.

Активність каталази, вміст тіолів та проліну у тілі дводенних мух *D. melanogaster Canton S*, вирощених на середовищі з чи без АКГ.

Параметр	Самки	
	Контроль	10 мМ АКГ
Каталаза, Од/мг білка	232±14#	257±6*#
Білкові тіоли, нмоль/ мг білка	8,1±12,6	116±13*
Низькомолекулярні тіоли, нмоль/ мг білка	26,4±2,3	37,9±5,1*
Пролін, нмоль/ мг сирової маси	0,28±0,09	0,87±0,17*

*Значення достовірно відрізняється від відповідного значення в контролі (без АКГ) та # від відповідного значення у самців з $P < 0,05$, n=6.

*Significantly different from respective control values (without AKG) and #from respective values of males with $P < 0.05$, n=6.

інтенсифікацію та продукцію відновних коферментів. Це посилює, у свою чергу, діяльність ЕТЛ мітохондрій, що супроводжується збільшенням продукції АФК і, як наслідок, активацією антиоксидантного захисту. На підтвердження цього раніше було показано, що АКГ може стимулювати біосинтез глутатіону у культурі клітин (Whillier et al., 2011).

У захисті від холодового стресу у плодової мушки важливу роль відіграє пролін, рівень якого зростає при холодовій адаптації мух (Misener et al., 2001). Припускається, що пролін діє як антифриз, запобігаючи замерзанню гемолімфи. Оскільки АКГ є попередником проліну, ми визначили вміст цього метаболіту у тілі плодової мушки. Вміст проліну у самок, вирощених на середовищі з АКГ, був в 1,4 рази вищим, ніж у контрольних самок (табл. 2). Можна припустити, що екзогенний АКГ у плодової мушки також використовується для синтезу проліну, який бере участь у забезпеченні резистентності до холодового стресу.

Висновки

1. Встановлено, що при сумісному споживанні плодовою мушкою 10 мМ АКГ та 1 мМ НПН послаблюється токсична дія НПН, що відображається у збільшенні загальної кількості утворених лялечок *D. melanogaster Canton S*.
2. Дводенні самці та самки *Canton S*, вирощені на середовищі з 10 мМ АКГ, характеризуються вищою стійкістю до короткотривалого холодового стресу, що виражається у зменшенні часу виходу мух з холодової коми.
3. Підвищення стійкості до холодового стресу у дорослих мух, вирощених на АКГ, може пояснюватись активацією антиоксидантного захисту та зростанням синтезу проліну.

Table 2.

Catalase activity, levels of thiols and proline in the body of two-day-old *D. melanogaster Canton S* flies reared on the medium with or without AKG.

Список літератури:

1. Aebi H. Catalase *in vitro* // Meth. Enzymol. – 1984. – Vol. 105. – P. 121-126.
2. Babich H., Zuckerbraun H. L., Ricklis A. S., Blau L. *In vitro* toxicity of sodium nitroprusside to human endothelial ECV304 cells // Environ. Toxicol. Pharmacol. – 1998. – Vol. 5, No. 2. – P. 135-144.
3. Bergman I., Loxley R. New spectrophotometric method for the determination of proline in tissue hydrolyzates // Anal. Chem. – 1970. – Vol. 42, No. 7. – P. 702-706.
4. Bhattacharya R., Satpute R., Hariharakrishnan J. et al. Acute toxicity of some synthetic cyanogens in rats and their response to oral treatment with alpha-ketoglutarate // Food Chem. Toxicol. – 2009. – Vol. 47. – P. 2314-2320.
5. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72, No. 1-2. – P. 248-254.
6. David R. J., Gibert P., Pla E. et al. Cold stress tolerance in *Drosophila*: analysis of chill coma recovery in *D. melanogaster* // J. Therm. Biol. – 1998. – Vol. 23, No. 5. – P. 291-299.
7. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – Vol. 82. – P. 70-77.
8. Harrison A. P., Pierzynowski S. G. Biological effects of 2-oxoglutarate with particular emphasis on the regulation of protein, mineral and lipid absorption/metabolism, muscle performance, kidney function, bone formation and cancerogenesis, all viewed from a healthy ageing perspective state of the art-review article // J. Physiol. Pharmacol. – 2008. – Vol. 59 (Suppl. 1). – P. 91-106.
9. Lee T. S., Kolthoff I. M., Leussing D. L. Reaction of ferrous and ferric iron with 1,10-phenanthroline. I. dissociation constants of ferrous and ferric phenanthroline // J. Am. Chem. Soc. – 1948. – Vol. 70, No. 7. – P. 2348-2352.
10. Lozinsky O., Lushchak O., Storey J., Storey K., Lushchak V. Sodium nitroprusside toxicity in *Drosophila melanogaster*: delayed pupation, reduced adult emergence, and induced oxidative stress // Archives of insects biochemistry and physiology. – 2012. – Vol. 80. – P.166-185. doi: 10.1002/arch.21033
11. Lylyk M., Shmihel H., Kozachok O., Bayliak M. Alpha-ketoglutarate modifies toxic action of sodium nitroprusside and ethanol on *Drosophila melanogaster* // Ukr. Biochem. J., Supplement 2 “Materials of XI Ukrainian Biochemical congress (Kyiv, October 6-10, 2014)”. – Vol. 86, No. 5. – P. 249-250.
12. Lushchak V. I. Adaptive response to oxidative stress: bacteria, fungi, plants and animals // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. – 2011. – Vol. 153. – P.175-190. doi: 10.1016/j.cbpc.2010.10.004
13. Lushchak, O. V., Rovenko, B. M., Gospodaryov, D. V., Lushchak, V. I. *Drosophila melanogaster* larvae fed by glucose and fructose demonstrate difference in oxidative stress markers and antioxidant enzymes of adult flies // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. – 2011. – Vol. 160, No. 1. – P. 27-34. doi: 10.1016/j.cbpa.2011.04.019
14. Misener S. R., Chen C., Walker V. K. Cold tolerance and proline metabolic gene expression in *Drosophila melanogaster* // J. Insect. Physiol. – 2001. – Vol. 47, No. 4-5. – P. 393-400.
15. Mitchell B., Bhandari R., Beberta V. et al. Toxicokinetic profiles of α -ketoglutarate cyanohydrin, a cyanide detoxification product, following exposure to potassium cyanide // Toxicol. Lett. – 2013. – Vol. 222, No. 1. – P. 83-89. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.07.008
16. Niemiec T., Sikorska J., Harrison A. et al. Alpha-ketoglutarate stabilizes redox homeostasis and improves arterial elasticity in aged mice // Physiol. Pharmacol. – 2011. – Vol. 62. – P. 37-43.
17. Privat C., Lantoine F., Bedioui F. et al. Nitric oxide production by endothelial cells: comparison of three methods of quantification // Life Sci. – 1997. – Vol. 61, No. 12. – P. 1195-1202.
18. Whillier S., Garcia B., Chapman B. Glutamine and α -ketoglutarate as glutamate sources for glutathione synthesis in human erythrocytes // FEBS J. – 2011. – Vol. 278. – P. 3152-3163. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08241.x

POSSIBLE PROTECTIVE MECHANISMS OF ALPHA-KETOGLUTARATE ON FRUIT FLY *DROSOPHILA MELANOGASTER* CANTON S UNDER EXPOSURE TO DIFFERENT STRESSORS

M. P. Lylyk, M. M. Bayliak

Alpha-ketoglutaric acid is an important intermediate in Krebs cycle and in metabolism of amino acids. In recent years, the role of alpha-ketoglutaric acid as a powerful natural detoxifying agent was demonstrated. This work aimed to study the ability of the sodium salt of alpha-ketoglutaric acid (AKG) to alleviate the toxic effects of sodium nitroprusside on the larvae development and to increase the resistance of D. melanogaster Canton S flies to cold stress. Sodium nitroprusside (SNP) is widely used as a donor of nitric oxide in medicine but may be toxic for many organisms at high concentrations due to the induction of oxidative/nitrosative stress. This study shows, that food supplementation with AKG alleviates the inhibitory effect of SNP on D. melanogaster Canton S pupation. The number of larvae reached the pupa stage on diet with 10 mM AKG and 1 mM SNP was 20% higher than on diet with 1 mM SNP. The reduced food intake of larvae grown on medium with SNP was not changed by AKG supplementation, and AKG also did not affect the levels of total iron and nitrite ions released from SNP. SNP decomposition is also accompanied by the release of highly toxic cyanide moieties, and the ability of AKG to interact with cyanide ions was reported earlier. It seems that the cyanide-binding capability may be important in prevention of the toxic effects of SNP on D. melanogaster. Two-day-old adult Canton S flies reared on 10 mM AKG were more resistant to cold stress treatment and faster recovered from chill coma (0°C for 15 min) than control ones. Flies reared on AKG had the higher catalase activity and the higher levels of high- and low-molecular mass thiols comparing with the controls. Proline level was 1.4-fold higher in AKG-reared females in comparison with control females. The obtained results suggest, that dietary AKG provides cold stress resistance of two-day-old D. melanogaster flies due to the enhancement of antioxidant system capacity and synthesis of cryoprotective amino acids, such as proline.

Key words: alpha-ketoglutarate, Drosophila melanogaster, pupation, sodium nitroprusside, cold stress, antioxidant defense, proline.

Одержано редакцією 12.05.2015

РОЗВИТОК ЗОВНІШНІХ НІЗДРІВ ТА ХОАН У *LACERTA AGILIS* (REPTILIA, SQUAMATA)

Я. В. СТЕПАНЮК¹, О. М. ЯРИГІН², О. В. ТИТЮК¹

¹ Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки,

² Інститут зоології імені І. І. Шмальгаузена НАН України

43021, м. Луцьк, вул. Потапова, 9

e-mail: slavauniver@gmail.com

У зв'язку з переходом до справжнього наземного способу існування у нюховому органі сучасних рептилій вперше відбулася чітка диференціація на респіраторну та нюхову частини, з'явилися раковина та носоглотковий канал. Метою роботи є показати особливості морфогенезу зовнішніх ніздрів та хоан у послідовних стадіях розвитку ящірки прудкої. Стадії онтогенезу визначали за таблицями нормального розвитку для *Lacerta vivipara*. Усього досліджено 12 ембріонів з 28 по 37 стадію розвитку *Lacerta agilis* (Linnaeus, 1758). Дегідратацію, заливку в парафін, різку матеріалу у фронтальній та поперечній площині товщиною проводили відповідно до стандартних гістологічних методик. Препарати фарбували гематоксилін-еозином та за методом Східмена. Фотографії гістологічних зрізів були отримані за допомогою мікроскопа Zeiss Axio Imager M1. На 28 стадії в результаті дорсальної інвагінації нюхових плакод формуються нюхові ямки. На 29 стадії нюхові ямки перетворюються на нюхові мішки, які відкриваються в стомодеум. 32 стадія характеризується тим, що формуються два окремих отвори – ростральний (зачаток зовнішніх ніздрів) та каудальний – (зачаток внутрішніх ніздрів, або хоан). Нюхові мішки трансформуються в носову порожнину. На 33 стадії зовнішні ніздрі зменшуються і мають щілиноподібну форму та зміщуються рострально від хоан. На 34 стадії зовнішні ніздрі відкриваються на латеральній поверхні голови. Ростральна частина нюхового органа формує присінок (вестибулюм). На стадії 35-37 зовнішні ніздрі зміщуються ще більш латерально, збільшуються в розмірах і на 37 стадії набувають дефінітивної топографії. Хоани витягуються і набувають щілиноподібної форми. Наші дослідження показали, що орган нюху проходить ряд послідовних стадій розвитку – нюхових плакод, нюхових ямок, нюхових мішків та носової порожнини. На 32 стадії розвитку внаслідок формування виросту отвір нюхового мішка розділяється на два – зовнішні ніздрі і хоани, які знаходяться поруч один біля одного. На такі морфологічні перебудови вказують і дослідження О. Шлабі. Відмінності у розвитку структур рептилій, можливо, пов'язані з морфологічними перебудовами в нюховому органі, які пов'язані з відокремленням вомероназального органа та формуванням власного каналу що відкривається в ротову порожнину. Отже, утворення зовнішніх ніздрів та хоан у *L. agilis* відбувається шляхом формування в отворі нюхових мішків перегородки. Такі морфологічні зміни призводять до утворення функціонально зрілої носової порожнини. Після утворення зовнішні ніздрі зміщуються рострально і сильно звужуються, а хоани, навпаки, збільшуються та набувають щілиноподібного вигляду.

Ключові слова: рептилії, нюховий орган, зовнішні ніздрі, хоани.

Вступ. У зв'язку з переходом до справжнього наземного способу існування нюховий орган сучасних рептилій зазнав суттєвих морфологічних змін. В ньому вперше відбулася чітка диференціація на респіраторну та нюхову частини, з'явилися раковина та носоглотковий канал. Вомероназальний орган (орган Якобсона), на відміну від амфібій, повністю відокремлений від носової порожнини, також суттєвих змін зазнав носослизний канал (Bellairs A., Boyd D. 1950; Kratzing E., 1975; Saito S. et al., 2010; Stebbins R.C., 1948). Незважаючи на той факт, що морфологія нюхового органу рептилій досить добре вивчена (Bellairs A., Boyd D. 1950; Kratzing 1975; E.; Saito S. et al., 2010; Stebbins R.C., 1948), окремі аспекти його морфогенезу ще й досі потребують вивчення, або уточнення (Holtzman

D. A., Halpern M., 1990; Slabý O., 1979). Перш за все це пов'язано з тим, що опис ембріогенезу проводився на обмеженій кількості ембріонів. Такий підхід не дозволяє відтворити цілісну картину розвитку структур нюхового аналізатора.

Очевидно, що саме через відсутність послідовних стадій розвитку в літературі не описано механізм утворення зовнішніх ніздрів та хоан. У своїй роботі ми збираємось показати особливості морфогенезу зовнішніх ніздрів та хоан у послідовних стадіях розвитку ящірки прудкої.

Матеріали та методи. В природних місцях існування були відловлені запліднені самки прудкої ящірки. Самок утримували в тераріумах при природному світловому дні та температурі,

де вони відклали яйця. Після відкладення яєць їх перенесли на зволожений перліт в окремий тераріум з температурою 21-23 °С. Яйця відбирали з інтервалом в одну добу, а перші 20 діб через кожні 12 годин.

Стадії онтогенезу визначали за таблицями нормального розвитку для *Lacerta vivipara* (Dufaure J. P., 1941). Усього досліджено 12 ембріонів з 28 по 37 стадію розвитку *Lacerta agilis* (Linnaeus, 1758). Ембріонів фіксували у 4% розчині нейтрального формальдегіду. Дегідратацію, заливку в парафін, різку матеріалу у фронтальній та поперечній площині товщиною 5-7 мкм, та 10-12 мкм на санному мікротомі (МС-2) проводили відповідно до стандартних гістологічних методик (Роскин Г. И., 1957). Препарати фарбували гематоксилін-еозин (Роскин Г. И., 1957) та альціановим синім (8GX) з дофарбовуванням в гематоксилін-еозині (Steedman H. F., 1950). Фотографії гістологічних зрізів були отримані за допомогою мікроскопа Zeiss Axio Imager M1 та програмного забезпечення Zeiss Axio Vision v.4.63 в центрі колективного користування унікальним обладнанням при Інституті зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України.

Результати та їх обговорення. Розвиток периферичного відділу нюхового аналізатора починається з закладки в ростральній частині голови потовщень ектодерми – нюхових плакод.

Стадія 28

В результаті інвагінації нюхових плакод відбувається формування нюхових ямок (рис. 1).



Рис. 1. Ембріон 28 стадії ембріонального розвитку *L. agilis*. Стрілкою позначено нюхову ямку.

Fig. 1. Embryo at the 28th stage of embryonic development *L. agilis*. Olfactory fossa is marked with arrow.

Стадія 29

Інвагінація нюхових ямок посилюється, в результаті чого нюхові ямки перетворюються на нюхові мішки, які формують власний отвір, що відкриваються в стомодеум.

Стадії 30-31

Нюхові мішки збільшуються в розмірах за рахунок формування латерального виросту голови (рис. 2). Отвір нюхових мішків збільшується внаслідок його ростроаборального витягування.

Стадія 32

В середній частині отвору нюхових мішків латеральний край утворює виріст який вростає в його медіальний край. В результаті формуються два окремих отвори – ростральний (зачаток зовнішніх ніздрів) та каудальний – (зачаток внутрішніх ніздрів, або хоан) (рис. 2). Обидва отвори відкриваються в стомодеум. Вважаємо, що після таких перетворень нюхові мішки трансформуються в носову порожнину.

Стадія 33

Зовнішні ніздрі зменшуються і мають щілиноподібну форму та зміщуються рострально від хоан, в результаті чого носова порожнина витягується.

Стадія 34

Зовнішні ніздрі продовжують зміщуватись ростролатерально і вузькою щілиною відкриваються на латеральній поверхні голови (рис. 2). Ростральна частина нюхового органа, яка переходить в зовнішні ніздрі позбавлена власної порожнини, видовжується і формує присінок (вестибулюм).

Стадія 35-37

Зовнішні ніздрі зміщуються ще більш латерально, збільшуються в розмірах і на 37 стадії набувають дефінітивної топографії. Ростральна частина вестибулюма залишається позбавленою власної порожнини. Хоани витягуються ростроаборально і набувають щілиноподібної форми (рис. 2).

Наші дослідження показали, що орган нюху проходить ряд послідовних стадій розвитку – нюхових плакод, нюхових ямок, нюхових мішків та носової порожнини. На стадії нюхових ямок та нюхових мішків існує єдиний отвір який з'єднання ці структур з стомодеумом. На 32 стадії розвитку внаслідок формування виросту отвір нюхового мішка розділяється на два – зовнішні ніздрі і хоани, які знаходяться поруч один біля одного. При подальшому розвитку зовнішні ніздрі зміщуються ростролатерально від хоан і носова порожнина витягується. Цікаво, що під час таких змін зовнішні ніздрі звужуються і майже закриваються, а хоани навпаки збільшуються в розмірах і набувають щілиноподібної форми.

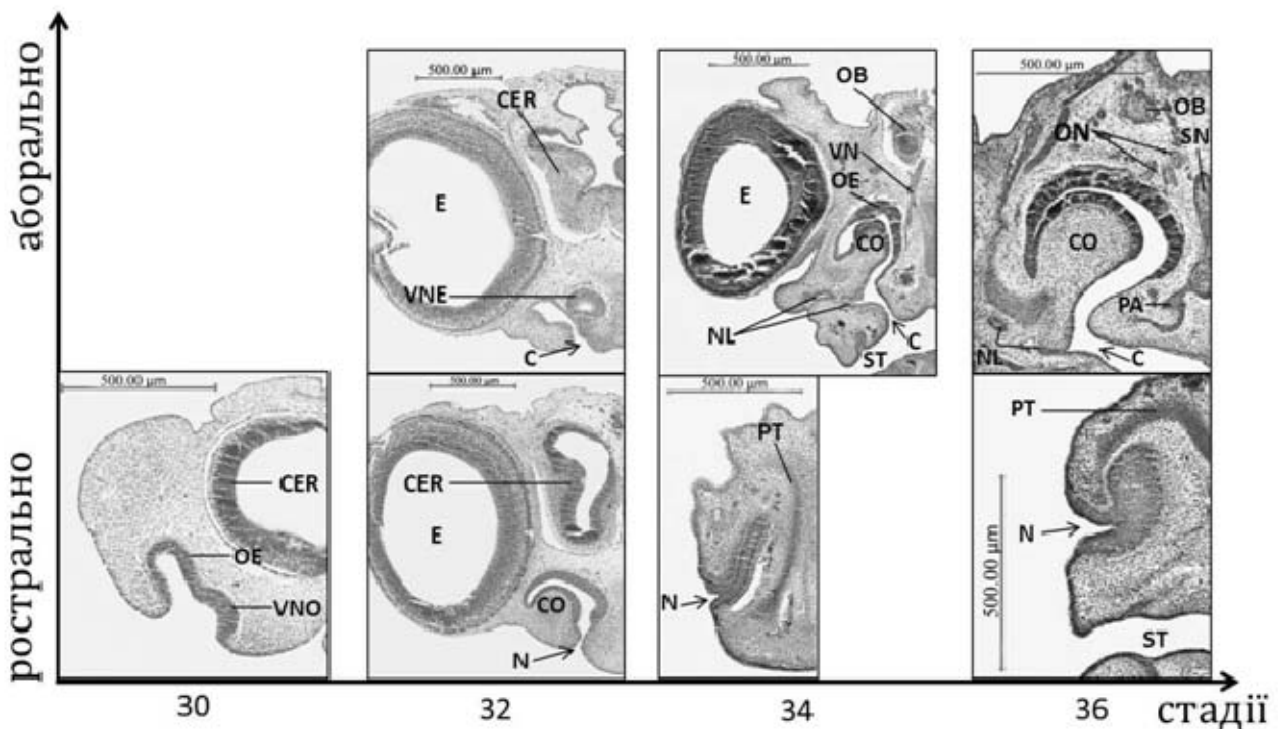


Рис. 2. Етапи розвитку зовнішніх ніздрів та хоан *L. agilis*:

VNO – вомероназальний орган; *OE* – нюховий епітелій; *CER* – головний мозок; *VNE* – вомероназальний епітелій; *E* – око; *CO* – раковина; *N* – зовнішня ніздря; *ST* – стомодеум; *NL* – носослізна протока; *VN* – вомероназальний нерв; *OB* – нюхова цибулина; *PT* – парієтотектальний хрящ; *PA* – планум анторбітале; *SN* – носова перегородка.

На такі морфологічні перебудови вказують і дослідження О. Шлабі (Slabý O., 1979), проте він внаслідок відсутності послідовних стадій розвитку не описав механізму утворення зовнішніх ніздрів та хоан.

Такий спосіб утворення зовнішніх ніздрів та хоан має суттєві відмінності у порівнянні з земноводними, у яких «первинний отвір» нюхового мішка відповідає зовнішнім ніздрям, а хоани з'являються значно пізніше внаслідок прориву вентроаборальної стінки нюхових мішків в стомодеум. Такі відмінності у рептилій, можливо, пов'язані з морфологічними перебудовами нюховому органі, які пов'язані з відокремленням вомероназального органа та формуванням власного каналу що відкривається в ротову порожнину.

Висновки. Утворення зовнішніх ніздрів та хоан у *L. agilis* відбувається шляхом формування в отворі нюхових мішків перегородки. Такі морфологічні зміни призводять до утворення функціонально зрілої носової порожнини. Після утворення зовнішні ніздрі зміщуються ростролатерально і сильно звужуються, а хоани,

Fig. 2. Milestones external nostrils and choanae *L. agilis*:

VNO – vomeronasal organ; *OE* – olfactory epithelia; *CER* – cerebrum; *VNE* – vomeronasal epithelia; *E* – eye; *CO* – concha; *N* – external nostril; *ST* – stomodeum; *NL* – nasolacrimal duct; *VN* – vomeronasal nerve; *OB* – olfactory bulb; *PT* – parietotectal cartilage; *PA* – planum antorbitale; *SN* – nasal septum.

навпаки, збільшуються та набувають щілиноподібного вигляду.

Список літератури:

1. Роскин Г. И. Микроскопическая техника – М. : Советская наука, 1957. – 469 с.
2. Bellairs A., Boyd D. The lachrymal apparatus in lizards and snakes. II. The anterior part of the lachrymal duct and its relationship with the palate and with the nasal and vomeronasal organs // Journal of Zoology. – 1950. – Vol. 120, – №2. – P. 269-310.
3. Dufaure J. P. Table de développement du lézard vivipare, *Lacerta (Zootoca) vivipara* Jacquin // Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp. – Vol. 50. – 1961. – P. 309-328.
4. Holtzman D. A. Embryonic and neonatal development of the vomeronasal and olfactory systems in garter snakes (*Thamnophis spp.*) // Journal of morphology. – Vol. 203. – 1990. – P. 123-140.
5. Kratzing J. E. The fine structure of the olfactory and vomeronasal organs of a lizard (*Tiliqua scincoides scincoides*) // Cell and tissue research. – Vol. 156. – 1975. – № 2. – P. 239-252.
6. Saito S., Oikawa T., Taniguchi K., Taniguchi K. Fine structure of the vomeronasal organ in the grass lizard, *Takydromus tachydromoides* // Tissue Cell. – 2010. – Vol. 42. – №5. – P. 322-327.

7. Slabý O. Morphogenesis of the nasal apparatus in a member of the family Varanidae. Morphogenesis of the nasal capsule, the nasal epithelial tube and the organ of Jacobson in Sauropsida. III. // *Folia morphologica*. – Vol. 27. – Praha, 1979. – № 4. – P. 270-281.
8. Slabý O. Morphogenesis of the nasal apparatus in *Gecko verticillatus* Laur. (Family Geckonidae). Morphogenesis of the nasal capsule, the nasal epithelial tube and the organ of Jacobson in Sauropsida II.) // *Folia morphologica*. – Vol. 27. – Praha, 1979. – № 4. – P. 259-269.
9. Slabý O. Morphogenesis of the nasal capsule, the nasal epithelial tube and the organ of Jacobson in sauropsida. I. Introduction and morphogenesis of the nasal capsule apparatus in members of the families Lacertidae and Scincidae // *Folia morphologica*. – Vol. 27. – Praha, 1979. – № 4. – P. 245-258.
10. Stebbins R.C. Nasal structure in lizards with reference to olfaction and conditioning of the inspired air // *American Journal of Anatomy*. – Vol. 83. – 1948. – № 2. – P. 183-221.
11. Steedman H. F. Alcian blue 8GS: a new stain for mucin // *Quarterly journal of microscopical science*. – Vol. 91. – 1950. – P. 477-479.

References:

1. Bellairs A., Boyd D. The lachrymal apparatus in lizards and snakes. II. The anterior part of the lachrymal duct and its relationship with the palate and with the nasal and vomeronasal organs // *Journal of Zoology*. – 1950. – Vol. 120, – №2. – P. 269-310.
2. Dufaure J. P. Table de développement du lézard vivipare, *Lacerta (Zootoca) vivipara* Jacquin // *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* – Vol. 50. – 1961. – P. 309-328.
3. Holtzman D. A. Embryonic and neonatal development of the vomeronasal and olfactory systems in garter snakes

- (*Thamnophis spp.*) // *Journal of morphology*. – Vol. 203. – 1990. – P. 123-140.
4. Kratzing J. E. The fine structure of the olfactory and vomeronasal organs of a lizard (*Tiliqua scincoides scincoides*) // *Cell and tissue research*. – Vol. 156. – 1975. – № 2. – P. 239-252.
5. Roskin G. I. Microscopic techniques – M. : Soviet science, 1957. – 469 p.
6. Saito S., Oikawa T., Taniguchi K., Taniguchi K. Fine structure of the vomeronasal organ in the grass lizard, *Takydromus tachydromoides* // *Tissue Cell*. – 2010. – Vol. 42. – №5. – P. 322-327.
7. Slabý O. Morphogenesis of the nasal apparatus in a member of the family Varanidae. Morphogenesis of the nasal capsule, the nasal epithelial tube and the organ of Jacobson in Sauropsida. III. // *Folia morphologica*. – Vol. 27. – Praha, 1979. – № 4. – P. 270-281.
8. Slabý O. Morphogenesis of the nasal apparatus in *Gecko verticillatus* Laur. (Family Geckonidae). Morphogenesis of the nasal capsule, the nasal epithelial tube and the organ of Jacobson in Sauropsida II.) // *Folia morphologica*. – Vol. 27. – Praha, 1979. – № 4. – P. 259-269.
9. Slabý O. Morphogenesis of the nasal capsule, the nasal epithelial tube and the organ of Jacobson in sauropsida. I. Introduction and morphogenesis of the nasal capsule apparatus in members of the families Lacertidae and Scincidae // *Folia morphologica*. – Vol. 27. – Praha, 1979. – № 4. – P. 245-258.
10. Stebbins R.C. Nasal structure in lizards with reference to olfaction and conditioning of the inspired air // *American Journal of Anatomy*. – Vol. 83. – 1948. – № 2. – P. 183-221.
11. Steedman H. F. Alcian blue 8GS: a new stain for mucin // *Quarterly journal of microscopical science*. – Vol. 91. – 1950. – P. 477-479.

DEVELOPMENT OF THE EXTERNAL NOSTRILS AND CHOANAE IN *LACERTA AGILIS* (REPTILIA, SQUAMATA)

Ya. V. Stepanyuk, O. M. Yaryhin, O. V. Tityuk

In view of the transition to true terrestrial mode of existence in the olfactory organ of modern reptiles a clear differentiation between respiratory and olfactory parts took place, concha and nasopharyngeal canal appeared. The objective of this work is to show the particularities of morphogenesis of the external nostrils and choanae at successive stages of the development Sand lizard. Stages of ontogenesis were determined according to the tables of normal development for Lacerta vivipara. On the whole 12 embryos from 28th to 37th stage of Lacerta agilis were studied (Linnaeus, 1758). Dehydration, paraffin embedding, cutting of the material into 5-7 µm and 10-12 µm in frontal and transverse plane were carried out according to standard histological techniques. Preparations were stained with hematoxylin-eosin and by Steedman's method. Photos of histological sections were obtained using a microscope Zeiss Axio Imager M1. Due to the dorsal invagination of placodes at the 28th stage of development the olfactory pits are shaping. At the 29th stage the olfactory pits turn into olfactory sacs that open inwards stomodeum. 32nd stage is characterized by the fact that two separate openings develop into a rostral one (primordium of external nostrils) as well as into a caudal one (primordium of internal nostrils, or choanae). Olfactory sacs are transformed into the nasal cavity. At the 33d stage external nostrils diminish, get a slit-like shape and shift rostrally from choanae. At the 34th stage external nostrils open on the lateral surface of the head. Rostral part of the olfactory organ forms the vestibulum. At the stage of 35-37 external nostrils shift more laterally, increase in size and at the 37th stage they get the definitive topography. Choanae stretch and become slit-like. Our research has shown that the olfactory organ undergoes a series of successive stages of development of: olfactory placodes – olfactory pits – olfactory sacs – nasal cavity. Owing to the shaping of the outgrowth at the 32nd stage the opening of olfactory sac bifurcates into the external nostrils and choanae that are next to each other. Slabý O. in his research also points out these morphological rearrangements. Differences in the development of reptiles' structures may be associated with morphological reorganizations in the olfactory organ which are related to separation of vomeronasal organ and to shaping its own canal opening in the mouth. Thus, the shaping of external nostrils and choanae in L. agilis takes place through the formation of the septum in the opening of olfactory sacs. These morphological changes lead to the formation of functionally formed nasal cavity. After their formation the external nostrils shift rostrally and get narrow. By contrast, choanae increase and become slit-like.

Key words: reptiles, olfactory organ, external nostrils, choanae.

Одержано редколлегією 05.05.2015

EVALUATION OF CEREBROSPINAL FLUID SYSTEM OF THE BRAIN IN HEALTHY CHILDREN UP TO ONE YEAR OLD BY USING OF NEUROSONOGRAPHY

KOMSHUK T. S.

*Department of Human Anatomy of N.G. Turkevich
Bukovinian State Medical University, Chernivtsi,
e-mail: office@bsmu.edu.ua*

Neurosonography NSG is one of the most widespread methods for diagnostic of cerebral disorders in young age children. This method is noninvasive, not inexpensive, does not have any complications and therefore is available in most hospitals, it does not require a special preparation of the child before the study and maintenance of anesthesia. The aim of the study was to evaluate the CSF system of the brain of healthy children up to 1 year old and to develop regional indicators for Chernivtsy region. The study involved 67 healthy children up to 1 year old (30 boys and 37 girls) who underwent a complex examination on the base of consultative and diagnostic department of the Chernivtsy Regional Children's Hospital in 2012 year. All patients were full-term children. NSG performed by using the ultrasound diagnostic system DS-6 «Mindray» with convex (2,5-3,5-5,0 MHz) and linear (5,0-7,5-10,0 MHz) sensors. Sonographic parameters of ventricular system of children up to 1 year old, living in Chernivtsy region, were analyzed by standard statistical methods. The width of the anterior horn of the left and right lateral ventricles in all children was the same. The height of the body of lateral ventricles and the third ventricle measured in both sexes were not significantly different. The large tank was measured by the standard method and its size does not exceed 5 mm in all patients, what is considered normal. Have been elaborated regional indicators of neurosonography (NSG) for cerebrospinal fluid (CSF) system of the brain in children up to 1 year old, living in Chernivtsy region. Significant differences of ventricular system indicators of the brain in children up to 1 year old have not been identified, also there was no sex differences observed among them. Have been estimated percentile marks for individual indicators of CSF system that can serve as the standard for specific region and can be used in NSG examination.

Key words: neurosonography, children, cerebrospinal fluid system.

Introduction. NSG is one of the most widespread methods for diagnostic of cerebral disorders in young age children. This method is noninvasive, not inexpensive, does not have any complications and therefore is available in most hospitals, it does not require a special preparation of the child before the study and maintenance of anesthesia (Гаврюшов В.В., Зубарева Е.А. и др., 1990; Lai F.F., Tsou K.Y., 1990). Despite the fact that NSG relates to screening methods of diagnostic, spectrum of pathological cerebral disorders founded by it is not different compared with those obtained by using magnetic resonance (MRI) and computer tomography (CT) (Озерова О.Е., Буркова А.С., и др., 1998; Latchaw R.E., Truwit C.E., 1995). NSG has been successfully used for the diagnostic of urgent states and during dynamic observation of children with perinatal brain damage (PBD) (Озерова О.Е., Кудашов Н.И. и др., 2000; Perlman J.M., 1998). Prospective direction of NSG application is searching of predictors for early forecasting of abnormalities in neuro-psychological development (NPD) of children (Мазурин А.В., Воронцов И.М., 2001; Inder T.E., Anderson N.J. et

al., 2003; Maalouf E.F., Duggan P.J. et al., 2001). Therefore, it is important to develop standard regional neurosonographical indicators of the CSF system of the brain in conditions of the norm.

The aim of the study was to evaluate the CSF system of the brain of healthy children up to 1 year old and to develop regional indicators for Chernivtsy region.

Materials and Methods. The study involved 67 healthy children up to 1 year old (30 boys and 37 girls) who underwent a complex examination on the base of consultative and diagnostic department of the Chernivtsy Regional Children's Hospital in 2012 year. All patients were full-term children. NSG performed by using the ultrasound diagnostic system DS-6 «Mindray» with convex (2,5-3,5-5,0 MHz) and linear (5,0-7,5-10,0 MHz) sensors.

NSG performed through the anterior fontanel in frontal (coronary), sagittal and parasagittal planes. Herewith the state of the CSL system (lateral and the third ventricle, large tank, subarachnoid space) was evaluated.

Results and Discussion. Sonographic parameters of ventricular system of children up to 1 year old,

living in Chernivtsy region, were analyzed by standard statistical methods. The width of the anterior horn of the left and right lateral ventricles in all children was the same. The height of the body of lateral ventricles and the third ventricle measured in both sexes were not significantly different. The large tank was measured by the standard method and its size does not exceed 5 mm in all patients, what is considered normal.

According to E.A. Zubareva, E.A. Ulezko (2004) the most stable sizes have the anterior horn (1-2 mm) and the body of lateral ventricle (width not exceeding 4 mm). The front corners are measured in the coronary plane in cut through the front of horns of lateral ventricles, the body – in cut through the body of lateral ventricles. Posterior horn is often asymmetric, variable by depth and size. The third ventricle is measured in coronary plane in cut through interventricular holes and has 2-4 mm.

Percentile indicators are using for evaluation of ventricular system parameters. Median – is an average value of this indicator, min – is corresponding to the 5th percentile, and max – to the 95th percentile (Table 1).

As the table shows the width of the anterior horn and the height of the lateral ventricle of the body, the width of the third ventricle and the large tank sizes

are not significantly different in both sexes. Also were not founded significant differences between indicators of CSF system in children depending on age.

Estimation of the fourth ventricle size is difficult, so attention is paying to its shape and structure, which can vary significantly in the presence of brain abnormalities.

On coronal sections in the middle is located the interhemispheric fissure as a vertical echogenic strip that separates hemispheres. With its expansion, in the center is visible signal from the brain crescent that is not visualized separately in normal conditions. The width of the interhemispheric fissure between the gyruzes is normally not more that 3-4 mm. At the same cut is comfortably to measure the size of subarachnoidal space – between the lateral wall of the upper sagittal sinus and the nearest gyrus (sinocortical width). Normal size of subarachnoidal space in full-term children is up to 3 mm.

A large tank is located under the cerebellum and medulla oblongata on the occipital bone, normally its size on sagittal section is less than 5 mm.

Percentile indicators, used for evaluation of parameters of individual indicators of CSF system are present in table 2.

Table 1

Standard size of the brain ventricles in children up to 1 year old living in Chernivtsy region

Structure	Value	Male (mm)	Female (mm)
The width of the anterior horn of the left lateral ventricle	Min	1,0	1,0
	Median	2,86±0,02	2,94±0,02
	Max	5,0	5,0
The width of the anterior horn of the right lateral ventricle	Min	1,0	1,0
	Median	2,86±0,02	2,94±0,02
	Max	5,0	5,0
The height of the body of lateral ventricle	Min	1,0	1,0
	Median	2,31±0,02	2,56±0,03
	Max	4,0	4,0
The width of the third ventricle	Min	2,0	2,0
	Median	2,86±0,02	2,94±0,02
	Max	5,0	5,0

Table 2

Standard size of cerebrospinal fluid system in children up to 1 year old living in Chernivtsy region

Structure	Value	Male (mm)	Female (mm)
Subarachnoidal space	Min	0	0
	Median	0,61±0,01	0,54±0,02
	Max	3	3
The width of the interhemispheric fissure	Min	1	1
	Median	2,2 ± 0,01	2,2 ± 0,02
	Max	4,5	4
The large tank	Min	2,0	2,0
	Median	2,83±0,01	3,16±0,01
	Max	4,0	4,0

As the table shows subarachnoidal space size, the width of the interhemispheric fissure and the large tank size were not significantly different in both sexes.

Conclusions. Thus significant differences in sizes of individual indicators of CSF system and between sexes were not found. Percentile indexes for individual indicators of CSF system in children up to 1 year old, living in Chernivtsy region, which may become standard for specific region and can be used in NSG examination, were estimated.

References:

1. Гаврюшов В.В. Диагностическая ценность нейросонографии у новорожденных детей / В.В. Гаврюшов, Е.А. Зубарева, М.С. Ефимов // Вопросы охраны материнства и детства. - 1990. - № 1. - С.25.
2. Зубарева Е.А. Нейросонография у детей раннего возраста / Е.А.Зубарева, Е.А.Улезко. - Минск: Парадокс, 2004. - 192 с.
3. Мазурин А. В.Пропедевтика детских болезней / А. В. Мазурин, И. М. Воронцов. - СПб. : Фолиант, 2001. - 680 с.
4. Озерова О.Е. Возможности эхоэнцефалографии в диагностике гипоксически-ишемических повреждений головного мозга у доношенных новорожденных / О.Е. Озерова, А.С. Буркова, Н.И. Бубунова // Педиатрия. - 1998. - №5. - С. 19-25.
5. Ультразвуковые особенности структурных изменений головного мозга новорожденных с внутриутробной герпес-цитомегаловирусной инфекцией / О.Е. Озерова, Н.И. Кудашов, И.В. Орловская, Ж.П. Пенькова // Sonoace International. - 2000. - № 6. - С.49-50.
6. Inder T. E. White matter injury in the premature infant: a comparison between serial cranial sonographic and MR findings at term / T. E. Inder, N. J. Anderson, C. Spencer et al. // Am. J. Neuroradiol. - 2003. - Vol. 24. - P. 805-809.
7. Lai F.F. Transient periventricular echodensities and developmental outcome in preterm infants / F.F. Lai,

K.Y. Tsou // *Pediatr-Neurol.* - 1999. - Vol. 21, N 5. - P. 797-801.

8. Latchaw R. E. Imaging of perinatal hypoxic-ischemic brain injury / R.E. Latchaw, C.E. Truwit // *Semin. Pediatr. Neurol.* - 1995. - V. 2, N 1. - P. 72-89.
9. Maalouf E. F. Comparison of findings on cranial ultrasound and magnetic resonance imaging in preterm infants / E. F. Maalouf, P. J. Duggan, S. J. Counsell, et al. // *Pediatrics.* - 2001. - Vol. 107. - P. 719-727.
10. Perlman J. M. White matter injury in the preterm infant: an important determination of abnormal neurodevelopment outcome / J. M. Perlman // *Early Hum. Dev.* - 1998. - Vol. 53. - P. 99-120.

References:

1. Gavrjushov V.V. Diagnosticheskaja cennost' nejrosonografii u novorozhdennyh detej / V.V. Gavrjushov, E.A. Zubareva, M.S. Efimov // *Voprosy ohrany materinstva i detstva.* - 1990. - № 1. - S.25.
2. Zubareva E.A. Nejrosonografija u detej rannego vozrasta / E.A.Zubareva, E.A.Ulezko. - Minsk: Paradoкс, 2004. - 192 s.
3. Mazurin A. V.Propedevtika detskih boleznej / A. V. Mazurin, I. M. Voroncov. - SPb. : Foliant, 2001. - 680 s.
4. Ozerova O.E. Vozmozhnosti jehojencefalografii v diagnostike gipoksicheski-ishemicheskikh povrezhdenij golovnogo mozga u donoshennyh novorozhdennyh / O.E. Ozerova, A.S. Burkova, N.I. Bubunova // *Pediatrica.* - 1998. - №5. - S. 19-25.
5. Ozerova O.E. Ul'trazvukovye osobennosti strukturnyh izmenenij golovnogo mozga novorozhdennyh s vnutriutrobnoj herpes-citomegalovirusnoj infekciej / O.E. Ozerova, N.I. Kudashov, I.V. Orlovskaja, Zh.P. Pen'kova // *Sonoace International.* - 2000. - № 6. - S.49-50.
6. Inder T. E. White matter injury in the premature infant: a comparison between serial cranial sonographic and MR findings at term / T. E. Inder, N. J. Anderson, C. Spencer et al. // *Am. J. Neuroradiol.* - 2003. - Vol. 24. - P. 805-809.

7. Lai F. F. Transient periventricular echodensities and developmental outcome in preterm infants / F. F. Lai, K. Y. Tsou // *Pediatr-Neurol.* – 1999. – Vol. 21, N 5. – P. 797–801.
8. Latchaw R. E. Imaging of perinatal hypoxic-ischemic brain injury / R.E. Latchaw, C.E. Truwit // *Semin. Pediatr. Neurol.* – 1995. – V. 2, N 1. – P. 72–89.
9. Maalouf E. F. Comparison of findings on cranial ultrasound and magnetic resonance imaging in preterm infants / E. F. Maalouf, P. J. Duggan, S. J. Counsell, et al. // *Pediatrics.* – 2001. – Vol. 107. – P. 719–727.
10. Perlman J. M. White matter injury in the preterm infant: an important determination of abnormal neurodevelopment outcome / J. M. Perlman // *Early Hum. Dev.* – 1998. – Vol. 53. – P. 99–120.

ОЦІНКА ЛІКВОРНОЇ СИСТЕМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ У ЗДОРОВИХ ДІТЕЙ ДО ОДНОГО РОКУ ЗА ДОПОМОГОЮ НЕЙРОСОНОГРАФІЇ

Комшук Т.С.

Нейросонографія (НСГ) — це один із найпоширеніших методів для діагностики захворювань головного мозку в дітей раннього віку. Цей метод неінвазивний, недорогий, не має ускладнень та протипоказів, не вимагає спеціальної підготовки дитини до дослідження та анестезії. Метою дослідження було оцінити за допомогою НСГ лікворну систему головного мозку здорових дітей віком до 1 року і розробити регіональні показники для Чернівецької області. Досліджено 67 здорових дітей віком до 1 року (30 хлопчиків і 37 дівчаток), які пройшли комплексне обстеження на базі консультативно-діагностичної відділу лікарні Чернівецької обласної дитячої в 2012 році. Усі пацієнти були доношеними. НСГ здійснювалося за допомогою ультразвукової діагностичної системи DS-6 «Mindray» з конвексним (2,5-3,5-5,0 МГц) і лінійним (5,0-7,5-10,0 МГц) датчиками. Сонографічні параметри шлуночкової системи дітей до 1 року, які проживають у Чернівецькій області, були проаналізовані за допомогою стандартних статистичних методів. Ширина переднього рога лівого і правого бічних шлуночків у всіх дітей була однаковою. Висота тіла бічних шлуночків і третього шлуночка, виміряної у обох статей суттєво не відрізнялися. Велику цистерну вимірювали стандартним методом, а її розміри не перевищували 5 мм у всіх пацієнтів, що вважається нормою. Були розроблені регіональні показники нейросонографії для лікворної системи мозку в дітей до одного року, які мешкають у Чернівецькій області. Значних відмінностей у показниках у дітей до одного року не виявлено, також не виявлено гендерних відмінностей. Розраховано процентильні значення для окремих показників лікворної системи, які можуть слугувати нормами для даного регіону і використовуватися при НСГ.

Ключові слова: нейросонографія, діти, лікворна система.

Одержано редколегією 21.05.2015

ЗМІСТ

CONTENTS

БІОХІМІЯ, БІОТЕХНОЛОГІЯ, МОЛЕКУЛЯРНА ГЕНЕТИКА

- Д. О. МІНЧЕНКО** ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, **D. O. MINCHENKO** EXPRESSION OF *CIDEA*, *CYR61*, *AZGP1*, *ASK1* ТА *HLF* У ПІДШКІРНІЙ ЖИРОВІЙ ТКАНИНІ ЧОЛОВІКІВ *ASK1*, AND *HLF* GENES IN SUBCUTANEOUS ADIPOSE TISSUE OF 3 ОЖИРНІМ ТА НОРМАЛЬНОЮ АБО ПОРУШЕНОЮ ОБЕЗЕ MEN WITH AND WITHOUT GLUCOSE TOLERANCE 3
ТОЛЕРАНТНІСТЮ ДО ГЛЮКОЗИ
- Ю. В. ВАСИЛИК** УТВОРЕННЯ ОКСИДУ АЗОТУ У РОСЛИН ТА **Y. V. VASYLYK** GENERATION OF NITRIC OXIDE AND ITS ROLE 10
ЙОГО РОЛЬ ЗА ДІЇ СТРЕСОВИХ ФАКТОРІВ UNDER STRESS CONDITIONS IN PLANTS
- Г. П. КОПИЛЬЧУК, І. М. БУЧКОВСЬКА, Р. О. НІКОЛАСЬ** **H. P. KOPYLCHUK, I. M. BUCHKOVSKA, R. O. NIKOLAEV** ВМІСТ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ ПЛАЗМИ КРОВІ ТВАРИН ЗА CONTENT OF PROTEIN FRACTIONS BLOOD PLASMA OF 16
УМОВ БІЛКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ANIMALS UNDER THE CONDITIONS OF PROTEIN DEFICIENCY
- К. І. КУБАЙЧУК, Д. О. МІНЧЕНКО, О. О. РЯБОВОЛ, К. І. КУБАЙЧУК, Д. О. МІНЧЕНКО, О. О. РЯБОВОЛ, О. В. ГАЛКІН, О. Г. МІНЧЕНКО** ВПЛИВ ДЕФІЦИТУ **O. V. HALKIN, O. H. MINCHENKO** EFFECT OF NUTRIENT 21
ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН НА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНІВ *PDGFC*, DEPRIVATION ON THE EXPRESSION OF *PDGFC*, *PDGFRA*, AND *PDGFRB* ТА *PDGFRB* У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87 *PDGFRB* GENES IN U87 GLIOMA CELLS DEPENDS ON ERN1
ЗАЛЕЖИТЬ ВІД ФУНКЦІЇ СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ ERN1 SIGNALING ENZYME FUNCTION
- К. В. ГРИНЧУК, І. О. АНТИПОВ, М. В. ЄРМОЛАСЬ** РОЗРОБКА **K. GRINCHUK, I. ANTIPOV, M. ERMOLAEV** THE 28
СИСТЕМИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ВІРУСУ НЕКРОТИЧНОГО DEVELOPMENT OF PCR SYSTEM FOR IDENTIFICATION OF
ПОЖОВТІННЯ ЖИЛОК БУРЯКУ ТА ЙОГО МОНІТОРИНГ НА BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS AND MONITORING IN
ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ UKRAINE
- С. БЕРЕГОВИЙ, Т. ЧЕРВІНСЬКА, Г. ТОЛСТАНОВА** РІВЕНЬ **S. BEREGOVYI, T. CHERVINSKA, G. TOLSTANOVA** THE 35
РЕДОКС-ЧУТЛИВИХ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ *EGR-1*, LEVEL OF REDOX-RESPONSIVE TRANSCRIPTION FACTOR *EGR-*
SP-1 ТА *HIF-1* ЗА ЕТАНОЛ-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ *1, SP-1* AND *HIF-1* UNDER CONDITIONS OF ETHANOL-INDUCED
ШЛУНКУ GASTRIC LESIONS
- Н. І. МОЛЧАНИУК** ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНЕ **N. I. MOLCHANYUK** ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF RAT 39
ВИВЧЕННЯ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ НЕРАТОЦИТІВ IN THE DYNAMICS AFTER INTRAPERITONEAL
ВНУТРІШНЬОЧЕРЕВНОГО ВВЕДЕННЯ ПІДВИЩЕНОЇ ДОЗИ INJECTION OF HIGH DOSE OF METHANOL
МЕТАНОЛУ
- Т. З. МОСКАЛЕЦЬ, В. К. РИБАЛЬЧЕНКО** МОРФО- **T. Z. MOSKALETS, V. K. RYBALCHENKO** MORPHO- 45
ФІЗІОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ОЗНАКИ PHYSIOLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC FEATURES OF
КСЕРОМОРФНОСТІ *TRITICUM AESTIVUM* L. XEROMORPHITY

БОТАНІКА. ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОТИ І БІОРЕСУРСІВ

- Н. О. СМОЛЯР, М. Г. ЧОРНИЙ, В. А. СОЛОМАХА** ПРО **N. SMOLIAR, M. CHORNYI, V. SOLOMAKHA** ON THE 53
НЕОБХІДНІСТЬ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ НА NECESSITY OF BIODIVERSITY CONSERVATION AT LOW
НИЗЬКОПРОДУКТИВНИХ ЗЕМЛЯХ PRODUCTION LANDS
- О. Р. ХАННАНОВА** ІСТОРІЯ ДОСЛІДЖЕНЬ РОСЛИННОГО **O. R. KHANNANOVA** HISTORY OF RESEARCHING PLANTAGE 60
СВІТУ РЕГІОНАЛЬНОГО ЛАНДШАФТНОГО ПАРКУ OF REGIONAL LANDSCAPE PARK «GADYACHSKY» (POLTAVA
«ГАДЯЦЬКИЙ» (ПОЛТАВСЬКА ОБЛАСТЬ) REGION)
- В. В. БУДЖАК, І. І. ЧОРНЕЙ, А. І. ТОКАРЮК** РОЛЬ **V. V. BUDZHAK, I. I. CHORNEY, A. I. TOKARYUK** THE ROLE 68
ПРИРОДНО-ЗАПОВІДНОГО ФОНДУ ПОКУТСЬКОЇ ЧАСТИНИ OF NATURAL RESERVE FUND OF POKUTSKA PART OF PRUT-
ПРУТ-ДНІСТРОВСЬКОГО МЕЖИРІЧЧЯ У ЗБЕРЕЖЕННІ DNIESTER AREA IN THE PRESERVATION OF PLANTS FROM
РОСЛИН З ЧЕРВОНОЇ КНИГИ УКРАЇНИ THE RED BOOK OF UKRAINE
- Л. М. ФЕЛЬБАБА-КЛУШИНА** БОЛОТА І ВОДОЙМИ ВЕРХІВЯ **L.M. FELBABA-KLUHINA** WETLANDS AND PONDS OF UPPER 76
Р. ТИСА (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ), ПЕРСПЕКТИВНІ ДЛЯ TISZA RIVER (UKRAINIAN CARPATHIANS): PROSPECTS TO
НАДАДАННЯ ЇМ СТАТУСУ РАМСАРСЬКИХ УГІДЬ GIVE THEM THE STATUS OF RAMSAR SITES
- С. В. СОСНОВСЬКА, І. М. ДАНИЛИК** ЕКОЛОГО- **S. V. SOSNOVSKA, I. M. DANYLYK** ECOLOGICAL AND 82
ЦЕНОТИЧНА ПРИУРОЧЕНІСТЬ *CAREX DIOICA* (*CYPERACEAE*) COENOTIC CHARACTERISTIC OF *CAREX DIOICA* L.
В УКРАЇНІ (*CYPERACEAE* JUSS.) IN UKRAINE
- Х. І. СКРИПЕЦЬ, А. В. ОДІНЦОВА** МОРФОЛОГІЧНА БУДОВА **CH. SKRYPEC, A. ODINTSOVA** FRUIT AND SEED 93
ПЛОДУ І НАСІНИНИ В *IRIS SIBIRICA* L. ТА *GLADIOLUS* MORPHOLOGY IN *IRIS SIBIRICA* L. AND *GLADIOLUS*
IMBRICATUS L. У ЗВ'ЯЗКУ ІЗ СПОСОБАМИ ДИСЕМІНАЦІЇ *IMBRICATUS* L. IN RELATION WITH THE MODES OF
ДИСЕМІНАЦІЇ DISSEMINATION

ГРУНТОЗНАВСТВО

- М. О. ВЕНГЛІНСЬКИЙ, О. М. ГРИЩЕНКО, М. ВЕНГЛІНСЬКИЙ, Е. ГРИЩЕНКО, Н. ГОДЫНЧУК, Н. В. ГОДИНЧУК, С. А. РОМАНОВА, В. Б. ГАВРИЛЮК** С. ROMANOVA, V. GAVRYLIUK COMPARATIVE RESULTS OF 97
ОЦІНКА МЕТОДИК ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ОРГАНІЧНОЇ DETERMINATION OF ORGANIC MATTER CONTENTS (TO THE
РЕЧОВИНИ (ГУМУСУ) В ГРУНТІ HUMUS) IN SOIL AFTER NORMATIVE DOCUMENTS GOST
26213-91 AND DSTU 4289:2004
- І. С. СМАГА** ОПТИМІЗАЦІЯ ЕКОЛОГО-БЕЗПЕЧНОГО ТА **I. S. SMAHA** OPTIMISATION OF ECOLOGICALLY SAFE AND 102
ЕФЕКТИВНОГО ВИКОРИСТАННЯ ОРНИХ ЗЕМЕЛЬ EFFECTIVE USE OF ARABLE LANDS IN CHERNIVTSI REGION

ПЕРЕМОЖЦІ ВСЕУКРАЇНСЬКОГО КОНКУРСУ СТУДЕНТСЬКИХ НАУКОВИХ РОБІТ З БІОЛОГІЧНИХ НАУК

- Р. Ф. АМІНОВ, О. К. ФРОЛОВ** ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО **R. F. AMINOV, A. K. FROLOV** INFLUENCE OF BIOLOGICALLY 108
АКТИВНИХ РЕЧОВИН СОЛЬОВОГО ЕКСТРАКТУ МЕДИЧНОЇ ACTIVE SUBSTANCES IN THE SALT EXTRACT OF THE
П'ЯВКИ НА ФАГОЦИТАРНУ АКТИВНІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ І MEDICINAL LEECH ON PHAGOCYTIC ACTIVITY OF
ЦИТОМОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ NEUTROPHILS AND CYTOMORPHOMETRIC CHANGES OF
ЛЮДИНИ У КУЛЬТУРІ BLOOD LYMPHOCYTES IN CULTURE
- О. В. КРАВЦОВА, Ю. С. ШЕЛЮК** ЕКОЛОГІЧНА ОЦІНКА **O. V. KRAVTSOVA, Y. S. SHELYUK** THE ECOLOGICAL 113
СТАНУ ЕКОСИСТЕМ МАЛИХ РІЧОК ЗА БІОРІЗНОМАНІТТЯМ ASSESSMENT OF THE SMALL RIVER ECOSYSTEMS STATE

М. П. ЛИЛИК, М. М. БАЙЛЯК МОЖЛИВІ МЕХАНІЗМИ М. Р. LYLYK, М. М. BAYLIAK POSSIBLE PROTECTIVE
ЗАХИСНОЇ ДІЇ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТУ ЗА ВПЛИВУ РІЗНИХ MECHANISMS OF ALPHA-KETOGLUTARATE ON FRUIT FLY
СТРЕСОРИВ НА ПЛОДОВУ МУШКУ *DROSOPHILA MELANOGASTER* CANTON S UNDER EXPOSURE 119
MELANOGASTER CANTON S TO DIFFERENT STRESSORS

Я. В. СТЕПАНЮК, О. М. ЯРИГІН, О. В. ТИТЮК РОЗВИТОК Я. V. STEPANYUK, O. M. YARYHIN, O. V. TITYUK
ЗОВНІШНІХ НІЗДРІВ ТА ХОАН У *LACERTA AGILIS* (REPTILIA, DEVELOPMENT OF THE EXTERNAL NOSTRILS AND CHOANAE 124
SQUAMATA) IN *LACERTA AGILIS* (REPTILIA, SQUAMATA)

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

КОМШУК Т. С. ОЦІНКА ЛІКВОРНОЇ СИСТЕМИ ГОЛОВНОГО КОМSHUK T. S. EVALUATION OF CEREBROSPINAL FLUID
МОЗКУ У ЗДОРОВИХ ДІТЕЙ ДО ОДНОГО РОКУ ЗА SYSTEM OF THE BRAIN IN HEALTHY CHILDREN UP TO ONE 128
ДОПОМОГОЮ НЕЙРОСОНОГРАФІЇ YEAR OLD BY USING OF NEUROSONOGRAPHY

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

У журналі «Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)» публікуються результати досліджень з актуальних проблем біохімії, біотехнології, молекулярної генетики, екології, ботаніки, ґрунтознавства, збереження біоти і біоресурсів.

Друкуються оригінальні експериментальні роботи, оформлені у вигляді статей, які раніше не друкувалися, а також наукові огляди, короткі повідомлення, матеріали конференцій та рецензії.

Повний обсяг (разом з таблицями, переліком літератури, рисунками та підписами до них, резюме двома мовами і ключовими словами) експериментальної статті не повинен перевищувати 6 повних сторінок, оглядової статті – 12 сторінок, короткого повідомлення – двох сторінок. Рукописи більшого обсягу приймаються до журналу тільки після попереднього узгодження з редколегією.

Повідомлення друкуються українською, англійською та російською мовами (в окремих випадках можливе опублікування німецькою, польською, румунською та словацькою мовами).

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

Матеріали для друку (текст, література, підписи до рисунків та ін.) подаються у паперовому (2 копії) та електронному (ідентично паперовому) вигляді, надруковані:

➤ у форматі, який підтримується Microsoft Word;

➤ через 1 інтервал, без використання переносів;

➤ сторінки формату А4;

➤ шрифт – Times New Roman Cyr 14 пунктів (список літератури, текст у таблицях і резюме – 10 пунктів);

➤ поля з кожного краю по 2 см.

Кожен рукопис повинен містити:

1. **Титульний лист** (на окремому від інших частин аркуші), де подається українською та англійською мовами:

➤ назва статті, яка повинна коротко інформувати про її зміст;

➤ індекс УДК;

➤ прізвища та ініціали авторів;

➤ назва організації, у якій виконувалося дослідження (у тому числі кафедри, факультету, відділу);

➤ повна поштова адреса, телефон та електронна адреса (e-mail) для оперативної співпраці з авторами із зазначенням автора, з яким слід вести листування;

➤ резюме обсягом не менше 300 слів, яке повинно коротко описувати проведені дослідження, включаючи мету, методи, результати і головні висновки;

➤ ключові слова (до 10 слів).

2. **Експериментальну частину** (для експериментальних робіт), структуровану на розділи:

➤ вступ, де зазначається актуальність та новизна обраної теми дослідження;

➤ матеріали та методи, де подається опис використаних методик, достатній для їх відтворення;

➤ результати та їх обговорення;

➤ висновки.

3. **Таблиці**, які мають бути пронумерованими відповідно до змісту тексту, кожна – на окремому аркуші; короткий опис кожної таблиці подається зверху (українською та англійською мовами), а статистична або інша деталізація подається внизу у виносках; шрифт тексту в таблицях Times New Roman Cyr 10 пунктів.

4. **Ілюстрації**, пронумеровані у порядку їх обговорення у тексті та надруковані на окремому аркуші з підписами українською та англійською мовами; всі ілюстрації повинні бути якісними та читабельними після їх масштабування на 50 %,

без використання великих кеглів шрифтів і стилів оформлення, які дають дуже тонкі елементи букв; вгорі на зворотному боці ілюстрації зазначається прізвище автора та назва статті.

Не припустиме повторення змісту таблиць ілюстраціями; за рівних умов надавайте перевагу ілюстраціям (графікам).

Ілюстрації повинні мати дві електронні копії у форматах Tiff- 4.0 or 5.0 (*.tif) або Paint (*.bmp); формули і рівняння необхідно подавати розробленими у спеціальних редакторах рівнянь і збереженими як окремі файли (Windows metafile, *.wmf); фінальна якість растрових ілюстрацій після масштабування повинна бути не менше 200-300 пікселів на дюйм.

5. **Список літератури**, який подається у двох варіантах: мовою оригіналу і транслітерований або перекладений на англійську мову. Надзвичайно важливо після бібліографічних даних джерела надати цифровий ідентифікатор публікації (англ. *digital object identifier*, скорочено doi).

Список літератури слід подавати через 1 інтервал шрифтом Times New Roman Cyr 10; у переліку джерел літератури повинні переважати посилання на роботи останніх років; посилання у переліку літератури нумеруються в алфавітному порядку, а в тексті у круглих дужках подається прізвище автора і рік (якщо авторів один або двоє, наводимо всіх, а якщо більше ніж 2 автори слід наводити лише перше прізвище з наступним “та ін.”, “и др.”, “et al.”).

Приклади оформлення переліку літератури:

1. Лакин Г.В. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

2. Молекулярная клиническая диагностика. Методы: Пер с англ./ Под ред. Херрингтона С., Макги Дж. – М.: Мир, 1999. – 558 с.

3. Ландшафти міста Чернівці: Монографія / за редакцією В.М. Гуцуляка. – Чернівці: Рута, 2006. – 188 с.

4. Марченко М. М., Копильчук Г. П., Волощук О. М. Функціональний стан

мітохондріальних мембран печінки попередньо опромінених щурів з трансплантованою карциномою Герена // Доповіді НАН України. – 2007. – № 2. – С. 174 – 177.

Всі позначення і найменування фізичних та хімічних одиниць вимірювання слід наводити в системі СІ.

Публікація повинна супроводжуватися рекомендацією до друку кафедри або наукової установи, де виконувалося дослідження, та повинна бути підписаною всіма авторами на останній сторінці. Одноосібні публікації аспірантів повинні супроводжуватися дозволом керівника.

Статті рецензуються незалежними експертами, яких призначає редколегія, після чого автору надсилається примірник рукопису статті із зауваженнями рецензентів. У випадку, коли матеріали повернені на доопрацювання, автор надає аргументовану відповідь, передруковує і надсилає матеріали на адресу редакційної колегії журналу не пізніше двох тижнів.

У разі відхилення статті рецензентами автору надсилається письмове повідомлення.

Редколегія має право редагувати текст статей, рисунків та підписів до них, погоджуючи відредагований варіант з автором, а також відхиляти рукописи, якщо вони не відповідають вимогам журналу «Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)».

Відповідальність за зміст матеріалів несуть автори.

Матеріали не повертаються.

Адреса редколегії: Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Інститут біології, хімії та біоресурсів, вул. Коцюбинського 2, м. Чернівці, 58012, Україна.

e-mail: vb@chnu.edu.ua

Телефон для довідок: 0372-584838

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Journal «**Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological Systems)**» publishes the results of the studies on actual problems of biochemistry, biotechnology, molecular genetics, ecology, botany, soil science, biota and bioresources preservation.

Unpublished previously and completed experimental works drawn up as articles, reviews, short communications, materials from congresses and conferences are published.

The total volume for the entire paper (including tables, references, figures and their legends, abstracts

in three languages, and key words) of an experimental article should not exceed 6 pages, review – 12 pages, short communication – two pages. The papers of a larger size are submitted to the journal after previous agreement with the editorial board.

The papers are published in Ukrainian, English and Russian (in some cases it is possible to be published in German, Polish, Romanian and Slovakian).

One author is allowed to have only one single-author publication in a particular issue.

Materials for publishing (text, references, figure legends etc.) are submitted in paper (2 copies) and identical electronic version, typed:

- in Microsoft Word format;
- single line spacing, without hyphenation;
- page format A4;
- font – Times New Roman 14 (references, text in tables and abstracts – 10);
- all margins 2 cm.

Each manuscript must have:

1. **Title page**, where to provide in Ukrainian and English:

- title;
- UDC (Universal Decimal Classification) code;
- authors' surnames and initials;
- institution, where the study was performed (including department or faculty);
- full postal address, telephone and e-mail, indicating corresponding author;
- abstract (no less than 300 words), which has to describe briefly performed studies, including aim, methods, results and main conclusions;
- key words (no more than 10).

2. **Experimental part** (for experimental studies), structured into chapters:

- introduction, where the urgency and novelty of the performed studies are indicated;
- materials and methods, where the reproducible description of used methods is provided;
- results and discussion;
- conclusions.

3. **Tables**, which have to be numbered according to their citation in the text, each one – on a separate sheet; brief description of each table is provided on the top (in Ukrainian and English), statistical or other details are provided at the bottom in the notices; text font in the tables is Times New Roman 10.

4. **Illustrations**, numbered according to their discussion in the text and typed on a separate sheet (legends in Ukrainian and English); all illustrations have to be qualitative and readable after their scaling in 50 %; on the top of illustration underside the author and article title are provided.

The repeat of table content with illustrations is inadmissible; illustrations (figures) are primary under equal circumstances.

Illustrations must have two electronic copies in Tiff- 4.0/5.0 (*.tif) or Paint (*.bmp) formats; formulas and equations have to be provided by made in special equation editors and saved as separate files (Windows metafile, *.wmf); final quality of the illustrations after their scaling has to be no less than 200-300 pixels per inch.

5. **References**, which is provided with single line spacing, Times New Roman 10; works of the recent years should prevail in references with digital object identifier (doi) provided; references in the list are numbered in an

alphabetical order, and in the text author and year are provided in round brackets (if the number of authors is one or two, all of them are indicated in references, if there are three or more authors, only one name is given with following et al.).

Examples of references:

1. Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd ed. – Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 – Vol. I. - 682 p.
2. Taub R. Liver Regeneration: from Myth to Mechanism // Nature Reviews. – 2004. – Vol. 5. – P. 836 – 847.
3. Kopylchuk H.P., Shmarakov I.O., Marchenko M.M. A possible mechanism of antitumor activity of 5-(5',6'- benzocoumaroyl-3'')-methyl-aminouracil in vivo // Exp. Oncol. – 2007. – Vol. 29, No. 4. – P. 123 – 125.

All the designations and denominations of physical and chemical units of measurement should be given in SI system.

Official assignment from the institution where the studies were performed is required. The manuscript has to be signed by all authors on the last page. Single-author papers of post-graduate students (aspirants) must be accompanied with the scientific advisor sanction.

The articles are reviewed by the independent experts, who are selected by the editorial board, and then a copy of the manuscript with reviewer's remarks is sent to an author. If the paper is returned for the completion, the author gives a reasonable answer, reprint and send all the required materials to the editorial board of the journal no longer than in 2 weeks.

If the manuscript is rejected by the reviewers, a written notice is sent to the author.

Editorial board is allowed to edit the text of the articles, figures and their legends, coordinating the edited version with the author, and also reject manuscripts, if they don't meet the requirements of the journal «**Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological Systems)**».

The authors are responsible for the contents of their articles.

Materials are not returnable.

Editorial board address: Chernivtsy National University named after Yuriy Fed'kovych, Institute of Biology, Chemistry and Natural Resources, Kotsyubynskyyi Str. 2, Chernivtsy, 58012, Ukraine.

e-mail: vb@chnu.edu.ua

telephone: 0372-584838

Підписано до друку 03.09.2015. Формат 60 x 84/8.

Папір офсетний. Друк різнографічний. Ум.-друк. арк. 15,3.

Обл.-вид. арк. 1,4. Тираж 100. Зам. 3-005.

Видавництво та друкарня Чернівецького національного університету
58012, Чернівці, вул. Коцюбинського, 2

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК №891 від 08.04.2002 р.